

Wpływ lipopolisacharydu i fluniksyny na stężenie steroidów płciowych i biochemiczne wskaźniki nasienia ogierów

JANUSZ DANEK

Zakład Chorób Koni Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach, Oddział w Bydgoszczy, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

Danek J.

Effect of lipopolisaccharide and flunixin meglumine administration on the sex steroids and biochemical parameters of stallion semen

Summary

The study was carried out on 16 clinically normal stallions of Polish Primitive Horses in the in the reproductive season (April - July). Four stallions were infused with endotoxin (LPS) from *Escherichia coli* 055:B5 at doses of 0.3 mg/kg b.w. (group ENDO). Twelve stallions were treated with flunixin meglumine (1.1 mg/kg b.w., IV) for 5 min. (group E+FM1, n=4), 30 min. (group E+FM2, n=4), and 60 min. (group E+ FM3, n=4) after the administration of LPS. The study was meant to determine the concentration of testosterone (T), estrone (E_1), estradiol-17 β ($E_2\beta$), total protein (TPR), albumin (ALB), zinc (Zn), cholesterol (CHOL), and aspartate aminotransferase (AST) activity in the seminal plasma of stallions. The administration of endotoxin had an influence on the T, $E_2\beta$, E_1 and TPR, ALB, CHOL concentration, as well as on AST activity in seminal plasma (in the period of the 24h-9th weeks after LPS administration). There has been a statistically significant decrease noted in the T, to 0.18 ng/ml (Δ_T - 21.7%), and an increase in the E_1 to 45.3 pg/ml (Δ_{E_1} - 46.1%), $E_2\beta$, to 92.9 pg/ml, ($\Delta_{E_2\beta}$ - 45.6%), as well as in the: TPR, to 22.3 g/l (Δ_{TP} - 76.9%); ALB, to 1.9 g/l (Δ_{ALB} - 94.0%); CHOL, to 0.52 mmol/l (Δ_{CHOL} - 21.0%), and AST, to 68.1 mU/10⁹pl. (Δ_{AST} -138.4%). The positive effects of treatment with flunixin meglumine were noted on T, $E_2\beta$, ALB and CHOL concentrations in seminal plasma, especially of stallions group E+FM1.

Keywords: stallion, endotoxin, flunixin, sex steroids

U tryków (19, 24) i knurów (23) poddanych wpływowi endotoksyn wykazano endokrynologiczne i seminologiczne zmiany, w tym szczególnie liczne wady morfologiczne plemników, wskazujące na ujemny wpływ endotoksyn na nabłonek plemnikotwórczy oraz na proces dojrzewania plemników w najądrzach. Podanie endotoksyny miało także negatywny wpływ na stężenie hormonów steroidowych (T, $E_2\beta$), makro- i mikroskopowe oraz na liczne biochemiczne wskaźniki jakości nasienia ogierów (5-7). W tym ostatnim przypadku odnotowano szczególnie wyraźny wzrost stężenia albumin oraz aktywności aminotransferazy asparaginianowej w osoczu nasienia ogierów poddanych wpływowi lipopolisacharydu (LPS) *Escherichia coli*.

Megluminian fluniksyny (FM) jest niesteroidowym lekiem przeciwzapalnym, nienarkotycznym lekiem przeciwbólowym, o właściwościach przeciwgorączkowych. FM jest stosowany w praktyce weterynaryjnej w tłumieniu bólu związanego z różnymi przypadłościami mięśniowo-szkieletowymi i morzyskami oraz w zapobieganiu skutkom niekorzystnego wpływu en-

dotoksyn na organizm u koni (1, 3, 16-18). Fluniksyna podawana w pojedynczej dawce (1,1 mg/kg m.c.) nie wpływa ujemnie na stężenie testosteronu i 17 β -estradiolu we krwi ani na morfologię plemników ogiera (8). Badania u knurów (25) dowiodły, że FM obniża poziom 15-ketodihydro-PGF_{2 α} we krwi oraz redukuje infiltrację PMN tkanki śródmiąższowej jąder i morfologiczne zmiany komórek Leydiga, wykazując również modulujący wpływ na stężenie testosteronu we krwi knurów poddanych wpływowi LPS *S. typhimurium*. U ogierów (9) wykazano korzystny wpływ podania FM, szczególnie w czasie 5 min. po podaniu LPS, na jakość nasienia, wyrażający się mniejszym odsetkiem wad morfologicznych plemników w nasieniu w porównaniu do grupy ogierów otrzymującej tylko endotoksynę.

