

tle błędów żywieniowych, jak: monodieta kiszonkowa, niedobór paszy energetycznej itp.

Na podstawie przedstawionych niektórych zagadnień związanych ze schorzeniami okółoprodowymi u bydła nasuwa się potrzeba prowadzenia w tej dziedzinie dalszych badań o charakterze podstawowym i rozwojowym. Uzyskane wyniki mogłyby znaleźć zastosowanie w profilaktyce i metafilaktyce tzw. zespołu porodowego, rzutującego na zdrowotność, płodność i wydajność mleczną zwierząt.

Ukierunkowane metody postępowania w schorzeniach okółoprodowych mają perspektywę ewolucji dzięki wykorzystywaniu badań endokrynologicznych i biochemicznych dla potrzeb praktyki hodowlanej i lekarsko-weterynaryjnej. Za pomocą czułych metod radiokompetycyjnych czy radioimmunologicznych można oznaczyć w surowicy krwi poziom progesteronu, estradiolu, gonadotropin przysadkowych, testosteronu, hormonów podwzgórza oraz progesteronu w mleku, w celu właściwej interpretacji procesów patologicznych w układzie rozrodczym. Ustalenie poziomu progesteronu, w mniejszym stopniu LH, 17-beta estradiolu lub oksytocyny w surowicy upoważnia do hormonalnego leczenia szeregu nieprawidłowości jak acyklii, opóźnione pęknięcie lub zwyrodnienie pęcherzyków Graafa, torbiele jajnikowe i różne formy zapalenia macicy przy jej bezwładzie.

Piśmiennictwo

1. Able B. V., Dutt R. H., Thrift F. A., Bradley N. W.: J. Anim. Sci. 42, 400, 1976.
2. Bellows R. A., Short R. E., Urlick J. J., Pahnish O. F.: J. Anim. Sci. 39, 589, 1974.
3. Britt J. H., Harrison D. S., Morrow D. A.: Am. J. vet. Res. 38, 749, 1977.
4. Drewnowski F., Krzyżanowski J., Malinowski E., Murawski J., Sławomirski J., Wawron W., Wrona Z.: Zesz. probl. Post. Nauk rol. 1980 (w druku).
5. Ebert J.: Dt. tierärztl. Wschr. 83, 45, 1978.
6. Günther K. D.: Tierärztl. Umsch. 29, 411, 1974.
7. Jaśkowski L., Romaniuk J., Branicki T., Lachowski A.: Zesz. probl. Post. Nauk rol. 196, 163, 1977.
8. Kucharski J.: Płodność i niepłodność zwierząt gospodarskich, cz. 1, Rozród bydła, Mater. XVI Sesji Nauk. PTNW Poznań 133, 1978, PWRiL.
9. Mayer H., Ahlweide L., Lotthammer K. H.: Dt. tierärztl. Wschr. 82, 483, 1975.
10. Rogoziewicz M.: Płodność i niepłodność zwierząt gospodarskich, cz. 1, Rozród bydła, Mater. XVI Sesji Nauk. PTNW Poznań 41, 1978, PWRiL.
11. Romaniuk J.: Medycyna Wet. 32, 325, 1976.
12. Romaniuk J.: Płodność i niepłodność zwierząt gospodarskich, cz. 1, Rozród bydła, Mater. XVI Sesji Nauk. PTNW Poznań, 25, 1978, PWRiL.
13. Samborski Z.: Weterynaria 4/1978 Wyd. Akad. Roln. we Wrocławiu.
14. Samborski Z., Rauluszkiewicz S., Dejneka J., Marcinkowski K.: Płodność i niepłodność zwierząt gospodarskich, cz. 1, Rozród bydła, Mater. XVI Sesji Nauk. PTNW Poznań 147, 1978, PWRiL.
15. Samborski Z.: Medycyna Wet. 35, 84, 1979.
16. Samborski Z.: Zesz. probl. Post. Nauk rol. 1980 (w druku).
17. Samborski Z., Hejlasz Z., Rauluszkiewicz S., Marcinkowski K., Stańczyk J.: Zesz. probl. Post. Nauk rol. 1980 (w druku).
18. Samborski Z., Dejneka J., Rauluszkiewicz S., Marcinkowski K.: Pol. Arch. wet. (w druku).
19. Senze A., Dejneka J., Urbański R.: Zesz. probl. Post. Nauk rol. 1980 (w druku).
20. Sommer H.: Tierzüchter 25, 251, 1973.
21. Somer H.: Vet. Med. Nachr. H. 1/2, 41, 1975.
22. Sommer H.: Züchtungskunde 48, 172, 1976.
23. Vandeplasche M., Bouters R.: Proc. VIII Inter. Congr. anim. Reprod. Art. Insem. Kraków 4, 660, 1976.
24. Von Barth T., Haase H., Rehbock F.: Mh. Vet. Med. 31, 417, 1976.

