

TERESA SZWAROCKA-PRIEBE

Zmienność sezonowa aktywności wybranych enzymów surowicy krwi koni arabskich z Janowa Podlaskiego w latach 1977–1978

Zakład Fizjologii Zwierząt Kręgowych Uniwersytetu Warszawskiego,
ul. Żwirki i Wigury 93, 02-089 Warszawa

Jednym z podstawowych i jak dotąd nie rozwiązanych problemów współczesnej biochemii jest problem regulacji procesów biologicznych. Mechanizmów regulacji można szukać na różnym poziomie; najniższy dotyczy enzymów, które są ostatecznymi efektorami, reagującymi na zmiany poziomów nadrzędnych. Adaptacja enzymatyczna komórki jest wypadkową procesów autoregulacyjnych, modyfikowanych przez czynniki wewnętrzne organizmu, jak również czynniki zewnętrzne — środowiskowe. Czynniki wewnętrzne to w głównej mierze wpływy hormonalne, warunkujące właściwy kierunek przemian metabolicznych, co jest realizowane na drodze aktywacji systemów enzymatycznych lub umożliwienia ekspresji genów. Jest rzeczą znaną, że procesy życiowe organizmów cechuje cykliczny, stale powtarzający się przebieg. Musi zatem istnieć jakiś nadrzędny koordynator, spełniający funkcję zegara biologicznego, niezależny od wpływów środowiskowych. Próbuje się nawet ustalić jego siedzibę w tworze siatkowatym w międzymózgowiu oraz podwzgórze i wchomózgowiu (2). Koncepcja ta, przy obecnym stanie badań w dziedzinie chronobiologii, nie może być przyjęta bez zastrzeżeń. Wyniki wielu eksperymentów zdają się wskazywać, iż rytmika procesów życiowych ma charakter wyłącznie przystosowawczy. A zatem, jeżeli taki wewnętrzny czynnościowy zegar istnieje, to jego funkcja polegałaby na dostosowywaniu, w sposób najbardziej optymalny dla organizmu, wielu procesów życiowych do cyklicznych zmian zachodzących w środowisku. Powtarzający się stale rytm dnia i nocy jest „dawcą czasu” niezbędnym dla przeprowadzenia synchronizacji wewnętrznych procesów, wytworzył też jeden z podstawowych rytmów zwierząt wyższych: czuwanie — sen.

Najstarsze ewolucyjnie rytmy dobowe, zgodne z 24 godz. obrotem naszej planety wokół osi, odgrywają zasadniczą rolę w procesie adaptacji istot żywych do warunków otoczenia. Podlegają one modyfikacjom przez ciągle zmieniające się warunki środowiskowe, jak: temperatura, ciśnienie, promieniowanie UV, żywienie albo zmiana trybu życia zwierząt, co składa się na tzw. sezon. Organizmy przystosowują się czynnie do zmiany pór roku, czego wyrazem jest zmienność sezonowa wielu znanych parametrów fizjologicznych i biochemicznych. Większość eksperymentów wykazała, że ogólny metabolizm podlega zmianom sezonowym — w okresie lata jest wyższy, podczas gdy w zimnej porze roku maleje.

Badanie wielu zjawisk i procesów biologicznych u zwierząt wolno żyjących wykazało niezaprzeczalnie istnienie rytmiki sezonowej. Zwierzęta udomowione są dość trudnym dla chronobiologów obiektem badań, gdyż wpływy środowiskowe są częściowo niwelowane bądź zakłócane przez człowieka. Obiektem zainteresowań badaczy rytmów biologicznych stał się również koń. Wiele prac poświęcono zmienności sezonowej parametrów funkcjonalnych i biochemicznych krwi. Badania te dotyczyły głównie koni ras szlachejnych użytkowanych w sporcie (3, 11).

Celem niniejszych badań było określenie, czy istnieją cykliczne, powtarzające się zmiany w aktywności wybranych enzymów surowicy krwi, przy uwzględnieniu zmian niektórych wskaźników środowiska.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na hodowlanych koniach arabskich, które nie wykonują żadnej pracy fizycznej, a więc nie są poddawane obciążeniom fizycznym i stresowym, poza związanymi z rozrodem. Badania wykonano w Stadnieniu Koni w Janowie Podlaskim, na 5 ogierach w wieku 4–11 lat i 21 klaczach w wieku 4–17 lat, na przełomie pór roku, tj. 21 marca, czerwca, września, grudnia 1977 i 1978 r.