Celem badań było określenie wpływu niesteroidowego leku przeciwzapalnego – megluminianu fluniksyny na zmiany stężenia wybranych hormonów steroidowych oraz biochemicznych parametrów w nasieniu wywołane podaniem endotoksyny u ogierów.

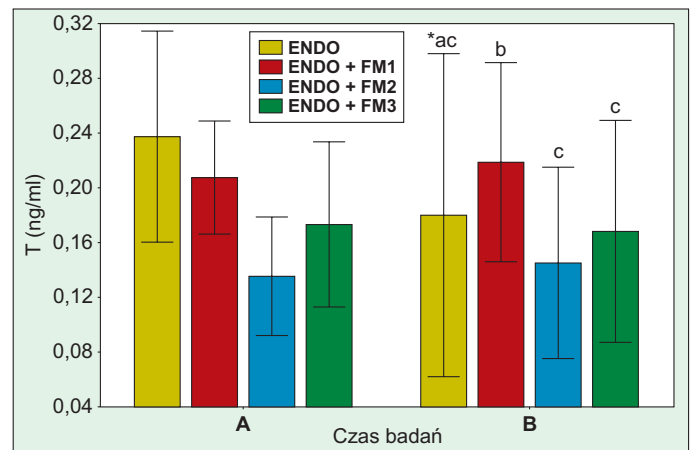
Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 16 klinicznie zdrowych konikach polskich, w sezonie rozrodczym (kwiecień-czerwiec). Ogiery podzielono na cztery grupy: ENDO (4 ogiery w wieku 4-12 lat i masie ciała od 260-400 kg, ENDO + FM1 (4 ogiery w wieku 5-10 lat i wadze ciała 220-380 kg), ENDO + FM2 (4 ogiery w wieku 6-12 lat i masie ciała od 300-420 kg oraz ENDO + FM3 (4 ogiery w wieku 4-13 i wadze ciała 260-380 kg). Ogięrom ENDO podano LPS *Escherichia coli* serotypu 055:B5 (Sigma) w dawce 0,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ m.c. Endotoksynę rozpuszczano w 500 ml apirogenego płynu fizjologicznego (0,9% NaCl, Polfa) i podawano ogierom w wlewie dożylnym. Pozostałe ogiery otrzymywały w ten sam sposób taką samą dawkę endotoksyny oraz niesteroidowy lek przeciwzapalny – megluminian fluniksyny (FM), w dawce 1,1 mg/ kg m.c., w postaci preparatu Finadyne vet. firmy ScanVet., Dania (Flunixin 50 mg/ml). Fluniksynę podawano dożylnie 5 min. (grupa ENDO + FM1), 30 min. (grupa ENDO+FM2) i 60 min. (grupa ENDO + FM3) po wlewie endotoksyny. Nasienie uzyskiwano przy pomocy sztucznej pochwy model Missuori, dwukrotnie w każdym z 4 tygodni badań wstępnych oraz w 72. i 24. godzinie przed rozpoczęciem doświadczenia (średnią oznaczono jako A) następnie w 24. i 72. godzinie oraz dwukrotnie w każdym kolejnym tygodniu doświadczenia począwszy od 1. do 9. tygodnia, po podaniu LPS lub LPS+FM (średnią oznaczono jako B). Osocze nasienia otrzymywano przez wirowanie frakcji właściwej ejakulatu (do badań hormonalnych przy $g = 1000$, a biochemicznych przy $g = 10\ 000$) przez 15 min., następnie zamrażano w temp. -20°C . W osoczu nasienia oznaczano stężenie testosteronu (T), 17β -estradolu (E_2) i estronu (E_1) przy wykorzystaniu metod RIA podanych wcześniej (7, 10). Stężenie albumin (ALB), cynku (Zn) i cholesterolu całkowitego (CHOL) oraz aktywność aminotransferazy aspraginianowej (AST) oznaczano metodami podanymi wcześniej (5, 6, 10).

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu programu Statistica StatSoft. Średnie ($\pm s$) porównywano przy użyciu testu ANOVA Fishera i Kruskala-Wallisa. Różnice uznano za statystycznie istotne przy $p < 0,05$.

