

14. Parrish J. J., Susko-Parrish J. L., Leibfried-Rutledge M. L., Crister E. S., Eyestone W. H., First N. L.: *Theriogenology* 25, 1983.
15. Pavlok A., Motlik J., Kańka J., Fulka J.: *Reprod. Nutr. Dev.* 29, 611, 1989.
16. Strard M. A., Labmert R. D., Menard D. P., Bedaya M.: *J. Reprod. Fert.* 75, 551, 1985.
17. Xu K. P., Greve T., Callesen H., Hyttel P.: *J. Reprod. Fert.* 81, 501, 1987.

Adres autora: dr Lucyna Kątska, ul. Rejtana 8/4, 30-510 Kraków

HALINA MILLER-PODRAZA, EWA SKARŻYŃSKA, ALEKSANDRA SAFIANOWSKA \*,  
LESZEK HRYCKIEWICZ \*\*, LESZEK TOMASZEWSKI

## Glikosfingolipidy plemników buhaja

Zakład Patobiochemii i Chemii Klinicznej Instytutu Biofarmacji, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa  
\* Zakład Biochemii Instytutu Hematologii, ul. Chocimska 5, 02-957 Warszawa  
\*\* Wojewódzka Lecznica dla Zwierząt, ul. Bolesława Bieruta 72, 75-816 Koszalin

### Summary

#### Glycosphingolipids of bull's spermatozoons

In bull's spermatozoons the presence of sphingosine glycolipids was verified. The neutral glycosphingolipids do not surpass  $1.5 \mu\text{g}/10^8$  cells, gangliosides  $0.2 \mu\text{g}/10^8$  cells. Between them quantitatively prevailed glycosylceramide (Glc-Cer) and trinexosylceramide. No one of studies compounds contained hexosamines. The bulk of acid glycosphingolipids showed the chromatographic motility typical for gangliosides GM3 (Sial-Gal-Glc-Cer).

The content of glycosphingolipids of bulls spermatozoons is inconsiderable. Their role is still obscure. There is a need for further research aimed at the elucidation of their biological function.

Glikolipidy sfingozynowe (glikosfingolipidy) stanowią niejednorodną grupę związków lipidowych wchodzących w skład błon komórkowych zwierząt i człowieka (15, 17, 31). Związki te zostały wyizolowane z wielu tkanek i szczegółowo scharakteryzowane (2, 3, 5, 8, 10, 28). Słabo poznany pod względem składu glikosfingolipidowego pozostaje ciągle układ rozrodczy, w tym nasienie ludzkie i zwierzęce.

Wiadomo obecnie, że głównym glikolipidem jąder i nasienia ssaków jest tzw. seminolipid, chemicznie opisywany jako sulfo-galaktozylo-acylo-alkilo-glicerol ( $\text{SO}_3\text{H} \rightarrow 3\text{Gal} - \text{AAG}$ ) lub sulfo-galaktozylo-dwuacylo-glicerol ( $\text{SO}_3\text{H} \rightarrow 3\text{Gal} - \text{DAG}$ ) (4). Jądra i nasienie ssaków zawierają również glikolipidy sfingozynowe (6, 8, 21, 22). W 1987 r. Ritter i wsp. (22) wyizolowali i scharakteryzowali glikosfingolipidy z nasienia ludzkiego. Otrzymali oni glikosfingolipidy obojętne i gangliozydy z plemników w ilości  $44 \pm 0,9$  i  $22,1 \pm 1,7$  nmola/ $10^8$  komórek. W płynie nasiennym stwierdzili obecność  $4,1 \pm 0,6$  nmola gangliozydów/ml i  $29 \pm 1,5$  nmola glikosfingolipidów obojętnych/ml. Głównymi glikosfingolipidami obojętymi nasienia były: mono-, dwu-, trój- i czteroheksosylceramidy typu krwinkowego (tzw. serii globo), wśród gangliozydów przeważały sjało i dwusjało-laktozyloceramidy (wg nomenklatury Svennerholma (29) gangliozydy GM3 i GD3).

