

ANDRZEJ DUBIEL, JACEK KRÓLIŃSKI, CZESŁAWA KARPIAK

## Aktywność GGTP, FZ i AspAT w ejakulatach królików przed i po wyłączeniu wydzielin jąder, najądrzy i nasieniowodów<sup>\*</sup>

Klinika Położnicza Instytutu Patologii i Terapii Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego AR,  
Pl. Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław

Charakterystyczną cechą hodowli królików jest szybka rotacja materiału hodowlanego i rzeźnego, wynikająca z wczesnego osiągnięcia przez te zwierzęta dojrzałości płciowej oraz wysokiej płodności i plemności. Rośnie zatem zainteresowanie hodowlą tych zwierząt, a szczególnie synchronizacją owulacji i sztucznym unasieniem (3, 5, 7, 8, 9). Synchronizacja owulacji i konserwacja nasienia królików w niskich temperaturach mają na celu zwiększenie płodności samic, produkcji brojlerów oraz zapewnienie importu czy eksportu nasienia cennych ras.

Ocena przydatności nasienia do celów konserwacji unasiemienia opiera się przede wszystkim na wynikach rutynowego badania ejakulatów. W zaburzeniach układu płciowego przeprowadza się także uzupełniające badania bakteriologiczne, biochemiczne itp. Ustalenie stosunków dotyczących niektórych hormonów w organizmie samców płodnych i z zaburzeniami płodności oraz ich wpływ na narząd płciowy, jak również składu biochemicznego wydzielin różnych odcinków układu płciowego mogłoby zmienić zapatrywania na przydatność królika do celów sztucznego unasiemienia.

Wcześniej przeprowadzone badania w ośrodku wrocławskim wykazały wysoki poziom aktywności gamma-glutamylotranspeptydazy (GGTP) i fosfatazy zasadowej (FZ) w nasieniu rasowych królików (8).

Celem obecnych badań było określenie aktywności GGTP, AspAT (aminotransferazy asparaginianowej) i FZ w ejakulatach tych samców przed i po wyłączeniu wydzieliny jąder, najądrzy i nasieniowodów.

### Materiał i metody

Badania przeprowadzono na ejakulatach 13 królików rasy czarny podpalany (7 sztuk), srokacz niemiecki (4 sztuki), wiedeński niebieski i czerwony nowozelandzki, w wieku 1—2 lat, o wadze 2—7 kg. Ejakulatory pobierano 1—2 razy tygodniowo, a następnie przeprowadzano ocenę wstępną nasienia, polegającą na określeniu jego objętości, barwy, konsystencji, pH, odsetka plemników o ruchu prawidłowym oraz ich morfologii i koncentracji. Materiał do badań biochemicznych stanowiły świeże ejakulatory pobrane przy pomocy sztucznej pochwy. GGTP oznaczano metodą Szewczuka-Orłowskiego, FZ sposobem Bodańskiego, a AspAT metodą Reitmana i Fränkela. Łącznie przebadano 70 ejakulatów. W drugim etapie pracy zwierzęta podzielono na dwie grupy. Króliki pierwszej

grupy (8 sztuk) poddano kolejno następującym zabiegom operacyjnym: przecinano i podwiązywano głowę najądrzy tuż przy jądrach, wypreparowywano i przecinano nasieniowody w sąsiedztwie ogonów najądrzy i w pobliżu cewki moczowej. Zabiegi wykonywano w znieczuleniu miejscowym stosując dodatkowo premedykację z użyciem preparatu Combelen firmy Bayer, w dawce 1 ml podanej dożylnie.

Przecięcie i podwiązanie głowy najądrzy spowodowało wyłączenie wydzieliny jąder ze składu ejakulatów. Drugi i trzeci etap postępowania, polegającego na przecięciu i podwiązaniu nasieniowodów, miał na celu wyeliminowanie wydzieliny najądrzy i nasieniowodów. Zabiegi te przeprowadzono w przedziałach 2 i 3 miesięcy po pierwszym. Pojawienie się azoospermii świadczyło o prawidłowym przecięciu głów najądrzy i wyłączeniu wydzieliny jąder z ejakulatów.