Adres autora: prof. dr Zbigniew Samborski, pl. Grunwaldzki 15 m. 62, 50-378 Wrocław.

BOGUSŁAW KOTOŃSKI, JAN HUTNY, ANDRZEJ DUBIEL

Aktywność niektórych enzymów w nasieniu knurą; akrozyna i inhibitor trypsyny*)

Z Zakładu Biochemii Instytutu Nauk Fizjologicznych oraz z Kliniki Położniczej Instytutu Patologii i Terapii Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego AR we Wrocławiu

Materiały i metody

Akrozyna — enzym proteolityczny związany z błonami akrosomu, jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za penetrację plemnika przez *zona pellucida* komórki jajowej (4).

Aktywność tego enzymu jest hamowana przez swoiste inhibitory enzymów proteolitycznych, które między innymi występują w osoczu nasienia. Badania aktywności akrozyny i inhibitora trypsynowego w nasieniu mogą być dodatkowymi wskaźnikami stanu fizjologicznego ejakulatów (6).

Praca ta jest wstępem do badań stanu ejakulatów w poszczególnych etapach konserwacji nasienia knurów. Celem jej była obserwacja dynamiki zmian aktywności akrozyny i inhibitora podczas przechowywania pełnego nasienia w temperaturze 4° oraz stwierdzenie czy pomiar aktywności obu parametrów może być wskaźnikiem stanu błon akrosomu plemnika knura.

Badania prowadzono na świeżych ejakulatach w czasie 1—3 godzin od chwili pobrania oraz na nasieniu przetrzymywanym w temp. 4° w czasie do 72 godz. Próby pochodziły od 33 knurów.

5 cm³ nasienia wirowano przy 900×g przez 15 min. w temp. pokojowej, oddzielając osocze od osadu plemników, które następnie trzykrotnie przemywano 1 objętością 50 mM buforu Tris-HCl o pH 7,4 w temp. 4°. Sposób preparacji frakcji akrosomalnej oparto o metodę Srivastavy i wsp. (5): plemniki zawieszano w 5 cm³ 50 mM buforu Tris-maleinowego, pH 6,1, zawierającego MgCl₂ 50 mM i łagodnie homogenizowano w homogenizatorze Pottera. Homogenat umieszczano w łaźni lodowej na 30 min. a następnie wirowano przy 3000×g w temp. 4° przez 10 min. Supernatant stanowił frakcję akrosomalną.

Białko osocza i frakcji akrosomalnej oznaczano metodą Lowry i wsp. (3). Aktywność inhibitora trypsynowego oznaczano przy użyciu krystalicznej trypsyny f-my Koch-Light (2). Akrosynę oznaczano przy użyciu estru etylowego benzoilargininy (BAEE) przez pomiar ekstynkcji przy 253 nm (1). Wyniki pomiaru aktywności akrozyny i inhibitora trypsynowego podano w międzynarodowych jednostkach aktywności. Istotność statystyczną określano testem t Studenta.

*) Praca wykonana w ramach problemu MR II 10 koordynowanego przez Instytut Patologii i Terapii Zwierząt AR we Wrocławiu.

Wyniki i omówienie

Poziom białka w osoczu nasienia wynosił $47,8 \pm 14,1$ mg/ml i nie ulegał statystycznie istotnym zmianom podczas przechowywania.

Aktywność akrozyiny w osoczu nasienia świeżego wynosiła średnio 127 ± 148 mIU/ml osocza, czyli 3 mIU/mg białka. W trakcie przechowywania nasienia stwierdzono znaczny wzrost aktywności badanego enzymu do poziomu 458 mIU/ml osocza po 48 godz. oraz 900 mIU/ml po 72 godz. Pomimo znacznego rozrzutu wyników grupy kontrolnej, wzrost ten okazał się istotny statystycznie (tab. 1). Stąd pomiar aktywności akrozyiny w osoczu nasienia może być jednym z parametrów oceny stanu nasienia knura.

Tab. 1. Aktywność akrozyiny w osoczu nasienia knura

Czas od pobrania (godz.)	Liczebność (szt.)	mili IU/ml osocza
1—3	18	127 ± 148
24	11	545 ± 630 *
48	13	458 ± 429 **
72	8	900 ± 767 **

Objaśnienia: Różnica pomiędzy aktywnością w nasieniu świeżym i przechowywanym istotna: * przy $P < 0,05$, ** przy $P < 0,01$.