Celem tej pracy była próba izolacji i charakterystyki glikosfingolipidów plemników buhaja.

#### Materiał i metody

Glikosfingolipidy izolowano z pulowanego nasienia buhajów pobranego z W.Z.Wet. w Koszalinie. Wzorcowe gangliozydy: GM3, GM1, GD1a, GD1b oraz glukozylceramid otrzymano od p. dr T. Pacuski Z Instytutu Hematologii. Wzorcowy tetraheksosylceramid (asjalogangliozyd) przygotowano z gangliozydów mózgu wołowego firmy Koch Light.

Preparatyka glikosfingolipidów. Nasienie buhajów (łącznie 450 ml) wirowano stosując obroty 14000/min (MPW 310, Mechanika Precyzyjna). Osad homogenizowano z wodą (150 ml) i ekstrahowano 600 ml mieszaniny chloroformu z metanolem (1:2 stos. objętościowy) przez 2 godziny w temp.  $37^\circ\text{C}$ . Następnie zawiesinę wirowano i osad reekstrahowano dwa razy stosując mieszaninę chloroform : metanol = 1 : 2 (50 ml) i mieszaninę chloroform : metanol = 1 : 1 (50 ml). Połączone ekstrakty odparowano na obrotowej wyparce próżniowej i z otrzymanego materiału izolowano glikosfingolipidy obojętne i gangliozydy stosując standardowe metody tj. hydrolizę alkaliczną, odsolenie, chromatografię jonowymienną na DEAE-Sephadexie A-25 oraz chromatografię kolumnową i cienkowarstwową na kwasie krzemowym (19). Do rozdzielania glikosfingolipidów obojętnych na kolumnie z kwasu krzemowego stosowano dolną fazę układu powstałego przez zmieszanie chloroformu : metanolu : wody w stosunku objętościowym 65 : 30 : 8. Preparatywne chromatogramy cienkowarstwowe z naniesionymi gangliozydami i glikosfingolipidami obojętymi rozwijano w tych samych układach co w metodach analitycznych. Chromatogramy wybarwiano jodem i materiał z zaznaczonych pól, po zeszkobaniu ze szkła, ekstrahowano nadmiarem mieszaniny chloroform : metanol = 1 : 1 i 1 : 2 w przypadku glikosfingolipidów obojętnych i nadmiarem mieszaniny chloroform : metanol = 2 : 3 w przypadku gangliozydów. Gangliozyd GM3 czyszczono dodatkowo drogą acetylacji. Glikolipid acetylowano w mieszaninie pirydyny i bezwodnika octowego (stosunek objętościowy 3 : 2) przez noc w temp. pokojowej. Następnie po odparowaniu rozpuszczalników nakładano na kolumnkę z kwasu krzemowego. Stosowano w tym przypadku jako układ rozwijający mieszaninę chloroformu : metanolu : wody = 90 : 10 : 1.

Metody analityczne. Sfingozynę oznaczano wg Lautera i Tramsa (11). Cukry analizowano drogą chromatografii gazowej po uprzednim przekształceniu ich w etery sjałowe (33). Metodą chromatografii gazowej rozdzielano także kwasy tłuszczowe. W celu wykrycia hydroksykwasów analizę prowadzono przed i po reakcji z odczynnikiem sjali-lującym (32). Chromatografię cienkowarstwową wykonywano na płytkach firmy Merck, fabrycznie powleczonych kwasem krzemowym. Przy rozdzielaniu gangliozydów stosowano układ rozwijający chloroform : metanol : woda : 2%  $\text{CaCl}_2$  = 60 : 35 : 7 : 1, przy analizie glikosfingolipidów obojętnych używano fazy dolnej powstałej po zmieszanii chloroformu : metanolu : wody = 65 : 30 : 8. Glikosfingolipidy obojętne wybarwiono na płytkach odczynnikiem orcyńolowym (10, gangliozydy — odczynnikiem rezorcynolowym (19).