W surowicy krwi oznaczono aktywność enzymów przemiany białkowej — aminotransferaz asparaginianowej (GOT) i alaninowej (GPT), przemiany węglowodanowej — aldolazy fruktozodwufosforanowej (FDPA) oraz fosfataz kwasnej (AcP) i zasadowej (AIP). Aktywność wyrażono w jednostkach właściwych dla metody: Reitmana-Frankla dla GOT i GPT (9), Kinga-Amstronga dla AcP i AIP (6). Aktywność FDPA podano w mU/ml surowicy (1).

Wyniki i omówienie

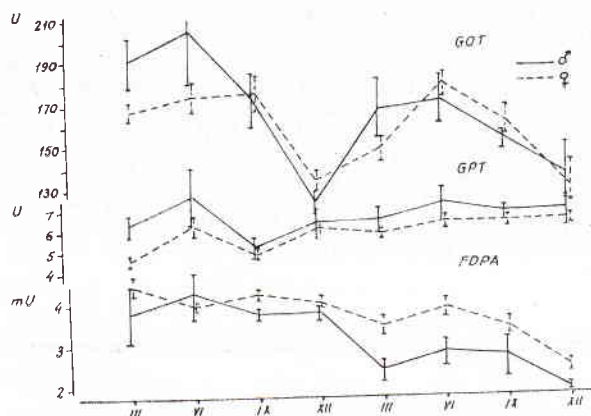
Przeprowadzone dwuletnie badania aktywności enzymów w surowicy krwi koni arabskich wykazały cykliczny charakter zmian pozostający w związku z porą roku. W I roku badań aktywność badanych enzymów (wyjątek GPT) była wyższa aniżeli w II roku, co zostało potwierdzone statystycznie.

Aktywność aminotransferazy asparaginianowej (GOT) wykazywał cykliczność powtarzającą się w ciągu obydwu lat (ryc. 1). Obserwowane różnice międzypłciowe nie są istotne statystycznie. Minimum dla obydwu płci obserwowano w zimie, zarówno w I jak i w II roku badań, a maksimum w okresie lata. Aktywność GOT dla klaczy w I roku badań

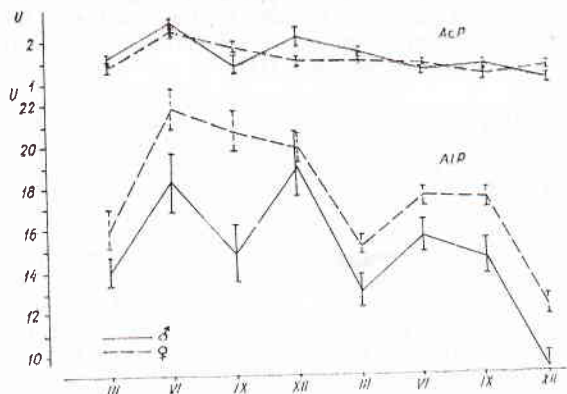
była niemal identyczna w czerwcu i we wrześniu. Minimum zimowe obserwowane w I roku różniło się statystycznie istotnie u obydwu płci od aktywności GOT w marcu, czerwcu i wrześniu. W II roku badań różnicę znamioną zanotowano między aktywnościami zimy i lata, ale dotyczyła ona jedynie klaczy.

Aktywność aminotransferazy alaninowej GPT była wyższa u ogierów (ryc. 1), jednak różnice te były nieistotne, z wyjątkiem marca I roku badań. Szczyt letni zaznaczył się wyraźnie w I roku. W II roku wpływ sezonu był słabiej widoczny, różnic istotnych nie obserwowano. Aktywność GPT poszczególnych miesięcy w I i II roku nie różniły się istotnie, z wyjątkiem września I roku, gdzie była istotnie niższa w porównaniu z aktywnością września II roku.

