

OCENA USZKODZEŃ PLEMNIKÓW  
METODĄ POZAKOMÓRKOWEGO OZNACZANIA AKTYWNOŚCI ENZYMÓW  
W ŚWIETLE WARTOŚCI NASIENIA KNURKÓW\*

Maria Koćwin-Podsiadła, Dariusz Wejksza, Elżbieta Polańska

Zakład Hodowli Trzody Chlewnej WSR-P w Siedlcach,  
Akademia Rolnicza w Szczecinie, COH ZSD w Pawłowicach

Plemniki knura posiadają zdolność utleniania kwasu mlekowego, głównego produktu beztlenowych przemian fruktozy i glukozy, ponadto metabolizują inne substraty, takie jak pirogronian, glicerol, bursztynian i octan zachowując podczas tych przemian znaczną ruchliwość [12]. Zjawisko to może być przyczyną wzrostu przepuszczalności błony komórkowej plemników dla białek enzymatycznych i składników mineralnych, a tym samym szybkiego starzenia się tych komórek, obniżającego ich zdolności zapładniające [12].

Z uwagi na stwierdzoną przez szereg autorów przydatność niektórych testów enzymatycznych, szczególnie testu AspAT, w ocenie stopnia uszkodzeń struktur plemników u osobników dojrzałych [4, 7, 8, 12-14] celem niniejszej pracy było określenie zależności między aktywnością enzymów (AspAT, AlAT, LDH i AP) w plazmie świeżego nasienia, a jego wartością wyrażoną podstawowymi parametrami ilościowymi i wskaźnikami oceny mikroskopowej w obrębie 3 grup rasowych 6-miesięcznych knurków rasy wbp, duroc i mieszańców wielorasowych.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiło nasienie 6-miesięcznych knurków rasy wbp (32 szt.), duroc (29 szt.) i mieszańców wielorasowych (22 szt.), utrzymywanych w COH w Pawłowicach. Ocena ilościową i jakościową nasienia przeprowadzono bezpośrednio po

---

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

jego pozyskaniu (metodą manualną) i wyrażono następującymi parametrami: objętością całkowitą ejakulatu i jego frakcji nasiennej, koncentracją plemników (określoną za pomocą komory Burkera), odsetkiem żywych i martwych plemników (barwionych metodą różnicową), ruchem postępowym [2], składem morfologicznym plemników, odsetkiem plemników o normalnym akrosomie [9].

Analizy biochemiczne dotyczące oznaczeń aktywności AspAT, AlAT, LDH i AP w plazmie nasienia wykonano metodą biotestów produkcji czeskosłowackiej - Lachema-PP-Brno.

Przy obliczaniu współczynników korelacji między badanymi parametrami oceny biochemicznej plazmy nasienia a wskaźnikami oceny ilościowej i jakościowej nasienia posłużono się wzorami podanymi przez Snedecora [11].

### WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Współczynniki korelacji między wskaźnikami oceny biochemicznej plazmy nasienia a parametrami oceny ilościowej i jakościowej nasienia knurków w obrębie poszczególnych grup rasowych przedstawiono w tabeli 1. Otrzymane współczynniki korelacji w ramach badanych grup rasowych między poszczególnymi cechami przyjmowały skrajnie różne wartości - od statystycznie nieistotnych do wysoko istotnych dla badanej zależności. W tym względzie nie zaobserwowano żadnej prawidłowości. Nie odnotowano w przeanalizowanych testach biochemicznych plazmy nasienia testu uniwersalnego, który mógłby świadczyć chociażby o jednym parametrze oceny ilościowej i jakościowej dla wszystkich badanych grup knurków. Analizowane grupy rasowe stanowiły swoistą odrębność. Na szczególną uwagę zasługują uzyskane istotne i wysoko istotne współczynniki korelacji między aktywnością AspAT w plazmie nasienia a niektórymi wskaźnikami oceny ilościowej i jakościowej nasienia knurów rasy duroc. Przydatność tego testu w ocenie stopnia uszkodzeń struktur oraz przepuszczalności błon komórkowych plemnika potwierdza szereg autorów krajowych i zagranicznych [4, 7, 8, 12-14].