#### Wyniki i omówienie

Stosując standardowe metody izolacji otrzymano z plemników buhaja szereg glikosfingolipidów obojętnych i kwaśnych (gangliozydów). Na podstawie ilościowej oceny chromatogramów cienkowarstwowych dokonywanych na wstępnych etapach preparatyki oszacowano, że zawartość glikosfingolipidów obojętnych w plemnikach była nie mniejsza niż  $1,5 \mu\text{g}/10^8$  komórek, zawartość gangliozydów nie mniejsza niż  $0,2 \mu\text{g}/10^8$  komórek. Daje to łączną wartość  $1,7 \mu\text{g}$  czyli  $1,7 \text{ nmola}/$

Tab. 1. Analiza chemiczna glikosfingolipidów plemników buhaja

Fracje glikolipidów obojętnych	Zawartość we frakcji						Stosunki molowe Sfing = 1		
	Sfing **		Glc *		Gal *		Sfing	Glc	Gal
	µg	µmol	µg	µmol	µg	µmol			
Fracja A	88	0,29	56	0,31	—	—	1	1,07	—
Fracja B	108	0,36	56	0,31	—	—	1	0,86	—
Fracja C	64	0,21	55	0,30	72	0,40	1	1,43	1,90
Fracja D	56	0,18	32	0,18	56	0,31	1	1,00	1,72
Fracja E	46	0,15	24	0,13	48	0,27	1	0,87	1,80
Gangliozyd	20	0,07	12	0,07	9,6	0,06	1	1,00	0,86

Objaśnienia: \* — analizę prowadzono na kolumnie wypełnionej 3% SE-30 w gradiencie temperatury 1°C/min. 130°C → 240°C, \*\* — substancją wzorcową w oznaczeniach była sfingozyna uwalniana z laktoneotetraocyloceramidu krwinkowego, przyjęto w obliczeniach ze m.c.z. sfingozyny = 300.

Skróty: Sfing — sfingozyna, Glc — glukoza, Gal — galaktoza.

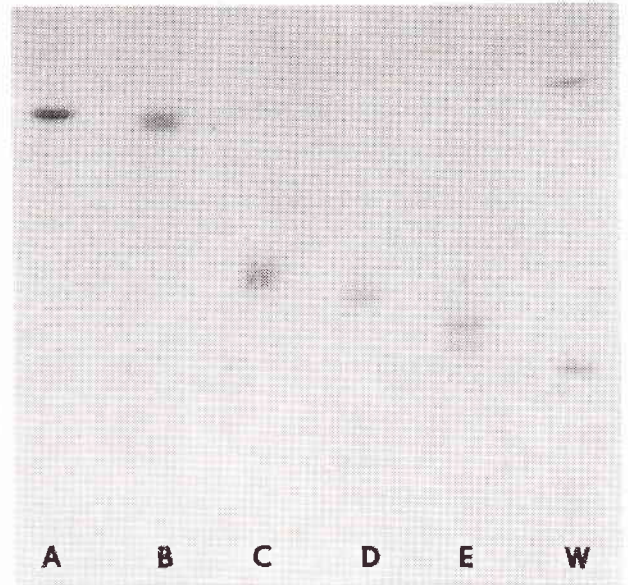


Ryc. 1. Chromatografia cienkowarstwowa glikosfingolipidów obojętnych wyizolowanych z plemników buhaja (frakcja nie podzielona otrzymana po kolumnie z DEAE-Sephadexu A-25)

Objaśnienia: 1 — glikosfingolipidy obojętne plemników buhaja, 2 — glikosfingolipidy wzorcowe, od góry: monoheksocyloceramid, tetraheksocyloceramid.

