

ANDRZEJ DUBIEL, IRENEUSZ DYNAROWICZ, JERZY MONKIEWICZ

Stężenie soli metali ciężkich w ejakulatach knurów po odcięciu dopływu wydzieliny jąder i najądrzy oraz dodatkowych gruczołów płciowych *)

Z Kliniki Położniczej Instytutu Patologii i Terapii Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego AR we Wrocławiu

Udział wydzieliny dodatkowych gruczołów płciowych w składzie ejakulatu knura oraz skład chemiczny osocza nasienia był tematem badań wielu autorów, posługujących się różnymi metodami (1, 2, 4, 8). Natomiast brak jest danych w dostępnym piśmiennictwie światowym, dotyczących poziomu metali ciężkich (szczególnie Cu i Pb) w wydzielinie z poszczególnych odcinków układu płciowego knura, co było przedmiotem własnych obserwacji, przedstawionych poniżej.

Materiał i metody

Obserwacje przeprowadzono na 6 knurach, rasy wielkiej białej ostrouchej, w wieku 10—12 miesięcy, o wadze 100—120 kg. Przed zabiegami operacyjnymi, od każdego samca pobrano i przebadano po 5 ejakulatów uzyskanych metodą „manualną” w odstępach 48—72 godzin.

W drugim etapie badań wszystkie knury (6 sztuk) poddano kolejno następującym zabiegom operacyjnym: przecinano i podwiązywano nasieniowody, usuwano gruczoły opuszkowo-cewkowe, gruczoły pęcherzykowe i kastrowano. Przy każdym zabiegu operacyjnym stosowano znieczulenie nadosłonkowe, które po 15 minutach pogłębiane snem podstawowym przy użyciu 8—12 ml narkobarbitalu (Eunarcon). Jako środek znieczulający używano 2% *Polocainum hydrochloricum* 18—22 ml.

W pierwszej fazie zabiegów operacyjnych podwiązywano i przecinano wypreparowane nasieniowody tuż przy ogonach najądrzy, wyłączając w ten sposób udział wydzieliny jąder i najądrzy ze składu ejakulatów. Pierwszy ejakulat pobierano w 2 tygodnie po zabiegu operacyjnym.

Drugi etap operacji chirurgicznych, polegający na usuwaniu gruczołów opuszkowo-cewkowych, przeprowadzono 27—53 dni po pierwszym. Obserwację tę uzależniano od pojawienia się azoospermii, co świadczyło o prawidłowo przeprowadzonym zabiegu przecięcia nasieniowodów. Już po 7 dniach pobierano pierwszy ejakulat.

W trzecim etapie usuwano gruczoły pęcherzykowe drogą laparotomii i jednocześnie przecinano nasieniowody obok cewki moczowej, wyłączając w ten sposób ich wydzielinę ze składu ejakulatu (operację przeprowadzano w 14—28 dni po usunięciu gruczołów opuszkowo-cewkowych). Po upływie dwóch, trzech tygodni knury wykazywały prawidłowy popęd płciowy i oddawały nasienie. Ostatnim etapem zabiegów była kastracja. Po każdym zabiegu pobierano od 4—28 ejakulatów w odstępach 48—72 godzin.

Uzyskane ejakulatory w poszczególnych etapach doświadczenia poddano następującym badaniom: ocena

wstępna, koncentracja i morfologia plemników oraz badania biochemiczne. Materiał do badań biochemicznych, z wyjątkiem próbek frakcji płynnej nasienia, uzyskiwano po odwirowaniu świeżych próbek ejakulatu ($G = 1200$). Próbki ampułkowano i natychmiast zamrażano w temp. -20°C . Po rozmrożeniu oznaczano metale ciężkie (Cu, Pb, Zn) metodą polarograficzną (5).

Przeprowadzono obliczenia statystyczne nad istotnością różnic między średnimi dotyczącymi wybranych parametrów w poszczególnych etapach doświadczenia. Dla określenia istotności różnic użyto testu t-Studenta $\alpha = 0,05$.