Aktywność aldolazy fruktozodwufosforanowej (FDPA) w I roku badań cechował nieregularny przebieg (ryc. 1). W drugim roku zmienność sezonowa była wyraźniej zaznaczona i aktywność znamionnie niższa od obserwowanej w I roku badań, minimum zimowe było istotnie niższe od aktywności z marca, czerwca i września — klacze, i od aktywności września — ogiery. Klacze charakteryzowały się wyższą aktywnością FDPA w porównaniu z ogierami, różnice te były wyraźniejsze w II roku badań (różnice znamienne pomiędzy klaczami i ogierami zanotowano w marcu i czerwcu).



Ryc. 1. Zmienność sezonowa aktywności aminotransferaz: asparaginianowej (GOT) i alaninowej (GPT) oraz aldolazy (FDPA) surowicy krwi koni arabskich



Ryc. 2. Zmienność sezonowa aktywności fosfataz: kwaśnej (AcP) i zasadowej (AIP) surowicy krwi koni arabskich

Obydwie fosfatazy wykazywały istotnie wyższe aktywności w I roku. Krzywe aktywności obydwu tych enzymów są sobie odpowiadające zarówno dla klaczy, jak i ogierów, co jest szczególnie widoczne w I roku.

Aktywność fosfatazy zasadowej (AIP) była stale wyższa u klaczy (ryc. 2), jednakże różnice istotne zanotowano tylko w 3 przypadkach: we wrześniu I roku badań oraz marcu i grudniu II roku. Aktywność AIP była wyższa w okresie lata (I rok) lub lata i jesieni (II rok) — w porównaniu do obserwowanej w okresie wiosenno-zimowym. W zimie I roku badań aktywność tego enzymu była nieistotnie niższa od aktywności lata i jesieni (klacze), natomiast u ogierów nastąpił wzrost przewyższający aktywność obserwowaną w czerwcu.

Aktywność fosfatazy kwaśnej (AcP) w I roku badań była istotnie wyższa u ogierów z wyjątkiem września, w II roku nie obserwowano różnic między płciami. Szczyt letni w I roku różnił się znamionnie od aktywności marca i września zarówno u klaczy jak i ogierów. W drugim roku brak było regularności i brak różnic, obserwowano zatracenie się cyklu i ciągły spadek aktywności AcP.

Analiza statyczna wyników potwierdziła istotność różnic między okresem ciepłym (lato) i porami chłodnymi — zima i wiosna, co może mieć tym większe znaczenie, że do badań został użyty stosunkowo niewielny materiał zwierzęcy, różnorodny wiekowo i fizjologicznie.

Operowanie pojęciem zmiany sezonowej nasuwa konieczność brania pod uwagę czynników środowiskowych, stanowiących jej składowe. Oprócz czynników klimatycznych nie mniej ważny jest tryb życia zwierząt, w tym aktywność rozrodcza towarzysząca nieodłącznie zwierzętom hodowlanym i aktywność ruchu. Trudno jest z całą pewnością wskazać, który z wymienionych czynników mógł wywrzeć wpływ na wielkość badanego parametru fizjologicznego i jego kształtowanie się w ciągu roku. Odpowiedź taką można próbować uzyskać prowadząc kontrolowane doświadczenia, polegające na eliminacji zmian czynnika środowiskowego. Wydaje się jednak, że długość dnia i nocy oraz temperatura mogą odgrywać ważną rolę jako czynniki podlegające największym zmianom. Badanie enzymów wątroby u gryzoni (8) wykazało istnienie rytmu dobowego aktywności hydrolaz lizosomalnych. Hardeland i Rensing (4) wykazali, że aktywność pirolazy tryptofanowej wątroby szczura jest najniższa w pierwszych godzinach po zapaleniu światła, zaś najwyższa w pierwszych godzinach ciemności.

Jeżeli aktywność enzymów w surowicy krwi koni podlegałaby podobnej regulacji, to zważywszy, iż krew do badań pobierano każdorazowo o tej samej godzinie, zatem o różnej porze trwania jasności, można byłoby przypuszczać, że nastąpiły zmiany w rytmie dobowym typu jakościowego (przesunięcie minimum i maksimum na inną porę doby).