/10<sup>6</sup> komórek (przy założeniu, że ciężar cząsteczkowy analizowanych związków = 1000). Dokładne ustalenie zawartości glikosfingolipidów w plemnikach buhaja nie było możliwe ze względu na straty materiału w czasie preparatyki i oczyszczania. W komórkach rozrodczych buhaja glikolipidy sfingozynowe stanowią znikomą część wszystkich lipidów i uwidocznienie ich na płytce z kwasu krzemowego było możliwe dopiero po częściowym oczyszczeniu materiału. Końcowe wydajności podane w tab. 1 nie odzwierciedlają faktycznego stężenia glikosfingolipidów w plemnikach.

Ryc. 1 przedstawia chromatografię cienkowarstwową frakcji glikosfingolipidów obojętnych uzyskaną po kolumnie z DEAE-Sephadexu. W materiale badanym widać dwie wyraźne grupy glikolipidów. Jedna lokuje się tuż za wzorcowym glukozyloceramidem, druga — powyżej wzorcowego tetraheksocyloceramidu. Ciemna plama u góry chromatogramu widoczna na wysokości czoła rozpuszczalnika — to materiał niecukrowy, którego na tym etapie preparatyki było jeszcze bardzo



Ryc. 2. Chromatografia cienkowarstwowa oczyszczonych frakcji glikosfingolipidów obojętnych

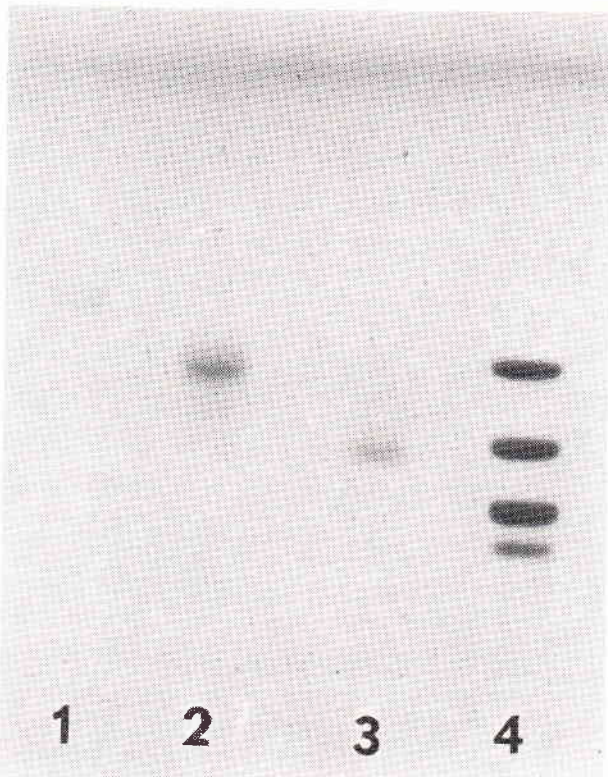
Objaśnienia: A do E — frakcje glikosfingolipidów obojętnych plemników buhaja, W — glikosfingolipidy wzorcowe, od góry: monoheksocyloceramid i tetraheksocyloceramid.

dużo. Daje on w reakcji z orcynolem inną barwę niż związki węglowodanowe. Po rozdzieleniu mieszaniny glikosfingolipidów na kwasie krzemowym otrzymano 5 frakcji (A, B, C, D i E) różniących się ruchliwością chromatograficzną (ryc. 2).

Ryc. 3 przedstawia chromatografię cienkowarstwową frakcji gangliozydowych plemników buhaja. Pierwsza z frakcji wykazywała ruchliwość chromatograficzną większą niż gangliozyd GM3 (GM4?), druga (główna ilościowo) lokowała się na wysokości wzorcowego gangliozydu GM3, trzecia umiejscawiała się na wysokości wzorcowego gangliozydu GM1. Ze względu na zbyt małą ilość materiału frakcje pierwsza i trzecia nie były dalej badane.