Przed i po 7 dniach od zabiegu operacyjnego od każdego samca pobrano po 5 ejakulatów w odstępach 3—7 dni i poddano ocenie wstępnej, badaniem uzupełniającym, w tym biochemicznym (GGTP, FZ, AspAT). Pozostałych 5 królików (3 srokacze niemieckie, niebieski wiedeński i czerwony nowozelandzki) stanowiły grupę kontrolną.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej ustalając istotność różnic między średnimi wartościami wybranych wskaźników nasienia w poszczególnych etapach doświadczenia. Porównanie średnich przeprowadzono w oparciu o test t-Studenta na poziomie istotności  $\alpha=0,05$ .

### Wyniki i omówienie

Objętość ejakulatów królików przed i po zabiegach operacyjnych na układzie płciowym przedstawiono w tab. 1. Właściwości nasienia badanych 13 królików przed zabiegami operacyjnymi nie odbiegają od norm ustalonych dla tych ras gryzoni we wcześniej prowadzonych obserwacjach własnych (8). Wyłączenie wydzieliny jąder, najądrzy i nasieniowodów nie powodowało zasadniczych zmian w objętości ejakulatów (tab. 1). Otrzymane wyniki, dotyczące objętości ejakulatów przed i po zabiegach operacyjnych nie nadają się do obliczeń statystycznych ze względu na duże odchylenia standardowe, przekraczające wartości średnie. Azoospermia pojawiła się średnio 38 dni po podwiązaniu i przecięciu głowy najądrzy tuż przy jądrach, z wahaniami 27—62 dni.

W porównaniu z aktywnością AspAT, charakterystyczną cechą ejakulatów królików (przed zabiegami operacyjnymi) była bardzo wysoka aktywność gamma-glutamylotranspeptydazy w granicach 2470—51 912 j.m., średnio 21 817 oraz fosfatazy zasadowej z wahaniami 1337—14 712 j.m., średnio 5489. Poziom AspAT kształtował się w granicach 12,05—248,95 j.m., średnio 95,73. Zaznaczyła się du-

<sup>\*</sup> Praca wykonana w ramach problemu MR II 10, koordynowanego przez Instytut Patologii i Terapii Zwierząt AR we Wrocławiu.

Tab. 1. Średnia objętość ejakulatów i aktywność enzymów w nasieniu 8 królików przed i po zabiegach operacyjnych na układzie płciowym (objętość w ml, aktywność w j.m./100 ml)

Rodzaj ejakulatu	Ilość oznaczeń	Objętość	GGTP	AspAT	FZ
Ejakulat przed zabiegiem	40	0,51±0,81	22131±12006	92,19±61,25	4456±2773
Po przecięciu głowy najądrzy tuż przy jądrach	40	0,65±0,72	13063± 8037	50,16±46,85	2016±2020
Po przecięciu nasieniowodów przy najądrzach	40	0,58±0,60	8752± 5239	33,33±33,77	568± 973
Po wyłączeniu wydzieliny nasieniowodów	40	0,50±0,55	10239± 6753	12,58±17,18	408± 808

za zmienność otrzymywanych wyników dla GGTP, FZ i AspAT nasienia królików. Różnice te występowały nie tylko pomiędzy ejakulatami poszczególnych osobników, ale także dotyczyły nasienia pobranego w odstępach 3—7 dni od tego samego zwierzęcia (tab. 1).