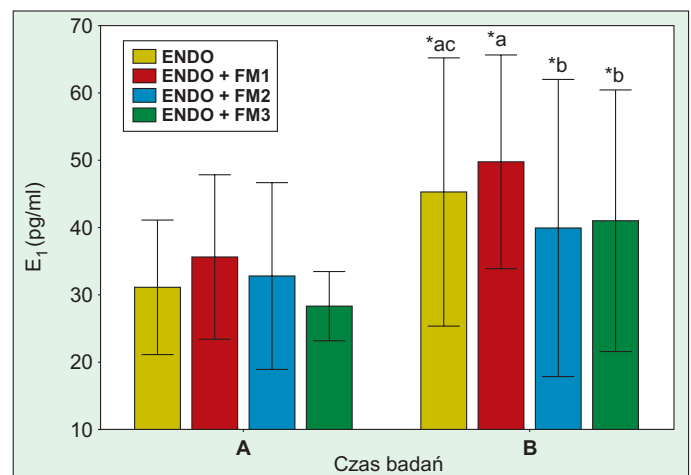
Wyniki i omówienie

Badania hormonalne (ryc. 1-3) wykazały, że w grupie ogierów ENDO, w okresie od 24 h do 9 tyg. po podaniu endotoksyny, miało miejsce statystycznie istotne ($p < 0,05$) obniżenie stężenia testosteronu, do 0,18 ng/ml ($\Delta_T - 21,7\%$) oraz wzrost stężenia estronu do 45,3 pg/ml ($\Delta_{E_1} - 46,1\%$) i 17β -estradolu, do 92,9 pg/ml, ($\Delta_{E_2\beta} - 45,6\%$). W tym samym czasie, odnotowano w grupach ogierów ENDO + FM1-3 (endotoksyna + fluniksyna odpowiednio: w 5 min., 30 min., 60 min. po podaniu LPS) tylko niewielkie i statystycznie nieistotne zmiany stężenia T w osoczu nasienia. W pozostałych grupach ogierów stwierdzono natomiast wzrost stężenia estronu w osoczu nasienia do 49,7 pg/ml, $\Delta_{E_1} - 39,6\%$ (ENDO + FM1), do 40,0 pg/ml, $\Delta_{E_1} - 21,9\%$ (ENDO + FM2) i do 41,0 pg/ml, $\Delta_{E_1} - 44,8\%$ (ENDO + FM3) oraz wzrost stężenia 17β -es-



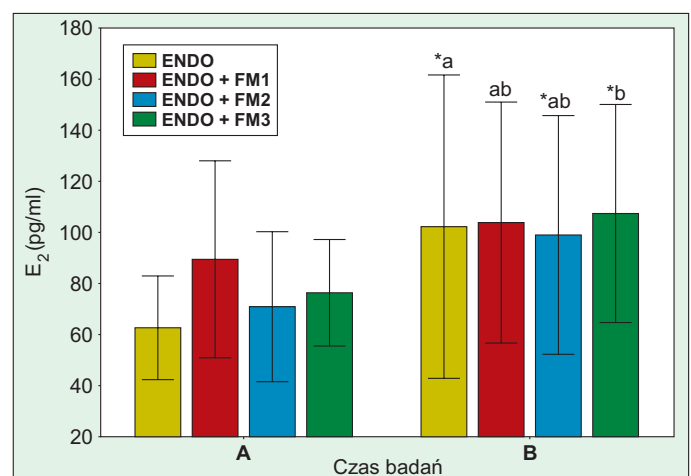
Ryc. 1. Zmiany stężenia testosteronu w osoczu nasienia ogierów po podaniu endotoksyny i fluniksyny

Objaśnienia: * różnice istotne odnośnie do czasu A, a:b:c istotne różnice między grupami, przy $p < 0,05$



Ryc. 2. Zmiany stężenia estronu w osoczu nasienia ogierów po podaniu endotoksyny i fluniksyny

Objaśnienia: * różnice istotne odnośnie do czasu A, a:b istotne różnice między grupami, przy $p < 0,05$



Ryc. 3. Zmiany stężenia 17β -estradolu w osoczu nasienia ogierów po podaniu endotoksyny i fluniksyny

Objaśnienia: jak na ryc. 2.

tradiolu do odpowiednio: 103,0 pg/ml ($\Delta_{E_2\beta} - 15,1\%$), 99,0 pg/ml ($\Delta_{E_2\beta} - 39,6\%$) i 107,4 pg/ml ($\Delta_{E_2\beta} - 40,6\%$).