Charakterystyczne i znamienne wydają się być uzyskane wysokie, ujemne współzależności (udowodnione statystycznie) między aktywnością AlAT a ruchem masy plemników, odsetkiem plemników żywych, koncentracją i ogólną liczbą plemników w ejakulacie (tab. 1). Aktywność tego enzymu w plazmie młodych knurków jest więc czułym wskaźnikiem aktywności metabolicznej plemników oraz stanowi o parametrach ilościowych ejakulatu. W świetle badań publikowanych w literaturze wartość diagnostyczna omawianego enzymu w odniesieniu do oceny uszkodzeń struktur plemnika jest dyskusyjna. Wyniki niniejszych badań potwierdzają spostrzeżenia Derewickiego i wsp. [5], którzy zdecydowanie stwierdzają większą przydatność AlAT, jako testu biochemicznego w ocenie jakości nasienia knurów rasy wbp. Autorzy ci podkreślają

T a b e l a 1

Współczynniki korelacji między wskaźnikami biochemicznymi plazmy nasienia a parametrami oceny ilościowej i jakościowej nasienia knurków badanych ras

Wskaźniki	Grupa rasowa	Plazma nasienia			
		AspAT	AlAT	LDH	AP
Objętość całkowita ejakulatu	mieszzańce	0,26	0,03	0,00	-0,01
	duroc	-0,01	-0,08	-0,20	-0,35
	wbp	-0,09	0,20	-0,26	-0,16
Objętość ejakulatu po przedczeniu	mieszzańce	0,31	0,13	0,07	0,00
	duroc	0,02	-0,26	-0,41	-0,27
	wbp	-0,10	0,11	-0,25	-0,21
Ruch masy plemników	mieszzańce	-0,08	-0,37	0,39	0,38
	duroc	-0,57**	-0,67**	-0,10	-0,11
	wbp	0,09	-0,23	0,22	-0,17
Odsetek plemników żywych	mieszzańce	0,11	-0,46	0,54*	-0,07
	duroc	-0,39	-0,61**	-0,23	-0,12
	wbp	0,18	-0,27	-0,05	-0,25
Koncentracja plemników	mieszzańce	-0,04	0,42	0,42	0,36
	duroc	-0,37	-0,67**	-0,21	0,01
	wbp	0,06	-0,15	0,35	0,31
Ogólna liczba plemników w ejakulacie	mieszzańce	0,16	-0,31	0,46	0,31
	duroc	-0,45*	-0,73**	-0,38	-0,21
	wbp	0,11	0,03	0,26	0,26
Odsetek plemników o normalnym akrosomie	mieszzańce	-0,13	0,01	-0,15	-0,34
	duroc	-0,30	-0,28	-0,21	0,02
	wbp	-0,26	-0,23	-0,03	-0,02
Odsetek plemników ze zmianami głównymi	mieszzańce	-0,26	0,12	-0,21	0,14
	duroc	0,43	0,38	0,11	-0,01
	wbp	0,15	0,09	-0,40*	-0,24
Odsetek plemników ze zmianami pierwotnymi	mieszzańce	0,21	0,12	-0,34	0,12
	duroc	0,10	-0,07	0,25	-0,10
	wbp	0,16	0,03	0,14	0,23
Odsetek plemników normalnych	mieszzańce	0,02	-0,19	0,42	-0,20
	duroc	-0,28	-0,15	-0,16	0,10
	wbp	-0,20	-0,07	0,11	-0,05

\*P = 0,05, \*\*P = 0,01.

również, że aktywność AlAT w przeciwieństwie do AspAT wykazuje niewielkie zmiany w zależności od pory roku. Reasumując okazuje się, iż aktywność AspAT i AlAT w plazmie jest parametrem specyficznym w ocenie wartości nasienia knurków rasy duroc.

