

AKTYWNOŚĆ GGTP I FOSFATAZY ZASADOWEJ

W PLAZMIE EJAKULATÓW KNURÓW\*

Andrzej Dubiel, Czesława Karpiak, Jacek Króliński,

Karol Galant, Mieczysław Kopeć

Klinika Położnicza Instytutu Patologii i Terapii Zwierząt

Akademii Rolniczej we Wrocławiu

Wcześniej przeprowadzone w ośrodku wrocławskim [6] badania biochemiczne plazmy ejakulatów knurów wykazały bardzo wysoki poziom aktywności gamma-glutamylotranspeptydazy (GGTP) oraz fosfatazy zasadowej (FZ) w materiale badawczym, wynoszący odpowiednio 38,8-163,2 JS/ml i 2,41-3,90 mg/ml. Głównym źródłem GGTP w osoczu nasienia jest wydzielina jąder i najądrzy (albo tylko jąder czy najądrzy). Pozostałe gruczoły wydzielnicze i odcinki układu płciowego knura tylko w nieznacznym stopniu wpływają na aktywność tego enzymu. Wydzielina jąder i najądrzy decyduje także o aktywności fosfataz w plazmie ejakulatów knura, chociaż pewien wpływ na poziom FZ ma wydzielina gruczołów opuszkowo-cewkowych [6].

Określanie aktywności GGTP i fosfatazy zasadowej w osoczu nasienia knurów przeprowadzono w pierwszym doświadczeniu na sto-

---

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

sunkowo małym materiale badawczym (14 sztuk), gdzie każdy dodatkowy knur mógł wyraźnie zmienić układ tabeli. Biorąc pod uwagę wagność przedstawionego zagadnienia, prowadzono dalsze badania nad aktywnością wymienionych enzymów w plazmie ejakulatów większej liczby zwierząt. Oprócz zwierząt nie poddanych zabiegom chirurgicznym prowadzono obserwacje nad zachowaniem się GGTP i FZ w ejakulacie, wyłączając na drodze operacyjnej wydzielinę jąder i najądrzy. W ten sposób starano się wykazać, w jakim stopniu wyłączone składowe plazmy wpływają na poziom przedstawionych enzymów.

#### MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na ejakulatach 60 knurów rasy wielkiej białej ostrouchej, wielkiej białej zwisłouchej i złotnickiej, w wieku 1-2 lat, o wadze 120-400 kg. Zwierzęta pochodziły z trzech ferm tuczu przemysłowego trzody chlewnej, zlokalizowanych na terenie Dolnego Śląska, gdzie były użytkowane jako dawcy nasienia do celów sztucznego unasienniania.

Ejakulaty pobierano 1-3 razy tygodniowo, a następnie przeprowadzano ocenę wstępną nasienia, polegającą na określeniu jego objętości, barwy, konsystencji, pH morfologii i odsetka plemników o ruchu prawidłowym. Osocze do badań biochemicznych uzyskiwano drogą odwirowania świeżego nasienia. Próbkę osocza ampułkowano i natychmiast zamrażano w temp. 253 K na 24-48 godz, następnie próbki rozmrażano i oznaczano w nich GGTP metodą Szewczuka-Orłowskiego, a fosfatazę zasadową metodą Bodańskiego. Łącznie przebadano 250 ejakulatów.

W drugim etapie pracy 7 knurów w wieku około 12 miesięcy, o wadze 120-160 kg., poddano kolejno następującym zabiegom operacyjnym: przecięcie i podwiązanie głowy najądrzy tuż przy jądrach oraz wypreparowanie nasieniowodów w sąsiedztwie ogonów najądrzy.

Przy każdym zabiegu operacyjnym stosowano znieczulenie nadosłonkowe [13], które po 15 minutach pogłębiano snem podstawowym przy użyciu 10-20 ml pentobarbitalu (Vetbutal-Biovet). Jako środka znieczulającego używano 2-procentowego roztworu polokainy w dawce 18-22 ml.