W osoczu nasienia stwierdza się obecność hormonów steroidowych – androgenów i estrogenów (T, E_1, E_1S, E_2) oraz ich wzajemne zależności i korelacje między poziomem w osoczu nasienia i w płazmie krwi. Szczególnie interesujące są badania wykazujące związek między poziomem steroidów płciowych w nasieniu z patologią. Dotychczas ustalono, że stężenie testosteronu w osoczu nasienia jest niższe u mężczyzn z nienormalnym nasieniem (27). U nieplodnych ludzi odnotowano również wzrost stężenia estradiolu w osoczu nasienia oraz spadek stężenia testosteronu i wartości stosunku testosteron/estradiol (15). Natomiast wysokie stężenie 5 alfa-dihydrotestosteronu i obniżone stężenie estradiolu oraz estronu w płynie prostaty psów z azoospermia, w porównaniu z nasieniem z normospermia i oligozoospermia (14). W badaniach wcześniejszych (7) u ogierów poddanych wpływowi endotoksyny wykazano statystycznie istotny spadek stężenia T w osoczu nasienia w 24 h do 0,08 ng/ml oraz wzrost $E_2\beta$ w czasie między 72 h a 2 tyg. (maksymalny wzrost w 72 h, do 156,4 pg/ml) po podaniu LPS *Escherichia coli* w dawce 0,3 $\mu\text{g/kg}$ m.c. W tych samych badaniach stwierdzono spadek (maksymalny w 6. h) i następujący po tym wzrost (maksymalny w 48. h) stężenia T oraz wzrost (maksymalny w 2. h) i następujący po tym spadek (maksymalny w 6. h) stężenia $E_2\beta$ w surowicy krwi ogierów poddanych wpływowi endotoksyny. Dla porównania, w badaniach z zastosowaniem deksametazonu (stres) wykazano, że po podaniu DEX stężenie testosteronu w osoczu nasienia ogierów było obniżone, natomiast estronu podwyższone, ale tylko w odniesieniu do grupy kontrolnej. U tych samców koncentracja 17β -estradiolu wzrosła statystycznie istotnie (w czasie od 24 h-9 tyg. badań), do 142,0 pg/ml, $\Delta_{E_2\beta} - 59,6\%$ po podaniu DEX (8). W endotoksemii u tryków (24) wykazano tylko spadek stężenia testosteronu w surowicy krwi w czasie między 12-24 h, natomiast u knurów (25) stwierdzono wzrost T w 1-2 h po podaniu LPS *S. typhimurium*. Badania u szczurów (2) udowodniły także zaburzenia w steroidogenezie po podaniu endotoksyny, wyrażające się spadkiem poziomu androgenów (T) i wzrostem estrogenów ($E_1 + E_2$) we krwi.

Analizy biochemiczne (tab. 1) wykazały, że po podaniu endotoksyny w osoczu nasienia ogierów ENDO statystycznie istotnie wzrosło stężenie białka całkowitego do 22,3 g/l ($\Delta_{TPR} - 76,9\%$), albumin do 1,94 g/l ($\Delta_{ALB} - 94,0\%$), cholesterolu do 0,52 mmol/l ($\Delta_{CHOL} - 21,0\%$) oraz aktywności aminotransferazy asparaginianowej do 68,2 mU/10⁹pl ($\Delta_{AST} - 138,4\%$). W przypadku cynku stwierdzono tylko pewne różnice między poszczególnymi grupami ogierów. W tym samym czasie, w grupie ogierów ENDO + FM1 wzrosło stężenie białka całkowitego do 20,5 g/l ($\Delta_{TPR} - 14,5\%$), i aminotransferazy asparaginianowej do 62,5 mU/10⁹pl ($\Delta_{AST} - 62,0\%$). W grupie ogierów ENDO + FM2 miał

Tab. 1. Biochemiczne wskaźniki osocza nasienia ogierów po podaniu endotoksyny i fluniksyny