W niniejszej pracy znaleziono również zależności potwierdzone statystycznie między aktywnością LDH a procentowym udziałem plemników żywych w grupie knurków hybrydów oraz odsetkiem plemników ze zmianami głównymi w grupie knurków rasy wbp. W pierwszym przypadku zwiększonej aktywności towarzyszył wzrost ilościowy plemników żywych, zaś w drugim obniżenie odsetka plemników ze zmianami głównymi. W dojrzałych plemnikach w odróżnieniu od komórek somatycznych, w których występuje pięć tetrametrycznych izoenzymów LDH pojawia się szósty izoenzym - LDHx [1, 3]. Jest on zlokalizowany w mitochondriach wstawki [3] i jest silnie związany z błoną plazmatyczną plemników pochodzących z głowy i trzonu najądrzy [10].

Plazmę nasienia knura charakteryzuje szczególnie duża aktywność fosfatazy alkalicznej, której funkcja biochemiczna nie jest dokładnie poznana. Podstawowym źródłem AP w plazmie nasienia są wydzieliny jąder i najądrzy [6]. Z klinicznego punktu widzenia pomiar aktywności tego enzymu w plazmie może być wskaźnikiem diagnostycznym zaburzeń w drogach wyprowadzających, zwłaszcza ich górnej części. Uzyskane dodatnie korelacje między stosunkiem fosfatazowym a ruchliwością i przeżywalnością plemników [13] nie znalazły potwierdzenia w niniejszych badaniach.

#### WNIOSKI

Z badanych białek enzymatycznych plazmy nasienia (AspAT, AlAT, LDH i AP), zastosowanych jako testy diagnostyczne wartości nasienia, nie odnotowano testu uniwersalnego dla badanych trzech grup rasowych knurków.

Aktywność aminotransferaz (AspAT i AlAT) w plazmie nasienia młodych knurków rasy duroc może być czułym wskaźnikiem diagnostycznym aktywności metabolicznej plemników oraz zmian ilościowych ejakulatów.

#### LITERATURA

1. Bianco A., Zinkham W.: Science N. Y., 139, 601, 1963.
2. Bielański W.: Rozród zwierząt. PWRiL Warszawa, 1972.
3. Clousen J.: Biochem. J., 111, 207, 1969.
4. Czeczot H.: Biochemiczne zmiany w nasieniu młodych buhajów podczas wstępnego zamrażania prób w ciekłym azocie. Praca doktorska, ART Olsztyn, 1980.
5. Derevinskij V., Folomeev V.: Svinovodstvo, 7, 24, 1975.
6. Dubiel A., Karpiak Cz., Króliński J., Galant K., Kopeć M.: Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 263, 119, 1986.
7. Flipse R. J.: J. Dairy Sci., 43, 773, 1960.
8. Millbrand F. V., Glodek P.: In 34 th Annual Meeting of the Europ. Association for Anim. Prod. Madrid, 2, B10, 1983.
9. Saake R. G., White J. M.: Proc. Fourth. Techn. Conf. Anim. Reprod. and Artific. Insem. 2.
10. Samisoni I. J., Blackshow A. W.: J. Reprod. Fert., 24, 150, 1971.
11. Snedecor G. W.: Statistical methods. 5 ad. Iowa State. Univ. Press. 1956.

12. Strzeżek J., Głogowski J.: Med. Wet., 2, 115, 1977.
13. Strzeżek J., Głogowski J., Limanowicz J., Czeczot H.: Materiały XVI Sesji Nauk. Sekcji Fizjologii i Patologii Rozrodu. 2, 127, 1979.
14. Strzeżek J., Śmigiełska J., Czeczot H., Taha Yasim Taha., Głogowski J., Limanowicz J.: Materiały XVI Sesji Nauk. Sekcji Fizjologii i Patologii Rozrodu. 2, 163, 1979.