Oczyszczone glikosfingolipidy obojętne oraz główna frakcja gangliozydowa poddane zostały analizie chemicznej. Wyniki ilościowych oznaczeń sfingozyny i składników cukrowych podaje tab. 1. W tab. 2 przedstawiony został skład kwasów tłuszczowych badanych związków. Otrzymane wyniki wskazują jednoznacznie, że glikolipidy wyizolowane z plemników buhaja należą do lipidów sfingozynowych. W każdej frakcji wykryto obecność sfingozyny, kwasu tłuszczowego i składnika cukrowego.

Fracje A i B glikolipidów obojętnych wykazywały skład typowy dla glukozyloceramidu. Jedynym wykrytym cukrem była glukoza, stosunek molowy sfingozyna-



Ryc. 3. Chromatografia cienkowarstwowa gangliozydów plemników buhaja

Objaśnienia: 1, 2, 3 — frakcje gangliozydowe otrzymane z plemników buhaja, 4 — gangliozydy wzorcowe, od góry: GM3, GM1, GD1a, GD1b.

-glucza wyniósł w przybliżeniu 1:1. Niewielka różnica w ruchliwości chromatograficznej między frakcją A i B mogła być spowodowana nieco odmiennym składem kwasów tłuszczowych (tab. 2). We frakcji A nie stwierdzono obecności hydroksykwasów, podczas gdy frakcja B zawierała pewną ich ilość. We frakcji B stwierdzono ponadto, w stosunku do frakcji A, wyższą zawartość kwasów nienasyconych i niższą zawartość kwasów niskocząsteczkowych.

We frakcjach C, D, E glikolipidów obojętnych stwierdzono obecność glukozy i galaktozy. Stosunek molowy sfingozyna-glukoza był we frakcjach D i E zbliżony do jedności, we frakcji C stwierdzono pewną przewagę glukozy nad sfingozyną. Przypuszczamy, że wynik ten spowodowany był zanieczyszczeniem glukozą np. glukoza jest składnikiem Sepsadexu i worków dializacyjnych, które były używane w czasie preparatyki. Stosunek molowy sfingozyna-glukoza równy jedności był przez nas oczekiwany, ponieważ w większości glikolipidów ludzkich i zwierzęcych glukoza występuje jako jedna reszta w cząsteczce w bezpośrednim połączeniu z ceramidem (2, 15, 31). Stosunek molowy sfingozyna-galaktoza wahał się we frakcjach C, D i E od 1,72 do 1,90 co sugeruje, że część cukrowa tych lipidów złożona była z jednej reszty glukozy i dwóch reszt galaktozy. Jest to skład typowy dla trójheksylozoceramidu o budowie Gal-Gal-Glc-Cer.

Analiza części cukrowej frakcji gangliozydowej wykazała obecność glukozy i galaktozy, a stosunek molowy sfingozyna-glukoza-galaktoza wyniósł w przybliżeniu 1:1:1. Wynik ten potwierdza wstępną identyfikację głównej frakcji gangliozydowej jako gangliozydu GM3 (sjalo-laktozoceramidu). Głównymi kwasami tłuszczowymi w analizowanych glikolipidach obojętnych były 16:0, 18:0, 22:0 i 24:0, we frakcji gangliozydowej

Tab. 2. Skład procentowy kwasów tłuszczowych w glikosfingolipidach plemników buhaja

Kwas tłuszczowy *	Fracje					Gangliozyd
	A	B	C	D	E	
14:0	1,5	0,5	—	0,5	0,4	8,3
14:1	2,5	1,0	3,2	1,3	1,2	6,1
16:0	27,1	22,5	26,8	24,7	36,8	22,6
16:1	3,4	3,8	0,4	2,2	1,1	8,1
18:0	16,2	11,4	12,5	13,3	17,7	15,2
18:1	7,1	10,8	6,2	8,1	7,9	26,8
20:0	6,0	8,0	3,8	4,4	3,7	9,2
22:0	13,3	12,9	10,7	17,0	9,2	2,0
24:0	11,7	9,9	14,2	11,4	6,5	1,1
26:0	ślady	ślady	ślady	ślady	ślady	ślady
Hydroksykwasy **	—	16,7	15,9	11,5	6,2	nie oznacz.
Kwasy inne niezidentyfikowane	11,1	2,4	6,3	5,6	9,3	0,5