Przecięcie i podwiązanie głowy najądrzy tuż przy jądrach spowodowało wyłączenie wydzieliny jąder ze składu ejakulatu. Drugi etap zabiegów chirurgicznych, polegający na przecięciu i podwiązaniu nasieniowodów, miał na celu wyeliminowanie wydzieliny najądrzy. Zabieg ten przeprowadzano 28-46 dni po pierwszym. Pojawienie się azoospermii świadczyło o dobrze przeprowadzonym przecięciu głów najądrzy i wyłączeniu wydzieliny jąder z ejakulatów.

Przed i 14 dni po zabiegu operacyjnym od każdego samca pobrano po 5 ejakulatów w odstępach 48-72 godzin i poddano ocenie wstępnej oraz biochemicznej (GGTP i FZ).

Otrzymane wyniki opracowano statystycznie uwzględniając istotność różnic między średnimi aktywności GGTP i fosfatazy zasadowej przed i po zabiegach operacyjnych na układzie płciowym. Dla porównania średnich obliczenia te wykonane zostały w oparciu o test t Studenta na poziomie istotności  $\alpha \ll 0,05$ .

## WYNIKI BADAŃ I OMÓWIENIE

Właściwości nasienia badanych 60 knurów nie odbiegały od norm, które ustalono dla płodnych knurów eksploatowanych w fermach tuczu przemysłowego i stacjach unasienniania trzody chlewnej [1, 5, 7, 10, 11]. Charakterystyczną cechą plazmy nasienia jest bardzo wysoka aktywność GGTP w granicach 1,2-180,8 JS/ml, średnio 32,7, oraz fosfatazy zasadowej 1,5-33,5 mg/ml, średnio 14,0 mg/ml. Aktywność GGTP i FZ nie odbiega wyraźnie od wartości otrzymanych w poprzednich doświadczeniach na 14 knurach. Porównując wyniki badań poprzednich [6] i obecnych stwierdzono duże wahania w aktywności GGTP i fosfatazy zasadowej w nasieniu knurów. Różnice te wystąpiły nie tylko między ejakulatami różnych osobników, ale także w nasieniu pobranym w odstępach 48-72 godzin od tego samego zwierzęcia.

Zanotowano bardzo wyraźną zmianę aktywności GGTP oraz fosfatazy zasadowej w ejakulatach 7 knurów po wyłączeniu wydzieliny jąder (różnice statystycznie istotne). Poziom GGTP po przecięciu i podwiązaniu głów najądrzy tuż przy jądrach znacznie wzrósł, natomiast fosfatazy zasadowej obniżył się. Przecięcie najądrzy tuż przy nasieniowodach i wyłączenie wydzieliny najądrzy spowodowało gwałtowny spadek aktywności opisanych enzymów do wartości zerowych lub zbliżonych do zera. Należy zatem przyjąć, że głównym źródłem GGTP w plazmie ejakulatów knurów jest wydzielina najądrzy, a nie jąder i najądrzy, jak to wcześniej twierdzono [6]. Pozostałe gruczoły dodatkowe i odcinki układu płciowego tylko w nieznacznym stopniu wpływają na poziom tego

enzymu w plazmie nasienia knura. Wydzielina najądrzy decyduje także o aktywności fosfatazy zasadowej w osoczu nasienia, chociaż pewien wpływ na aktywność wymienionego enzymu ma wydzielina jąder.

	GGTP	fosfataza zasadowa
plazma nasienia przed zabiegiem operacyjnym	32,68 ± 21,37	14,08 ± 3,83
po wyłączeniu wydzie- liny jąder	52,81 ± 28,84	9,88 ± 5,42
po wyłączeniu wydzie- liny najądrzy	2,48 ± 4,12	od 0,0 do wartości śladowych

W świetle dostępnego piśmiennictwa wyniki naszych badań są pierwszymi w świecie, pozwalającymi na ściśle zlokalizowanie miejsca produkcji GGTP i fosfatazy zasadowej w układzie płciowym knura.