M. Koćwin-Podsiadła, D. Weiksha, Э. Полянська

ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕНИЙ СПЕРМАТОЗОИДОВ ПО ВНЕКЛЕТОЧНОМУ  
МЕТОДУ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ЭНЗИМОВ  
В СВЕТЕ КАЧЕСТВА СЕМЕНИ ХРЯЧКОВ

Р е з ю м е

Целью труда было определение связи между активностью энзимов в плазме семени 6-месячных хрячков и его качеством выраженным количественными параметрами и показателями микроскопной оценки в рамках трех породных групп: крупной белой польской породы (32 головы), породы дюрок (29 голов) и многопородных помесей (22 головы) содержащихся в Гибридизационном центре Павливице. Биохимическая оценка семени была выражена активностью энзимов в его плазме (AspAT, ALAT, LDH и AP).

Среди анализируемых биохимических тастов плазмы семени, свидетельствующих о степени повреждения сперматозоидов, не был найден универсальный тест, который смог бы касаться хотя бы одного параметра количественной и микроскопной оценки для всех исследуемых породных групп. Характерными и специфическими представляются высокие коэффициенты корреляции для связи между активностью AspAT и ALAT в плазме семени с одной стороны и движением массы сперматозоидов ( $r = -0,57^{**}$ ,  $-0,67^{**}$ ) и общим числом сперматозоидов в эякуляте ( $r = -0,45^*$  и  $-0,75^{**}$ ) и между активностью LDH и концентрацией и процентом живых сперматозоидов ( $r = -0,67^{**}$  и  $-0,61^{**}$ ) с другой стороны для хрячков породы дюрок, семя которых характеризовалось самыми низкими значениями в проведенной оценке. Была получена прямая зависимость между активностью LDH и процентов живых сперматозоидов ( $r = 54^*$ ) в рамках помесных хрячков. Рост процента сперматозоидов с основании изменениями связан с пониженной активностью LDH в плазме семени ( $r = -0,40^*$ ).

M. Koćwin-Podsiadła, D. Weiksha, E. Polańska

SPERMATOZOA INJURIES ESTIMATION BY THE METHOD  
OF EXTRACELLULAR ACTIVITY DETERMINATION OF ENZYMES  
AS EXEMPLIFIED BY THE VALUE OF YOUNG BOAR SEMEN

S u m m a r y

The aim of the work was to find the relationship between the activity of enzymes in the semen plasma of the 6-month boars and its value expressed in terms of quantitative parameters and microscopic estimation indices within the framework of three breed groups: Polish Large White (32 heads), Duroc (29 heads) and polybred hybrids (22 heads) at the Hybridization Centre of Pawłowice. The biochemical assessment of the semen was expressed in terms of activity of enzymes in its plasma

(AspAT, AlAT, LDH and Ap). In analyzed biochemical tests of the semen plasma concerning the spermatozoid injury degree no universal test, which could concern at least one parameter of the quantitative and microscopic estimation for all breed groups, has been found. Characteristic and specific seem to be the obtained high coefficients of correlation for the relationship between the AspAT and AlAT activity in the semen plasma, spermatoouoa mass movement ( $r = -0.57^{**}$ ,  $-0.67^{**}$ ) and total number of spermatozoa in the ejaculate ( $r = -0.45^{*}$  and  $-0.75^{**}$ ) on the one hand and the AlAT activity and concentration and per cent of living spermatozoa ( $r = -0.67^{**}$  and  $-0.61^{**}$ ) for the Duroc boars, the semen of which appeared to be the worst in the ejaculate, on the other. A simple relationship between the LDK activity and the per cent of living spermatozoa ( $r = 54^{*}$ ) within the group of hybrid boars has been obtained. Increase of the per cent of spermatozoa with basic changes is connected with a lowered LDH activity in the semen plasma ( $r = -0.40^{*}$ ).