Objaśnienia: \* — symbol cyfrowy opisuje łańcuch wodorowęglowy kwasu tłuszczowego wg schematu: liczba atomów węgla: liczba wiązań podwójnych. Kwasy tłuszczowe rozdzielano w temp. 180°C na kolumnie wypełnionej nośnikiem — 10% SILAR 10C. \*\* — w obliczeniach brano pod uwagę frakcje zmieniające ruchliwość chromatograficzną po sjałilacji.

wej przeważały natomiast 16:0, 18:0, 18:1 (tab. 2).

Przedstawione wyniki wskazują, że głównymi glikosfingolipidami w plemnikach buhaja są glukozyloceramid, trójheksylozoceramid nie zawierający heksozoaminy oraz gangliozyd GM3. Pozostaje jednak nie wyjaśniona różnica w ruchliwości chromatograficznej frakcji C, D i E. Zwykle glikolipidy o takich samych łańcuchach cukrowych lokują się na chromatogramach cienkowarstwowych w tym samym miejscu lub bardzo blisko siebie. Początkowo sądzono, że pojawienie się trzech różnych frakcji o cechach trójheksylozoceramidów spowodowane było obecnością reszt siarczanowych w cząsteczkach badanych związków. Z piśmiennictwa wiadomo, że homogenaty jąder szczura zawierają enzymy katalizujące przyłączanie reszt siarczanowych do egzogenego galaktozoceramidu i laktozoceramidu oraz inhibitor regulujący szybkość tych reakcji (14). Frakcje C, D, E poddano więc desulfatacji w 0,05M HCl w metanolu (27), nie zmieniło to jednak ich ruchliwości chromatograficznych. Zróznicowanie struktury ceramidowej, a szczególnie obecność różnych kwasów tłuszczowych sprawia, że większość glikosfingolipidów tkankowych o niskiej zawartości węglowodanów migruje na płytkach chromatograficznych w postaci dwóch lub więcej pasm (9). W naszym przypadku kwasy tłuszczowe mogły być przyczyną rozdziału glukozyloceramidu, nie wydaje się jednak prawdopodobne, by wpłynęły na rozdział trójheksylozoceramidów. Nie stwierdzono większych różnic w składzie kwasów tłuszczowych pomiędzy frakcjami C, D i E. Odpowiedź na zadane pytanie i dokładne ustalenie struktury analizowanych glikolipidów wymaga więc dalszych badań.

Badania Rittera i wsp. (22) wykazały, że plemniki są bardzo ubogie w glikosfingolipidy. Mała ilość związków w komórce nie świadczy jednak o ich nikłej roli biologicznej. Wiadomo, że lipidy sfingozynowe uczestniczą w wielu procesach zachodzących na poziomie błony komórkowej (16). Niektóre z tych związków (np. gangliozyd GM1) funkcjonują jako receptory komórkowe (1, 20). Wykazano np. że egzogenne gangliozydy hamują *in vitro* tworzenie rozet między limfocytami i erytrocytami myszy (7), stwierdzono też, że glikolipid GA1 (gangliotetraglikozoceramid) bierze udział w reakcjach cytotoxicznych zachodzących z udziałem komórek NK (ang. natural killer) (23, 24, 26). Z punktu widzenia pa-

tofizjologii ważne jest, że wiele glikolipidów to substancje o właściwościach antygenowych biorących udział w odpowiedzi immunologicznej ustroju, np. reakcja przeciwciała antyP z globozydem krwinkowym była powodem wstrząsów poprzetoczeniowych i konfliktów serologicznych w ciąży (18).