Tab. 1. Parametry nasienia knurów przed zabiegami operacyjnymi

Ilość knurów	6
Ilość ejakulatów	30
Objętość płynnej frakcji	55 ml—175 ml, średnio 122 ml
Barwa	biało-szara 36%, szaro-biała 52%, szara 12%
Konsystencja płynnej frakcji	wodnisto-słuzowa
Procent plemników o ruchu prawidłowym skala 1:5	4—48%, 3—52%
Koncentracja tys/mm ³	60—425, średnio 189
Koncentracja w całym ejakulacie	6—29,75 miliarda, średnio 23,058 miliarda
pH	7,5—7,95, średnio 7,73
Pierwotne zmiany plemników	0,8%—3%, średnio 1,71%
Wtórne zmiany plemników	3,8—24,6%, średnio 11,09%

Wyniki i omówienie

Parametry nasienia 6 knurów przed zabiegami operacyjnymi przedstawiono w tab. 1. Tab. 2 przedstawia wyniki dotyczące badania biochemicznego płynnej frakcji ejakulatów knurów w poszczególnych etapach doświadczenia. Charakterystyczną cechą płynnej frakcji nasienia jest wysoki poziom cynku w porównaniu z miedzią i ołowiem. Stężenie cynku w nasieniu knurów wykazuje jednak znaczne wahania.

W przeciwieństwie do cynku (tab. 2), miedź i ołów wykazują mniejsze różnice stężenia u poszczególnych zwierząt (miedź 0,487—0,800, ołów 0,506—0,876 ppm).

Dane dotyczące zawartości badanych pierwiastków w osoczu knura ujęto również w tab. 2. Średnie stężenia cynku, miedzi i ołowiu były

*) Praca wykonana w ramach realizacji problemu MR.II.10. — Temat: „Badania nad właściwościami układu płciowego i ejakulatów knurów”.

bardzo zbliżone do stężenia tych elementów w płynnej frakcji nasienia (nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic między średnimi). Po wyłączeniu z ejakulatu wydzieliny jąder i najądrzy zanotowano w nim znaczne zmniejszenie stężenia miedzi (o 43%), ołowiu (o 23%) i cynku (o 10%). Różnice między średnimi stężeniami przed zabiegiem i po zabiegu okazały się statystycznie istotne.

Tab. 2. Analiza chemiczna płynnej frakcji ejakulatów knurów przed i po zabiegach operacyjnych na układzie płciowym w ppm

Pierwiastek	Cynk	Miedź	Ołów
	rozstęp średnia	rozstęp średnia	rozstęp średnia
Nasienie	11,038-31,020 19,995	0,487-0,800 0,606	0,506-0,876 0,661
Plazma nasienia	13,383-32,740 20,931	0,346-0,779 0,548	0,395-0,811 0,775
Przecięcie nasieniowodów tuż przy najądrzach	10,328-25,078 18,080	0,151-0,511 0,349	0,261-0,635 0,510
Usunięcie gruczołów opuszkowo-cewkowych	19,709-32,328 26,833	0,325-0,938 0,687	0,717-0,789 0,751
Usunięcie gruczołów pęcherzykowych i nasieniowodów	2,953-3,470 3,212	0,307-0,900 0,473	0,512-1,043 0,653
Kastracja	1,950-5,969 3,942	0,232-0,320 0,270	0,234-0,738 0,444

Usunięcie gruczołów opuszkowo-cewkowych spowodowało wzrost badanych elementów w ejakulatach knurów, szczególnie w porównaniu z ejakulatami serii poprzedniej — wolnymi od wydzieliny jąder i najądrzy. W szczególności zawartość miedzi wzrosła o 96%, oraz cynku i ołowiu o 48%. Również w tym przypadku różnice między średnimi okazały się statystycznie istotne.

Wyeliminowanie z ejakulatu wydzieliny nasieniowodów i gruczołów pęcherzykowych prowadziło do dramatycznego spadku stężenia cynku w ejakulatach z 20,0 do 3,2 ppm. Stężenie ołowiu i miedzi było wprawdzie niższe niż w ejakulatach pozbawionych wydzieliny jąder i gruczołów opuszkowo-cewkowych, ale różniło się nieznacznie od stężenia obu pierwiastków w płynnej frakcji nasienia. Przeprowadzona na końcu doświadczenia kastracja nie miała już wpływu na stężenie cynku, które pozostało na poziomie poprzednim, natomiast doprowadziła do obniżenia stężenia miedzi do 2/5 oraz ołowiu do 2/3 stężenia wyjściowego.

W porównaniu z innymi płynami ustrojowymi nasienie knura wykazuje wysokie stężenie cynku (19,995 ppm). Wiadomości dotyczące koncentracji cynku w pełnym nasieniu knura są bardzo skromne w dostępnej literaturze światowej. Jedynie Westmoreland i wsp. (9) wykazali średnio 3,18% mg% tego pierwiastka z wahaniami 0,78—7,8 mg%, co pokrywa się z wynikami wcześniej przeprowadzonych badań własnych przy pomocy metody spektrofotometrii atomowo-absorpcyjnej (4).