Wystąpiła także wyraźna zmiana w aktywności wymienionych 3 enzymów w ejakulatach 8 królików po wyłączeniu wydzieliny jąder (wykazano istotne różnice statystyczne między średnimi przed i po zabiegach operacyjnych). Poziom GGTP, AspAT i FZ po przecięciu i podwiązaniu głów najądrzy tuż przy jądrach spadał odpowiednio o 41, 46 i 56% w porównaniu z aktywnością przed zabiegiem operacyjnym (tab. 1). Przecięcie najądrzy tuż przy nasieniowodach z wyłączeniem wydzieliny najądrzy powodowało dalszy spadek aktywności enzymów, szczególnie AspAT i FZ do wartości zerowych, lub na pograniczu wykrywalności. Aktywność GGTP obniżała się o 33% w porównaniu z serią poprzednią, AspAT o 34%, a FZ aż o 72%. Należy przyjąć, że głównym źródłem badanych enzymów w ejakulatach królika jest wydzielina jąder i najądrzy. Wyłączenie nasieniowodów powoduje jedynie wyraźne obniżenie aktywności AspAT. Powyższe wyniki badań należy ocenić ostrożnie, ponieważ opracowywano je na małym materiale doświadczalnym, gdzie każde dodatkowe oznaczenie może zmienić układ tabeli. W grupie kontrolnej (5 królików) nie obserwowano uchwytanych zmian aktywności enzymów w przebiegu doświadczenia. Dane dotyczące aktywności przedstawionych enzymów w poszczególnych etapach doświadczenia nie nadają się do obliczeń statystycznych ze względu na duże odchylenia standardowe, przekraczające wartości średnie (tab. 1).

Badania własne wykazały, że zasadniczy wpływ na objętość ejakulatów królików ma wydzielina dodatkowych gruczołów płciowych i pozostałych odcinków dróg wyprowadzających układu płciowego, a nie płyn wywodzący się z jąder, najądrzy i nasieniowodów. Udowodniono także, że azoospermia pojawia się dopiero średnio po 38 dniach od podwiązania i przecięcia głowy najądrzy tuż przy jądrach. Podobne obserwacje przeprowadzono na 12-miesięcznych knurach, u których azoospermia pojawiła się w przedziale 28—46 dni po opisanym zabiegu (10). Należy zaznaczyć,

że samce mogą zachować zdolność ejakulacji płodnego nasienia do 4 tygodni po kastracji. Ogier jest zdolny ejakulować płodne nasienie przez 3 tygodnie, a człowiek przez 6 tygodni po kastracji (12). Plemniki w najądrzach u kastrowanych szczurów i świnek morskich mogą utrzymać zdolność zapłodnienia przez wiele miesięcy, jeśli podaje się im nieprzerwanie zastrzyki androgenu (12).

Spośród badanych wskaźników nasienia królików na szczególną uwagę zasługuje wysoka aktywność GGTP (średnio 22 131 j.m.). Jest ona wyższa od średniej aktywności w płazmie nasienia innych zwierząt domowych. Aktywność GGTP w nasieniu knura wynosi średnio 2058 j.m./100 ml (10), buhaja 234—781 j.m./100 ml (14), natomiast psa 1144 j.m./100 ml (4). Wyłączenie wydzieliny jąder i najądrzy z ejakulatów królików powoduje spadek aktywności opisanego enzymu o około 60% (do wartości średnio 8752 j.m. w 100 ml). Z badań własnych wynika, że głównym źródłem GGTP jest wydzielina wyłączonych odcinków narządu płciowego. Pozostałe części układu płciowego tego samca w mniejszym stopniu wpływają na aktywność GGTP. Dane te zasadniczo różnią się od obserwacji przeprowadzonych na knurach, u których głównym źródłem GGTP w płazmie ejakulatów jest wydzielina najądrzy (10).

Z przeglądu dotychczasowego piśmiennictwa wynika, że wydzieliny pochodzące z gruczołów pęcherzykowych i prostaty są podstawowym źródłem fosfataz w nasieniu różnych zwierząt (1, 11). Źródłem fosfataz są nie tylko wymienione gruczoły płciowe, ale także pozostałe części układu płciowego samców zwierząt domowych (2, 13). Otrzymane wyniki badań potwierdzone wcześniej (6, 8, 10) udowodniły, że podstawowym źródłem fosfataz w nasieniu królików i knurów jest wydzielina jąder i najądrzy, a nie wydzielina dodatkowych gruczołów płciowych. Okazało się, że aktywność fosfataz jest o wiele większa w płazmie nasienia aniżeli w plemnikach, co ponownie zostało sprawdzone na ejakulatach królików. Nasienie królików czarnych podpalanych i czerwonych nowozelandzkich o niskiej koncentracji plemników posiada o wiele wyższą aktywność FZ niż ejakulatory samców srokaczy i białych nowozelandzkich o wysokiej koncentracji plemników (8).