Na podstawie spostrzeżeń wielu autorów przyjęto, że wydzieliny pochodzące z gruczołów pęcherzykowych i prostaty są podstawowym źródłem fosfataz w nasieniu różnych gatunków zwierząt i dlatego poświęcono im największą uwagę przy śledzeniu funkcji układu płciowego [3, 9]. Tymczasem już cytochemiczne badania Berna i Rollinsona dowiodły, że źródłem fosfataz są nie tylko wymienione dodatkowe gruczoły płciowe, ale także pozostałe części układu płciowego samców zwierząt domowych [4, 12]. Hag i Mullen [8] określając aktywność fosfatazy kwaśnej w nasieniu buhajów o różnej koncentracji plemników wykazali, że ejakulatory o niskiej koncentracji elementów morfotycznych cechują się obniżonym poziomem fosfatazy kwaśnej. Na podstawie otrzymanej za-

leżności autorzy stwierdzili, że fosfataza kwaśna nasienia buhajów produkowana jest przez jądra. Podobne wyniki przedstawili inni autorzy [2], porównując poziom fosfataz w ejakulatach buhajów różnych ras i bawołów. Okazało się, że w porównaniu z buhajami aktywność fosfataz jest największa w ejakulatach bawołów, co tłumaczy się słabo rozwiniętymi dodatkowymi gruczołami płciowymi u tych zwierząt i nieznacznym udziałem ich wydzieliny w składzie osocza.

Ocena wartości rozplodowej knura na stacjach unasienniania i fermach tuczu przemysłowego opiera się głównie na wynikach rutynowego badania nasienia oraz na wskaźniku niepowtarzalności unasiennianych loch. Metody te są wystarczające przy ocenie nasienia pochodzącego ze zdrowego narządu płciowego. W przypadku wystąpienia zmian w nasieniu, jądrach, najądrzach czy dodatkowych gruczołach płciowych, uwzględnia się także badania dodatkowe, jak bakteriologiczne, biochemiczne itp. Badania własne udowodniły, że podstawowym źródłem GGTP jest wydzielina najądrzy, a fosfatazy zasadowej wydzieliny jąder i najądrzy. Określanie aktywności wymienionych enzymów przy różnych procesach chorobowych układu płciowego knura, toczących się w jądrach i nasieniowodach, może okazać się cenną pomocniczą metodą laboratoryjną w diagnostyce niepłodności knurów.

#### WNIOSKI

Osocze nasienia knura charakteryzuje się wysoką aktywnością GGTP (średnio 32,68 JS/ml) i fosfatazy zasadowej (średnio 14,08 mg/ml). Stwierdzono wyraźne różnice aktywności GGTP i fosfatazy

zasadowej w nasieniu różnych osobników oraz w ejakulatach pobranych w odstępach 48-72 godzin od tego samego knura.

Podstawowym źródłem GGTP w plazmie nasienia knura są wydzieliny najądrzy, a fosfatazy zasadowej wydzieliny jąder i najądrzy.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Aamdal J., Högset I.: Artificial insemination in swine. Amer. Vet. Med. Ass. 131, 1, 59, 1957.
2. Abdon M.S.S., El-Guindi M.M., Mostafa M.A., El-Wishy A.B., Farahat A.A.: Comparative study of the phosphatase activity in the semen of bovines (*Bos bubalis*, *Bos taurus*) in Egypt. Zbl. Vet. Med. 21, 10, 759, 1974.
3. Bell D.J., Lake P.E.: Tissue components of the domestic fowl. 5 Phosphomonoesterase activity in the seminal plasma of the cock.
4. Bern H.A.: The distribution of alkaline phosphatase in the genital tract of male mammals. Anat. Rec. 104, 3, 361, 1949.
5. Burger J.F.: Die Geschlechtsphysiologie des Schweines. Wien. Tierärztl. Mtschr. 41, 117, 1954.
6. Dubiel A.: Wpływ chlormadinonu i zabiegów operacyjnych na odruchy płciowe i ejakulaty knurów. Zesz. Nauk. AR Wrocław, Rozprawy 4, 3, 1977.
7. Glower T.: The semen of the pig. Vet. Rec. 67, 2, 36, 1955.
8. Hag J., Mullen J.E.C.: Phosphomonoesterases in bull semen. Vet. Rec. 61, 145, 1949.
9. Kutscher W., Walbergs H.: Prostataphosphatase. Z. Physiol. Chem. 236, 237, 1935.
10. Mackle: Erfahrungen mit der Schweinebesamung. Tierzüchter 23, 6, 154, 1971.
11. Pawlak H.: Ocena wartości nasienia knurów w PZUZ w Poznaniu. Prz. Hod. 41, 4, 20, 1973.
12. Rollinson D.H.U.: A study of the distribution of acid and