Wskaźnik	Grupa	Czas badań	
		A (n = 40)	B (n = 80)
TPR (g/l)	ENDO	12,6 ± 1,8	22,3 ± 6,7 ^{*a}
	E + FM1	17,9 ± 5,6	20,5 ± 6,1 ^{*a}
	E + FM2	13,9 ± 1,8	15,8 ± 3,4 ^{*b}
	E + FM3	13,1 ± 1,0	15,7 ± 3,0 ^{*b}
ALB (g/l)	ENDO	1,00 ± 0,27	1,94 ± 0,36 ^{*a}
	E + FM1	1,52 ± 0,55	1,64 ± 0,78 ^b
	E + FM2	0,90 ± 0,28	1,35 ± 0,46 ^{*c}
	E + FM3	0,82 ± 0,17	1,26 ± 0,34 ^{*c}
Zn ($\mu\text{mol/l}$)	ENDO	28,9 ± 8,2	26,8 ± 8,5 ^{ac}
	E + FM1	30,7 ± 9,8	31,6 ± 9,1 ^b
	E + FM2	36,1 ± 5,8	27,6 ± 9,2 ^c
	E + FM3	26,7 ± 1,7	25,5 ± 10,6 ^c
CHOL (mmol/l)	ENDO	0,43 ± 0,12	0,52 ± 0,22 ^{*ac}
	E + FM1	0,57 ± 0,11	0,67 ± 0,25 ^b
	E + FM2	0,38 ± 0,10	0,45 ± 0,12 ^{*c}
	E + FM3	0,32 ± 0,13	0,41 ± 0,15 ^{*c}
AST (mU/10 ⁹ pl.)	ENDO	28,6 ± 14,5	68,2 ± 32,0 ^{*a}
	E + FM1	38,6 ± 19,6	62,5 ± 34,3 ^{*ab}
	E + FM2	27,0 ± 16,0	68,4 ± 34,4 ^{*a}
	E + FM3	30,0 ± 15,6	53,2 ± 27,3 ^{*b}

Objaśnienia: * różnice istotne odnośnie do czasu A, a:b:c istotne różnice między grupami, przy $p < 0,05$

miejsce wzrost TPR do 15,8 g/l ($\Delta_{TPR} - 13,6\%$), ALB do 1,35 g/l ($\Delta_{ALB} - 50,0\%$), CHOL do 0,45 mmol/l ($\Delta_{CHOL} - 18,4\%$) i AST do 68,4 mU/10⁹pl. ($\Delta_{AST} - 153,3\%$). U ogierów ENDO + FM3 odnotowano istotny statystycznie wzrost TPR do 15,7 g/l ($\Delta_{TPR} - 19,8\%$), istotny wzrost ALB do 1,26 g/l ($\Delta_{ALB} - 44,0\%$), CHOL do 0,41 mmol/l ($\Delta_{CHOL} - 28,1\%$) i AST do 53,2 mU/10⁹pl. ($\Delta_{AST} - 77,3\%$).

Osocze nasienia zawiera różne kompleksy biochemiczne, których poziom może stanowić ważną informację o biologicznej wartości nasienia i stanie czynnościowym samczego układu rozrodczego. Badania u knurów (21) dowodzą, że podanie CPA (anty androgen) powoduje szereg zmian biochemicznych, w tym wzrost zawartości TPR w osoczu nasienia. Termicznie indukowana degeneracja jąder powoduje także zmiany w składzie białkowym nasienia buhajów (26). Stężenie albumin w nasieniu jest w korelacji z odsetkiem plemników z wadami morfologicznymi, stąd podwyższone stężenie ALB w osoczu nasienia stwierdzono w patologicznym nasieniu u tryków (20). Obecny w nasieniu cholesterol koreluje z procesem zapalnym prostaty u mężczyzn (22). Stężenie CHOL było natomiast obniżone w azoospermicznym nasieniu mężczyzn (13). Podwyższone stężenie cholesterolu

oraz wysoką aktywność aminotransferazy asparaginia-
nowej zaobserwowano także w nienormalnej, żółtej
plazmie nasienia indyków (12). Wzrost aktywności
AST w osoczu nasienia stwierdzono u ogierów zaka-
żonych *S. equi subsp. zooepidemicus* (4). W badaniach
wcześniejszych u ogierów (5) wykazano po podaniu
różnych dawek endotoksyny *E. coli* (0,05, 0,1, 0,3 µg/
/kg m.c.), że najwyższa dawka LPS powodowała,
w czasie 24 h-9 tyg. badań, wzrost w osoczu nasienia
stężenia TPR o 37,3%, ALB o 115,4% i AST o 200,5%.
Z kolei stężenie cynku w osoczu nasienia ogierów
obniżyło się statystycznie istotnie tylko w 6 tyg. po
podaniu LPS (6). Dla porównania, w grupie ogierów
otrzymujących deksametazon (stres) stwierdzono, że
wśród badanych wskaźników biochemicznych aktywność
AST w osoczu nasienia wzrosła statystycznie
istotnie, z przyrostem (Δ_{AST}) – 58,2% (8).