Nie podjęto dyskusji na temat aktywności AspAT w nasieniu królików, ponieważ są to

pierwsze próby określenia aktywności tego enzymu w opisanym materiale badawczym. W oparciu o spostrzeżenia własne i konfrontację z wynikami badań cytowanych autorów należy przyjąć, że poszczególne wydzieliny odcinków układu płciowego królika w różnym stopniu odpowiadają za aktywność GGTP, FZ i AspAT w ejakulatach tych samców.

### Wnioski

1. Wydzielina jąder, najądrzy i nasieniowców królika nie wpływa zasadniczo na objętość ejakulatów tych zwierząt.
2. Azoospermia pojawia się średnio 38 dni po przecięciu i podwiązaniu głowy najądrzy tuż przy jądrach.
3. W porównaniu z AspAT charakterystyczną cechą ejakulatów królików jest bardzo wysoka aktywność GGTP, średnio 21 812 j.m. w 100 ml oraz FZ, średnio 5489 j.m./100 ml. Poziom AspAT kształtuje się średnio 95,73 j.m./100 ml.
4. Głównym źródłem aktywności GGTP, FZ i AspAT w ejakulatach królików jest wydzielina jąder i najądrzy.

### Piśmiennictwo

1. Bell D. J., Lake P. E.: *Biochem. J.* 82, 277, 1962.
2. Bern H. A.: *Anat. Rec.* 104, 361, 1949.
3. Dubiel A.: *Medycyna Wet.* 29, 624, 1973.
4. Dubiel A.: *Medycyna Wet.* 29, 679, 1973.
5. Dubiel A.: *Pol. Arch. wet.* 17, 707, 1975.
6. Dubiel A.: *Zesz. Nauk. AR Wrocław, Rozprawy* 4, 2, 1977.
7. Dubiel A., Króliński J.: *Hod. drobn. inw.* 26, 14, 1978.
8. Dubiel A., Króliński J., Karpiak Cz.: *Medycyna Wet.* 35, 175, 1979.
9. Dubiel A., Rokicki Cz., Samborski Z.: *Medycyna Wet.* 36, 409, 1980.
10. Dubiel A., Karpiak Cz., Króliński J.: *Mat. IX Międzynarod. Kongresu Rozrodu i Sztucznego Unasienniania w Madrycie* 3, 268, 1980.
11. Kutscher W., Walbergs H.: *Z. Physiol. Chem.* 236, 237, 1935.
12. Nalbandov A. V.: *Fizjologia rozrodu*, PWN, 1966, 206.
13. Rollinson D. H. L.: *J. agric. Sci.* 45, 173, 1954.
14. Senze A., Dubiel A., Elezov G., Karpiak Cz., Samborski Z.: *Zesz. nauk. AR Wrocław, Weterynaria* 27, 181, 1972.

Adres autora: doc. dr hab. Andrzej Dubiel, Pl. Grunwaldzki 49, 50-376 Wrocław.

Дубель А., Крулиньский Я., Карпак Ч. — Активность GGTP, FZ и AspAT в эякулятах кроликов до и после выключения секретов семенников, придатков семенников и семеноводов

Цель исследований состояла в определении активности GGTP, FZ и AspAT в эякулятах кроликов до и после выключения секретов семенников, придатков семенников и семеноводов. Животных 1 группы (8 голов) подвергли поочередно следующим операциям: разрежали и подвязывали головки придатков семенников при семенниках, разрежали семеноводы по соседству с хвостами придатков семенников и вблизи мочеиспускательного канала. Отдельные операции имели целью поочередное выключение секретов семенников, придатков семенников и семеноводов из эякулятов. Остальные 5 кроликов составляли контрольную группу. Наблюдения показали, что секрет семенников, придатков семенников и семеноводов не влияет существенно на объем эякулятов этих животных. Азооспермия появилась в среднем через 38 дней после разрезки и подвязывания головки придатков семенников. По сравнению с AspAT характеристической чертой эякулятов кроликов является высокая активность GGTP, в среднем 21 812 м.е. в 100 мл, а также FZ