Wpływ temperatury otoczenia na aktywność i własności białek enzymatycznych został zaobserwowany u zwierząt poikilotermicznych (5). U zwierząt homoio-termicznych spadek aktywności enzymów przemiany białkowej i węglowodanowej w chłodnych porach roku może mieć także związek ze zmianą zużywanych substratów energetycznych, z przejściem z węglowodanowych i białkowych na tłuszcze, najbardziej ekonomiczne z punktu widzenia energetyki komórki, zwłaszcza gdy zostają zwiększone wydatki energetyczne związane z termoregulacją.

Wydaje się jednak, że dość duże znaczenie może mieć aktywność ruchowa zwierząt, która w okresie letnim zwiększa się. Zimą konie przebywają w stajniach, z krótką przerwą na codzienny spacer, zaś latem wychodzą na pastwisko, gdzie spędzają praktycznie cały dzień. Prace prowadzone na zwierzętach laboratoryjnych wykazały, że unieruchomienie powoduje spadek aktywności enzymów w wątrobie i nerce, m.in. aldolazy i aminotransferaz (7).

W niniejszych badaniach nie zaobserwowano wpływu wieku na aktywność badanych enzymów. Sasi-

mowski i wsp. (10) stwierdzili spadek aktywności niektórych enzymów surowicy krwi koni wraz z wiekiem zwierząt. Stan fizjologiczny klaczy jałowych, żrebnich, jałowych laktujących i żrebnich laktujących nie wykazały różnic statystycznie istotnych w aktywności badanych enzymów. Mogło to być spowodowane małą liczebnością porównywanych grup klaczy.

Uzyskane wyniki, choć trudne w interpretacji, wskazują i potwierdzają cykliczność procesów biochemicznych. Ponieważ aktywność badanych enzymów podlega zmianom w stanach patologicznych różnych narządów i w zespołach chorobowych, stąd też badanie ich znalazło zastosowanie w diagnostyce lekarskiej. Należy zatem brać pod uwagę dobową i sezonową zmienność aktywności enzymów, chociażby przy ustalaniu norm fizjologicznych i odchyleniu od tych norm. Uzyskane wyniki zachęcają do kontynuowania tego typu badań w celu wyjaśnienia mechanizmów regulujących obserwowane zjawiska rytmiczne i zbadania jaki jest udział czynników środowiskowych w ich kształtowaniu.

Piśmiennictwo

1. Bruns F.: Biochem. Z. 325, 156, 1954.
2. Dzierżykraj-Rogalski T.: Rytm i antyrytm biologiczne. Wiedza Powszechna 1980.
3. Gill J., Szwarocka-Priebe T., Jabłońska E.: Mat. Sesji Nauk. Doskonalenie sprawności oraz ochrony zdrowia koni wyczynowych 12—13.12.1980, s. 138—159.
4. Hardeland R., Rensing L.: Nature 219, 619, 1968.
5. Hochachka P. W., Somero G. N.: Strategies of biochemical adaptation, Ed. W. B. Saunders Comp. Philadelphia 1973.
6. King E. J., Armstrong A. R.: Canad. Med. Ass. J. 31, 376, 1934.
7. Kołtąj A.: Genetyka fizjologiczna zwierząt, PWN W-wa, 538, 1980.
8. Lityńska A.: Wpływ promieniowania UV na rytmikę dobową aktywności niektórych hydrolaz lizosomalnych. Praca dokt. UJ Kraków, 1977.
9. Reitman S., Frankel S.: Am. J. clin. Pathol. 28, 56, 1957.

10. Sasimowski E., Budzyński M., Lipeczka Cz., Kołtąj A.: W: „Genetyka fizjologiczna zwierząt” PWN 1980, s. 479—480.
11. Szwarocka-Priebe T., Gill J.: PTF Łódź 1978, s. 374.

Швароцкая-Прибе Т. — Сезонная изменчивость активности избранных энзимов сыворотки крови арабских лошадей из Янова Подляского в 1977—1978 гг.

У 26 племенных чистокровных арабских лошадей (5 жеребцов и 21 кобылы) исследовалась активность 5 энзимов сыворотки крови в течение 2 очередных лет, каждый год ок. 21 марта, июня, сентября и декабря.