Niewiele jest także informacji na temat poziomu cynku w osoczu nasienia knura. Bour-snell i wsp. (3) podają 2,27 mg% tego pierwiastka, co jest zgodne z poprzednio przeprowadzonymi badaniami własnymi (2,5 mg%) i obecnymi obserwacjami (średnio 20,931 ppm). Wydaje się, że poza różnicami rasowymi duży wpływ na ilość cynku w nasieniu czy osoczu nasienia knura mogą mieć właściwości indywidualne poszczególnych zwierząt. Przemawiają za tym różnice w ilości cynku w nasieniu knurów użytych do poszczególnych doświadczeń (w obecnych obserwacjach 6 sztuk, w poprzednich 14 sztuk) (4). Funkcja i postać cynku, w jakiej występuje w osoczu nasienia, nie zostały dokładnie poznane. Interpretacja naszych spostrzeżeń dotyczących stężenia miedzi i ołowiu w nasieniu jest bardzo trudna; są to pierwsze próby oznaczenia tych pierwiastków w ejakulatach knurów.

Obniżenie się poziomu cynku, miedzi i ołowiu w ejakulatach po wyłączeniu z nich wydzieliny jąder i najądrzy, jest zrozumiałe po uwzględnieniu naszych poprzednich badań (4). Wykazały one, że wprawdzie płyn jądrowno-najądrzowy stanowi średnio tylko 10,3% objętości ejakulatu, ale jest bogaty w azot, fosfor i cynk. Przedstawione dane różnią się od spostrzeżeń McKenziego i wsp. (7), którzy uważają, że wydzielina jąder czy najądrzy z powodu małej objętości w nieznacznym stopniu wpływa na skład ejakulatu.

Po usunięciu gruczołów opuszkowo-cewkowych stężenie cynku, miedzi i ołowiu wyraźnie wzrasta w konfrontacji z odpowiednim ich poziomem w ejakulatach po usunięciu wydzieliny jąder i najądrzy. Wzrost stężenia tych pierwiastków należy tłumaczyć tym, że frakcja galaretowata ejakulatów knurów jest produkowana nie tylko przez gruczoły opuszkowo-cewkowe, ale również jest wytworem gruczołów pęcherzykowych, które łącznie z nasieniowodami są głównym źródłem cynku dla osocza nasienia (4). Decydują one o stężeniu ołowiu, w mniejszym stopniu miedzi w ejakulatach tych zwierząt.

Zwraca uwagę wyraźna korelacja między cynkiem, miedzią i ołowiem w ejakulatach przed zabiegami operacyjnymi i po zabiegach. Wydzielina dodatkowych gruczołów płciowych wspólnie z innymi płynami ustrojowymi zawiera substancje organiczne, które wiążą cynk i inne metale (6). Do tych substancji zalicza-

my aminokwasy, peptydy, białka itp. Zgodnie z badaniami własnymi (4), poziom cynku wzrasta wraz z udziałem białek w składzie ejakulatu. Średni poziom białka całkowitego w osoczu nasienia wynosi 1,9 g%. Po usunięciu wydzieliny jąder i najądrzy ze składu ejakulatu ilość białek wraz z cynkiem spada do 1,41 g%. Najwyższą zawartość białka wykazano w wydzielinie gruczołów pęcherzykowych (około 10 g%), z czym wiąże się wysokie stężenie wymienionego pierwiastka w wydzielinie tej części układu płciowego. Po usunięciu gruczołów pęcherzykowych i wydzieliny nasieniowodów koncentracja białka całkowitego spada do 0,17 g% (4).

W oparciu o otrzymane wyniki badań należy stwierdzić, że fizjologiczne i biochemiczne mechanizmy działające wewnątrz układu płciowego odgrywają bardzo ważną rolę w produkcji pełnowartościowego ejakulatu. Poziom metali ciężkich w nasieniu szczególnie cynku, związany z substancjami o wysokiej stabilności może być wykładnikiem sprawności układów kontrolujących koncentrację tych związków chemicznych.

Wnioski

1. Charakterystyczną cechą płynnej frakcji nasienia jest wysoki poziom cynku (średnio

19,995 ppm) w porównaniu z miedzią, (średnio 0,606 ppm) i ołowiem (średnio 0,661 ppm).