в среднем 5489/100 мл. Уровень AspAT составляет в среднем 95,73 м.е./100 мл. Главным источником активности GGTP, FZ и AspAT в эякулятах кроликов является секрет семенников и придатков семенников.

Dubiel A., Króliński J., Karpiak Cz. — *Activity of GGTP, FZ and AspAT in ejaculates of rabbits before and after elimination of testes, epididymis and vas deferens secretions*

The purpose of the studies was to establish the activity of GGTP, FZ and AspAT in ejaculates of rabbits before and after elimination of testes, epididymis and vas deferens secretions. In animals of the 1st group (8 rabbits) were performed consecutively the following surgical manipulations: cutting and ligation of the caput epididymis close to the testes, cutting of vas deferens in the vicinity of the cauda epididymis and in the vicinity of the urethra. The aim of the above manipulations was a consecutive elimination of the secretion of testes, epididymis and vas deferens from ejaculates. Five normal rabbits served as a control. The observations revealed that the secretions of testes, epididymis and vas deferens did not influence virtually the volume of ejaculates. Azoospermia appeared an average after 28 days since cutting and ligation of the caput of epididymis. In comparison with the activity of AspAT characteristic feature of ejaculates is a high activity of GGTP (mean value = 21 812 iu/ml) and FZ (mean value = 5489 iu/100 ml). Mean level of AspAT was 95.73 iu/100 ml. Secretion of the testes and epididymis was a main source of the activity of GGTP, FZ and AspAT.

BERRY C. L., HENRICHS K. J.: *Badanie morfometryczne hipertrofii tętnic u szczurów z nadciśnieniem indukowanym DOCA. (Morphometric investigation of hypertrophy in the arteries of DOCA-hypertensive rats)*. *J. Pathol.* 136, 85—94, 1982 (2).

U nefrektomizowanych szczurów z nadciśnieniem indukowanym DOCA (octan dezoksykortykosteronu), wystąpienie nadciśnienia było następstwem przerostu warstwy środkowej tętnic i tzw. skurczu ściany tętnic w następstwie zmienionej reaktywności mięśniówki ściany tętnic. Zmiany te były najsilniej zaznaczone w tętnicach obwodowych. Aorta w odcinku piersiowym była jedynie zmieniona w nieznacznym stopniu. U szczurów z nadciśnieniem względna zawartość kolagenu wynosiła w tętnicach nerkowych 53 ± 5%, kontrola 55,6%, w odcinku piersiowym aorty 43 ± 8%, kontrola 32 ± 3%. Nie występowały różnice w zawartości elastyny w odcinku tułowiowym aorty oraz w tętnicach nerkowych zdrowych szczurów i szczurów z nadciśnieniem.

G.

CONTRERAS P. A., MANSTON R., SANSOM B. F.: *Uczynnienie wapnia u bydła z hypomagneziamią. (Calcium mobilization in hypomagnesaemic cattle)*. *Res. Vet. Sci.* 33, 10—16, 1982 (1).

U krów z normomagneziamią i hypomagneziamią indukowano hypokalcemię podając w iniekcjach dożylnych 4,7% EDTA. Średnie tempo uczynnienia wapnia u jałowic z normomagneziamią wynosiło 0,32 mmol/min., z hypomagneziamią 0,21 mmol/min. U krów wartości te wynosiły odpowiednio 0,41 mmol/min., i 0,26 mmol/min. Uzyskane wyniki potwierdzają hipotezę, że hypomagneziamią u bydła jest następstwem zaburzeń w transporcie wapnia do krwiobiegu.

G.