Badając aktywność akrozyiny we frakcji akrosomalnej, preparowanej po 1—3 godz. od pobrania nasienia, stwierdzono średnią aktywność 450 ± 310 mIU/mg białka. W miarę przechowywania nasienia następował istotny statystycznie wzrost aktywności enzymu (tab. 2)

Tab. 2. Aktywność akrozyiny we frakcji akrosomalnej nasienia knura

Czas od pobrania (godz.)	Liczebność (szt.)	mili IU/mg białka
1—3	33	450 ± 310
24	18	610 ± 301
48	9	1474 ± 930 **
72	6	732 ± 168

Objaśnienie: Różnica między aktywnością we frakcji akrosomalnej nasienia świeżego i przechowywanego istotna: ** przy $P < 0,01$.

Przechowywanie powyżej 48 godz. w podanych warunkach prowadzi do uszkodzenia enzymu, co objawia się spadkiem aktywności.

Aktywność inhibitora trypsynowego w osoczu wynosiła średnio 655 ± 254 mIU/mg białka, czyli $30,3 \pm 12,2$ IU/ml osocza. Po 24 godzinach przechowywania obserwowano nieznaczny wzrost aktywności z następującym później spadkiem do poziomu kontrolnego. Zmiany te są jednak nieistotne statystycznie. Zatem na podstawie pomiaru tego parametru nie można wnioskować o stanie plemników.

Pojawienie się akrozyiny w osoczu nasienia, zwłaszcza po pewnym okresie przechowywania, jest oczywistym efektem rozpadu akrosomów. Natomiast obserwowany wzrost aktywności tego enzymu we frakcji akrosomalnej można tłumaczyć lepszą wydajnością ekstrakcji akrozyiny, spowodowaną zmianami stanu błon główki plemnika.

Przedstawione wyniki wskazują, że przy stosowaniu metod konserwacji nasienia knura, polegających na stopniowym wielogodzinnym obniżaniu temperatury, należy się liczyć ze zmianami trwałości błon akrosomu i „przeciek” akrozyiny do osocza i rozcieńczalników. Świadczy o tym stosunkowo szybki wzrost aktywności akrozyiny w osoczu nasienia w ciągu pierwszych kilkunastu godzin przechowywania.

Wnioski

1. Zmiany stanu błon akrosomu, zachodzące podczas przechowywania nasienia, ułatwiają ekstrakcję akrozyiny oraz powodują jej „przeciek” do osocza.

2. Poziom inhibitora trypsynowego w osoczu nasienia knura jest niezależny od stanu plemników.

3. Wyniki pomiarów aktywności akrozyiny mogą służyć jako wskaźnik trwałości plemników knura.

Piśmiennictwo

1. Bergmeyer H. U.: Methoden der Enzymatischen Analyse. Akademie Verlag, Berlin, 1970, s. 476.
2. Bergmeyer H. U.: Methoden der Enzymatischen Analyse. Akademie Verlag, Berlin, 1970, s. 1023.
3. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J.: J. biol. Chem. 193, 265, 1951.
4. McRorie R. A., Williams W. L.: A. Rev. Biochem. 43, 777, 1974.
5. Srivastawa P. N., Munnel J. F., Yang C. H., Foley C. W.: J. Reprod. Fert. 36, 363, 1974.
6. Strzeżek J., Smigieliska J., Taha Jassim Al-Taha: Medycyna Wet. 35, 353, 1979.

Adres autora: dr Bogusław Kotoński, ul. Powstańców Śląskich 194a/17, 53-139 Wrocław.

Котонский Б., Хутный, Дубель А. — Активность некоторых энзимов в семени хряка: акрозин и ингибитор трипсина.

Определялась активность акрозина в семенной плазме и акросомальной фракции семени хряка, обнаруживая соответственно 3 и 450 мМЕ/мг белка. В период хранения семени при темп. 4° до 72 часов обнаружено повышение активности энзима при неизменном уровне белка. Активность ингибитора трипсина равняется в среднем 635 мМЕ/мг белка и не изменяется существенно во время хранения.

Kotoński B., Hutny J., Dubiel A. — Activity of certain enzymes in the boar semen; acrosin and trypsin inhibitor.

The studies on the activity of acrosine in the seminal plasma and in the acrosomal fraction of spermatozoa of the boar revealed 3 and 450 mIU per mg of protein, respectively. When the ejaculates were stored at 4°C till 72 h, the increase of the activity of both fractions has been observed with the unchanged level of protein. The value of the activity of the plasma trypsin inhibitor was 635 mIU per mg of protein and it did not change during the storage.