- alkaline phosphatase in the genital tract of the Zebu bull (*Bos indicus*) J. Agric. Sci. 45, 2, 173, 1954.
13. Stańczyk J.F., Dubiel A., Mazur O., Pietrzak J.: Znieczulenie nadosłonkowe w zabiegach operacyjnych na układzie płciowym knurów. Medycyna Wet. 31, 2, 100, 1975.

A. Dubiel, C. Karpiak, J. Króliński, K. Galant, M. Kopeć

## GGTP AND ALCALINE PHOSPHATASE ACTIVITY IN SEMINAL PLASMA OF BOARS

### S u m m a r y

Investigations were carried out on the semen of 60 A.I. boars of different breeds, 1-2 years of age and 120-400 kg of live-weight. From each boar 1-3 ejaculates per week were collected by the manual method. In the second part of the experiment in which 7 boars were subjected to surgical operation to eliminate from the ejaculate first the testicular and next the epididymial secretions. GGTP activity was determined by Szewczuk - Orłowski method, and that of alkaline phosphatase by Bodziński method.

The GGTP activity averaged 32.7 RU/ml (1.2-180.8) and that of phosphatase 14.1 mg/ml (1.5-33.5). Distinct individual differences in the activity of both enzymes were found between ejaculates of different boars as well as between different ejaculates of the same boar.

Following disconnection of caput epididymis from the testicle the GGTP activity increased considerably, whereas that



of phosphatase decreased. Vasectomy caused an abrupt decrease of activity of both enzymes. These experiments indicate that GGTP is produced exclusively by epididymis whereas alkaline phosphatase by both, testis and epididymis.

А.Дубель, Ч.Карпьяк, Я.Крулиньски, К.Галант, М.Копець

Активность ГГТП и щелочной фосфатазы в плазме семени хряков

### Резюме

Обследовано семя 60 хряков разных пород, в возрасте 1-2 лет весом 120-400 кг. Животные были предназначены к искусственному осеменению и от них брали 1-3 эякулята в неделю методом мануальным. Во втором этапе опытов 7 хряков в возрасте около 12 месяцев операционным путем выключали выделение семенников и придатков из эякулята. Активность ГГТП в эякулятах до и после операционного приема обозначали по методу Шевчук-Орловски, а щелочную фосфатазу - по методу Боданьского.

Характерной чертой плазмы семени есть очень высокая активность гамма-глутамило-транспептидазы в границах 1,2-180,8 ЕК/100 мл, в среднем 32,7, и щелочной фосфатазы 1,5-33,5, в среднем 14,1 мг/мл. Установлено яркую разницу в активности ГГТП и щелочной фосфатазы в семени разных особей, а также в разных эякулятах взятых от того же самого хряка.

Уровень ГГТП после вазектомии и подвязания голов придатков тут же при семенниках значительно повышался, а щелочной фосфатазы - снижался. Вазектомия была причиной внезапного снижения активности обоих энзимов. Эти исследования указывают, что ГГТП производят только придатки, тогда как щелочную фосфатазу производят и семенники и придатки.