Rola glikosfingolipidów w komórkach rozrodczych pozostaje nie wyjaśniona. Nie wiadomo, czy ich skład i ilość zmienia się w czasie życia plemników. Nie wiadomo jak przebiega synteza i degradacja tych związków w procesie kapacytacji. Brak jest także informacji o tym, czy egzogenne glikolipidy wywierają wpływ na żywotność i funkcje plemników. Z badań nad innymi glikokoniugatami wynika, że związki węglowodanowe mogą odgrywać istotną rolę w spermatogenezie i zapłodnieniu (12, 13, 30).

Z przeprowadzonych badań wynika, że plemniki buhaja zawierają niewielkie ilości glikosfingolipidów typowych dla innych zwierzęcych tkanek pozaneuronalnych (glukozyloceramid, trójheksosyloceramid, gangliozyd GM3). Dalsze badania nad strukturą chemiczną tych związków w komórkach mogą się przyczynić do wyjaśnienia ich roli biologicznej.

Mimo, że preparatyka glikosfingolipidów z plemników jest zadaniem trudnym i żmudnym, autorzy są zdania, że podjęty w tej pracy temat wart jest kontynuowania.

#### Piśmiennictwo

1. Fishman P. H., Brady R. O.: Science 194, 906, 1976.
2. Fishman P. H., Miller-Podraza H. w: Structural Carbohydrates in the Liver, MTP Press Limited, Boston 1983, s. 99.

3. Fletcher K. S., Bremer E. G., Schwarting G. A.: J. Biol. Chem. 254, 11196, 1979.
4. Ischizuka I., Yamakowa T.: New Compr. Biochem. 10, 101, 1985.
5. Karpiak S. E.: Biochemia Zwierząt, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa 1986, s. 540.
6. Keenan T. W., Nyquist S. E., Mollenhauer H. H.: Biochim. Biophys. Acta 270, 433, 1972.
7. Kolb H.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 105, 1488, 1982.
8. Kornblatt M. J., Schachter H., Murray R. K.: Fed. Proc. 31, 876 (Abs), 1972.
9. Kościelak J., Maśliński W., Zieliński J., Zdebska E., Brudziński T., Miller-Podraza H., Cedergren B.: Biochim. Biophys. Acta 530, 385, 1978.
10. Kościelak J., Miller-Podraza H., Krauze R., Piasek A.: Eur. J. Biochem. 71, 9, 1976.
11. Lauter C. J., Trams E. C.: Lipid. Res. 3, 136, 1962.
12. Lee S. H., Ahuja K. K.: J. Reprod. Fert. 80, 65, 1987.
13. Lingwood C. A.: Can. J. Biochem. Cell Biol. 63, 1077, 1985.
14. Lingwood C. A.: Biochem. J. 231, 393, 1985.
15. Makita A., Taniguchi N.: New Compr. Biochem. 10, 199, 1985.
16. Miller-Podraza H.: Acta Haemat. Pol. 18, 185, 1985.
17. Miller-Podraza H.: Post. Biochem. 30, 299, 1984.
18. Miller-Podraza H., Kościelak J.: Acta Haemat. Pol. 6, 299, 1975.
19. Miller-Podraza H., Fishman P. H.: Biochemistry 21, 3265, 1982.
20. Pacuszka T., Bradley R. M.: Post. Biochem. 26, 565, 1980.
21. Pacuszka T., Osborne J. C. Jr., Brady R. O., Fishman P. H.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75, 764, 1978.
22. Ritter G., Krause W., Greyer R., Stirm S., Wiegandt H.: Arch. Biochem. Biophys. 257, 370, 1987.
23. Schwarting G. A., Gajewski A.: J. Immunol. 126, 2403, 1981.
24. Schwarting G. A., Summers A.: J. Immunol. 124, 1691, 1980.
25. Seyfried T. N., Ando S., Yu R. K.: Lipid Res. 19, 538, 1978.
26. Shimamura K., Habu S., Fukui H., Akatsuka A., Okumura K., Tamaoki N.: J. of the Nat. Cancer Inst. 68, 449, 1982.
27. Slomiany B. L., Slomiany A., Horowitz M. J.: Biochim. Biophys. Acta 348, 388, 1974.
28. Svennerholm E., Svennerholm L.: Nature 198, 688, 1963.
29. Svennerholm L., w: Handbook of Neurochemistry t. 3, wyd. A. Lajtha. Plenum Press, New York s. 425, 1970.
30. Tsukise A., Yamada K.: Histochem. J. 19, 345, 1987.
31. Wiegandt H.: New Compr. Biochem. 10, 199, 1985.
32. Zdebska E., Antoniewicz J., Kościelak J.: Arch. Biochem. Biophys. 273, 223, 1989.
33. Zdebska E., Chełstowska A., Kościelak J.: Glycoconjugate 2, 31, 1985.