2. Wydzielina gruczołów pęcherzykowych i nasieniowodów knura jest głównym źródłem cynku w osoczu nasienia tych zwierząt. Znaczny wpływ na poziom opisanego pierwiastka ma wydzielina jąder i najądrzy.

3. Zawartość miedzi i ołowiu w ejakulatach knurów jest związana z wydzieliną jąder, najądrzy, gruczołów pęcherzykowych, nasieniowodów oraz prostaty i gruczołów cewki moczowej.

Piśmiennictwo

1. Bournsnel J. C., Coombs R. R. A.: J. Reprod. Fert. 11, 139, 1966.
2. Bournsnel J. C., Briggs P. A., Cole D. M.: J. Reprod. Fert. 16, 457, 1968.
3. Bournsnel J. C., Baronos S., Briggs P. A., Butler E. J.: J. Reprod. Fert. 29, 215, 1972.
4. Dubiel A.: Zeszyty Nauk. AR Wrocław Rozprawy 4, 3, 1977.
5. Dynarowicz I., Mikolajczak B.: Zeszyty Nauk. AR Wrocław, Weterynaria 33, 149, 1975.
6. Mann T.: Biochemia nasienia PWRIL, 1958.
7. McKenzie F. F., Miller J. C., Banquess L. C.: Res. Bull. Mo. Agr. Exp. Sta. 279, 1, 1938.
8. Sokolowska I. I.: Iskustwennoje osemnenije swiniej. Selchozizdat, Moskwa 1962.
9. Westmoreland N., First N. L., Hoekstra W. G.: J. Reprod. Fert. 13, 223, 1967.

Adres autora: dr Andrzej Dubiel, Klinika Położnicza AR, Plac Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław.

ZYGMUNT PEJSAK

Zastosowanie metody biopsji pochwy w diagnostyce wczesnej ciąży u świń *)

Z Zakładu Fizjologii Rozrodu i Sztucznego Unasieniania Instytutu Zootechniki w Balicach k/Krakowa

Intensywny wzrost produkcji trzody chlewnej, opierający się między innymi na maksymalnym wykorzystaniu zdolności produkcyjnych macior, stwarza konieczność wprowadzenia do praktyki metody rozpoznawania wczesnej ciąży. Sprawa ta jest szczególnie istotna w warunkach ferm przemysłowych, w których rozpoznawanie ciąży oparte jedynie na stwierdzeniu niepowtarzalności objawów rui, staje się absolutnie niewystarczające. Wdrożenie do praktyki metody diagnostyki ciąży pozwoli na wczesną ocenę skuteczności unasieniania, da możliwość tworzenia właściwych, złożonych tylko ze sztuk próśnych grup technologicznych. Stworzy to także możliwość eliminacji ze stada sztuk niepróśnych, co pozwoli na lepsze wykorzystanie zapasów paszowych i potencjału stanowiskowego.

Spośród znanych metod diagnostyki ciąży u świń na uwagę zasługują te, które charakteryzują się odpowiednią skutecznością, małą pra-

cochłonnością oraz prostotą wykonania, a tym samym mogą być wprowadzone do rutynowej praktyki. Wymaganiom tym wydaje się odpowiadać metoda biopsji pochwy, której przydatność we wczesnym rozpoznawaniu ciąży potwierdziło już wielu autorów (2, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 13, 15, 16, 18, 21, 22).

Pierwszy Wilson (1926) (cyt. za 15) stwierdził zależność między zmianami w strukturze nabłonka błony śluzowej pochwy a fazą cyklu płciowego. Stwierdził on, że w okresie rui nabłonek błony śluzowej pochwy złożony jest z 13—16 warstw komórek, podczas gdy w *dioestrus* składa się tylko z 4—5 warstw. Próby mające na celu praktyczne wykorzystanie tej metody podjęli w 1955 r. Ciurra i wsp. (4). Autorzy ci stwierdzili, że już od 14 dnia po skutecznym pokryciu ilość warstw komórek nabłonka błony śluzowej pochwy redukuje się do 2—3. Większość autorów (2, 4, 7, 11, 16, 20) zajmujących się tym zagadnieniem uznaje różnice w ilości warstw nabłonka błony śluzowej pochwy u sztuk próśnych i niepróśnych za za-

* Praca została wykonana w ramach problemu 132 E koodynowanego przez Instytut Zootechniki w Krakowie.