Działanie megluminianu fluniksyny (FM), jako nie-
steroidowego leku przeciwzapalnego, sprowadza się
do zdolności hamowania oksygenacji kwasu arachi-
donowego. Fluniksyna redukuje syntezę produktów
cyklooksygenacji (1, 17). U knurów (25) wykazano,
że fluniksyna obniża poziom 15-ketodihydro-PGF_{2α} we
krwi oraz redukuje zmiany zapalne w jądrach i modu-
luje, w pewnym stopniu, stężenie testosteronu w suro-
wicy krwi zmienione po podaniu LPS. Megluminian
fluniksyny podany w dawce 1,1 mg/kg m.c., szczegól-
nie w 5 min. po infuzji LPS *Escherichia coli* (w daw-
ce 0,3 µg/kg b.w.) miał pozytywny wpływ na jakość
nasienia ogierów (9). W badaniach tych stwierdzono,
że FM korzystnie wpływa na ruchliwość i koncentra-
cję plemników oraz obniża odsetek wad morfologicz-
nych plemników u ogierów poddanych wpływowi en-
dotoksyny.

Reasumując należy stwierdzić, że podanie endotok-
syny wywołuje liczne zmiany w stężeniu hormonów
steroidowych oraz w składzie biochemicznym nasi-
enia ogierów. Mniejsze zmiany, szczególnie w odnie-
sieniu do T, E₂, ALB i CHOL w osoczu nasienia ogie-
rów spowodowane podaniem endotoksyny + fluniks-
yny (szczególnie w 5 min. po podaniu LPS), w porów-
naniu z grupą otrzymującą tylko endotoksynę, należy
niewątpliwie wiązać z anty-cyklooksygenazowym,
przeciwzapalnym oraz przeciwgorączkowym działa-
niem FM. W tym ostatnim przypadku stwierdzono
u ogierów poddanych wpływowi endotoksyny wyraź-
ny spadek temperatury rektalnej i temperatury skóry
moszny w grupie samców leczonych megluminianem
fluniksyny (11).