Adres autora: dr hab. Halina Miller-Podraza, Zakład Patobiochemii i Chemii Klinicznej Instytutu Biofarmacji, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

ANDRZEJ JĘDREAS

Maków Mazowiecki

## Oestrophan (Spofa) w leczeniu jałowości bydła

### Summary

#### Oestrophan (Spofa) in the treatment of cows sterility

The studies were carried out on cows and heifers coming from individual farms from the Ostrołęka district. The animals were divided into 4 groups. Group I — was given Oestrophan twice 11 days apart and the animals were inseminated after 72 and 96 hours. Group II — was administered one dose of Oestrophan intramuscularly. Group III — the animals were treated by corpus luteum extirpation. Group IV (control) consisted of animals with spontaneous oestrus during the studies. In the group I after 1—2 inseminations 95.45% of cows and heifers became pregnant within 5.5 days since the treatment termination. In the group II — oestrus appeared in 86.7% of animals within 5.4 days. Altogether 86.7% of females became pregnant. A mean number of days from the therapy termination to fertilization was 8.5 days. Worse results were obtained in the groups III and IV. The percentage of fertilization compared with the former groups was 50 and 73.3%, respectively and the number of days from the treatment termination to fertilization was 5—70 and 20—138 days.

45 dni *post partum* przed pierwszą inseminacją musi być zachowany, co w efekcie daje 40—70-dniowy okres, w którym krowa powinna zostać zacielona.

Spśród licznych środków oddziałujących na przebieg cyklu rujowego samic zwierząt gospodarskich w badaniach własnych użyto syntetycznego analogu prostaglandyny F 2 alfa — Oestrophan firmy Spofa. Głównym efektem fizjologicznym preparatu Oestrophan jest spowodowanie fizjologicznej i morfologicznej regresji ciała żółtego. Skutkiem tego dochodzi do uwalniania wydzielania hormonu wzrostu pęcherzyka (FSH) i w ciągu trzech dni następuje wzrost pęcherzyka Graafa i owulacja. Jest to proces identyczny ze spontanicznym zanikiem ciała żółtego. Także owulacja, potwierdzona badaniem rektalnym, występuje w takim samym czasie, jak w rui cyklicznej.

Dla porównania prześledzono również metodę mechanicznego wyluszczenia (enukleacji) ciała żółtego drogą ucisku przez ścianę jelita (prostnicy).

### Materiał i metody

Okres międzywycieleniowy wynoszący od 12 do 13 miesięcy zapewnia najwyższą dzienną wydajność mleczną i całkowitą produktywność w czasie użytkowania krowy oraz zwiększa liczbę potomstwa. Aby utrzymać ten okres na poziomie 12—13 miesięcy, krowa musi zostać zacielona w czasie 85—115 dni po porodzie. Czas

Badania przeprowadzono na 68 jałówkach i krowach rasy nob w różnym wieku, pochodzących z gospodarstw indywidualnych z terenu środkowo-zachodniego województwa ostrołęckiego, leczonych w Lecznicy Specjalistycznej w Makowie Mazowieckim w okresie od stycznia do grudnia 1989 r. W zależności od sposobu terapii zwierzęta przydzielono do jednej z czterech grup. Pierwsza grupa liczyła