Отметились как циклическое развитие активности почти всех исследуемых энзимов, так и факт, что в общем эта активность была выше в первом году исследований чем во втором. Активность глутаматаспартаттрансаминазы (GOT) показала отчетливые максимумы летом и минимумы зимой. В активности глутаматаланинтрансаминазы (GPT) и фруктодифосфатной альдолазы (FDPA) минимумы и максимумы были менее отчетливы. Щелочная фосфатаза (AIP) показывала высшую активность у кобыл чем у жеребцов в первом году, в случае же кислой фосфатазы (AcP) сезонные изменения в связи с полом были наименее отчетливы.

Szwarocka-Priebe T. — Seasonal activity of some enzymes in sera of Arabian horses in Janów Podlaski

The activity of five enzymes in sera was assessed four times a year in 26 Arabian horses (5 stallions, 21 mares) for two years (1977—1981). The examinations were performed on 21st March, June, September, and December. The activity of all the enzymes under study was of cyclic character and their activity was higher in the first year than that in the next one. The activity of GOT was the highest in summer and the lowest in winter. This kind of activity regarding GPT and FDPA was not so well expressed. AIP showed activity in mares than in stallions, and the level of AcP was not associated with the season or sex.

CROMPTON D. W. T., SINGHVI A., NESHEIM M. C., WALTERS D. E.: Kompetycja o fruktozę wchodzącą w skład pożywienia między *Moniliformis* (*Acanthocephala*) i organizmem rosnących szczurów. (Competition for dietary fructose between *Moniliformis* (*Acanthocephala*) and growing rats). Int. J. Parasitol. 11, 457—461, 1981 (6).

Zapotrzebowanie na pokarm, przyrosty masy ciała oraz poziom cukrów we krwi rosnących szczurów karmionych dietą, zawierającą fruktozę w ilości limitującej wzrost zarażonych *Moniliformis* dubius, porównano z tymi samymi wartościami u szczurów nie zarażonych. Tempo wzrostu szczurów było ściśle uzależnione od zawartości fruktozy w karmie. Jednakże przyrosty masy ciała szczurów zarażonych były znacznie niższe od szczurów z grupy kontrolnej. U zarażonych szczurów karmionych dietą o zawartości 4% fruktozy poziom cukrów we krwi był znacznie niższy w odniesieniu do kontroli. Samce i samice *M. dubius* pochodzące z tych szczurów były znacznie cięższe w porównaniu do pasożytów otrzymanych ze szczurów, które otrzymywały pokarm zawierający 2% fruktozy. Uzyskane wyniki wskazują na współzawodnictwo o fruktozę między pasożytem i żywicielem.

G

TSUKAMURA M.: Test wrażliwości na mitomycynę C jako pomoc w różnicowaniu rodzaju *Rhodococcus* C jako pomoc w różnicowaniu rodzaju *Rhodococcus* C i *Nocardia* oraz *Mycobacterium fortuitum* i *Mycobacterium chelonae* od innych szybko rosnących prątków. Test for susceptibility to Mitomycin C as aids for differentiating the genus *Rhodococcus* from the genus *Nocardia* and from differentiating *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium chelonae* from other rapidly growing mycobacteria. Microbiol. Immunol. 25, 1197—1199, 1981 (11).

Wrażliwość na mitomycynę C okazała się bardzo przydatna w odróżnianiu mikroorganizmów z rodzaju *Rhodococcus* od *Nocardia* oraz *Mycobacterium fortuitum* i *M. chelonae* od innych szybko rosnących prątków kwasoopornych. Test przeprowadzono na podłożu Ogawy o składzie: KH_2PO_4 , glutaminian sodu, jajo kurze, glicerol, wodny roztwór zieleni malachitowej (pH 6,8). Szybko rosnące prątki, za wyjątkiem *M. fortuitum* i *M. chelonae*, są wrażliwe na mitomycynę w stężeniu 2,5 $\mu\text{g/ml}$, podczas gdy *M. fortuitum* i *M. chelonae* są odporne na stężenie mitomycyny C wynoszące 5,0 lub więcej $\mu\text{g/ml}$. Mikroorganizmy z rodzaju *Rhodococcus* są wrażliwe na stężenie 5,0 μg mitomycyny/ml, zaś *Nocardia* jest odporna na to stężenie antybiotyku.

G