Piśmiennictwo

- Baskett A. U., Barton M. H., Norton N., Anders B., Moore J. N.: Effect of pentoxifylline, flunixin meglumine, and their combination on a model endotoxemia in horses. *Am. J. Vet. Res.* 1997, 58, 1291-1299.
- Christeff N., Auclair M. C., Dehennin L., Thobie N., Benassayag C., Carli A., Nunez E. A.: Effect of the aromatase inhibitor, 4-hydroxyandrostenedione, on the endotoxin-induced changes in steroid hormones in male rats. *Life Sci.* 1992, 50, 1459-1468.
- Daels P. F., Stabenfeldt G. H., Hughes J. P., Odensvik K., Kindahl H.: Effect of flunixin meglumine on endotoxin-induced prostaglandin F_{2α} secretion during early pregnancy in mares. *Am. J. Vet. Res.* 1991, 52, 276-281.
- Danek J., Wiśniewski E., Krumrych W., Dąbrowska J.: Changes in the qualities of stallion semen after incubation with *Streptococcus zooepidemicus*. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 1996, 40, 111-116.
- Danek J.: Biochemical changes in seminal plasma after endotoxin injection in stallions. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2000, 44, 193-199.
- Danek J.: The effect administration of LPS *Escherichia coli* on the zinc concentration in the seminal plasma of stallions. *Mengen-und Spurenelemente.* 20. Arbeitstagung 2000, Friedrich Schiller-Universität Jena, s. 255-260.
- Danek J.: Effect of *Escherichia coli* endotoxin on the levels of testosterone and estradiol-17β in blood serum and seminal plasma and on the semen characteristics in the stallion. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2003, 47, 191-209.
- Danek J.: Wpływ deksametazonu i fluniksyny na stężenie testosteronu i 17β-estradiolu w surowicy krwi oraz na morfologię plemników ogiera. *Medycyna Wet.* 2004, 60, 1329-1332.
- Danek J.: Effects of administration of *Escherichia coli* lipopolysaccharides and flunixin meglumine on the semen quality in the stallion. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2004, 48, 421-426.
- Danek J.: Wpływ deksametazonu na stężenie testosteronu, estronu i 17β-estradiolu oraz na biochemiczne wskaźniki w nasieniu ogierów. *Medycyna Wet.* 2005, 61, 335-337.
- Danek J.: Dane nieopublikowane.
- Hess R. A., Thurston R. J.: Protein, cholesterol, acid phosphatase and aspartate aminotransaminase in the seminal plasma of turkeys (*Meleagris gallopavo*) producing normal white or abnormal yellow semen. *Biol. Reprod.* 1984, 31, 239-243.
- Huacuja L., Delgado N. M., Calzada L., Wens A., Reyes R., Pedron N., Rosado A.: Exchange of lipids between spermatozoa and seminal plasma in normal and pathological human semen. *Arch. Androl.* 1981, 7, 343-349.
- Lange K., Cordes E. K., Hoppen H. O., Gunzel-Apel A. R.: Determination of concentrations of sex steroids in blood plasma and semen of male dogs treated with delmadinone acetate or finasteride. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 2001, 57, 83-91.
- Luboshitzky R., Kaplan-Zverling M., Shen-Orr Z., Nave R., Herr P.: Seminal plasma androgen/oestrogen balance in infertile men. *Int. J. Androl.* 2002, 25, 345-351.
- MacAllister C. G.: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Their mechanism of action and clinical uses in horses. *Vet. Med.* 1994, 89, 237-240.
- Moore J. N., Hardee M. M., Hardee G. E.: Modulation of arachidonic acid metabolism in endotoxic horses: comparison of flunixin meglumine, phenylbutazone, and a selective thromboxane synthetase inhibitor. *J. Am. Vet. Res.* 1986, 47, 110-113.
- Schatzmann U., Gugelmann M., von Cranach J., Ludwig B. M., Rehm W. F.: Pharmacodynamic evaluation of the peripheral pain inhibition carprofen and flunixin in the horse. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 1990, 132, 497-504.
- Sokkar S. M., Darwiesh G., Madbooly A.: Study of the pathological effect of *Escherichia coli* endotoxin in rams. *J. Vet. Med.* 2003, B 50, 226-230.
- Strzeżek J., Bieguszewski H., Szuperski T.: Wskaźniki biochemiczne w zastosowaniu do oceny jakości nasienia zwierząt gospodarskich. II. Badania nad przenikaniem albumin -J¹²⁵ z krwi do plazmy nasiennej. *Medycyna Wet.* 1970, 26, 480-484.
- Strzeżek J., Fraser L., Wysocki P., Kordan W., Hołody D., Dobrzyńska B.: Accessory sex glands of boar: inhibition of their secretory activity by antiandrogen cyproterone acetate. *Fertilität* 1998, 13, 244-250.
- Valsa J., Skandhan K. P., Umarvanshi V.: Cholesterol in normal and pathological seminal plasma. *Panminerva Med.* 1992, 34, 160-162.
- Wallgren M.: Clinical, endocrinological and spermatological studies after endotoxin injection in the boar. *J. Vet. Med.* 1989, 36, 664-675.
- Wallgren M., Kinndahl H., Larsson K.: Clinical, endocrinological and spermatological studies after endotoxin in the ram. *J. Vet. Med.* 1989, 36, 90-103.
- Wallgren M., Kindahl H., Rodriguez-Martinez H.: Modulation of endotoxin-induced andrological alterations by flunixin meglumine in the boar. *J. Vet. Med.* 1995, 42, 357-369.
- Wolfe D. F., Bradley J. T., Riddell M. G.: Characterization of seminal plasma proteins and sperm proteins in ejaculates from normospermic bulls and bulls with thermally-induced testicular degeneration. *Theriogenology* 1993, 40, 1083-1091.
- Zalata A., Hafez T., Verdonck L., Vermeulen L., Comhaire F.: Androgens in seminal plasma: markers of the surface epithelium of male reproductive tract. *Intern. J. Androl.* 1995, 18, 271-277.

Adres autora: doc. dr hab. Janusz Danek, ul. Gołębia 32, 85-309 Bydgoszcz; e-mail: jdanek@poczta.wp.pl