

23. Samborski Z.: Medycyna Wet. 36, 587, 1980.

24. Schuijff G., Ball L.: Physical diagnosis during dystocia in the cow. W: Current Therapy in Theriogenology, t. 2, red. Morrow D. A., Saunders, Philadelphia 1986, s. 214.

Adres autora: dr Jacek Ingarden, ul. Pawłowska 87/89, 51-250 Wrocław

ANDRZEJ DUBIEL, PAWEŁ JASIŃSKI

## Wpływ leków adrenergicznych na odruchy płciowe i właściwości nasienia buhajów

Katedra Patologii Rozrodu Zwierząt i Klinika Położnicza Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, Pl. Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław

### Summary

#### Effect of adrenergic drugs on the sexual reflexes and sperm properties of bulls

The examinations were carried out on 54 bulls divided into seven experimental groups. Following the injection of Propranolol and Levonor made by Polfa, experimental groups 4 and 7 or only Propranolol experimental groups 3 and 6, a statistically significant increase of the concentration of spermatozoons in a unit and in the whole ejaculate (25-35%) was observed.

Badania licznych autorów dowiodły, iż transport nasienia do miednicowej części cewki moczowej jest kontrolowany głównie przez układ sympatyczny, należący do autonomicznego systemu nerwowego samca (2, 3, 10, 12, 19, 21). Pobudzenie powodujące skurcz mięśni gładkich przewodów wyprowadzających narządu płciowego samców przenoszony jest za pośrednictwem alfa-receptorów adrenergicznych, podczas gdy impulsy hamujące skurcze tych mięśni są przekazywane drogą adrenergicznych beta-receptorów (13).

Wykazany został wzrost liczby plemników i poziomu glicerofosfocholiny w nasieniu ogierów leczonych preparatami typu alfa-adrenomimetyków kurczących mięśnie przewodów wyprowadzających narządu płciowego oraz po blokujących beta-receptory beta-adrenolitykach (14, 15). Wymienione preparaty stosuje się również w przypadkach leczenia zaburzeń ejakulacji u mężczyzn (5, 11, 16, 22). Leki te zastosowane u wykazujących oligospermie ogierów umożliwiły poprawę jakości ich nasienia i skuteczne krycie klaczy (15).

Obserwacje poczynione na knurach wykazały również wzrost objętości ejakulatów i liczby plemników w ejakulatach po podaniu tym samcom betaadrenolityku i levonoru (7, 8, 9). Brak jest natomiast danych na temat wpływu leków adrenergicznych na odruchy płciowe i właściwości nasienia buhajów. Celem badań było przeprowadzenie obserwacji w tym kierunku.

### Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 54 buhajach rasy ncb, zwierzęta podzielono na dwie grupy w zależności od ich wieku. Pierwszą grupę stanowiło 36 buhajów rocznych, a drugą 18 trzyletnich reproduktorów. Grupę młodych buhajów podzielono na cztery podgrupy liczące po 9 zwierząt (podgrupa 1, 2, 3, 4). Druga

grupa buhajów starszych została podzielona na trzy podgrupy liczące po 6 reproduktorów (podgrupa 5, 6, 7).

Nasienie pobierano przy użyciu sztucznej pochwy. W pierwszym etapie badań przed podaniem leków wszystkie samce regularnie oddawały nasienie raz w tygodniu, co 7 dni po dwa ejakulatory w odstępach pięciominutowych. W drugim etapie eksperymentu przed pobraniem nasienia buhaje podgrupy 1 (kontrolnej) otrzymały w iniekcji domięśniowej po 40 ml 0,9% NaCl, a w 15 minut po iniekcji pobierano nasienie. Zwierzętom podgrup 2 i 5 aplikowano Levonor „Polfa” w dawce 0,004 g na 100 kg masy ciała i po 15 minutach pobierano pierwszy ejakulat, drugi po dalszych 15 minutach.

Buhajom 3 i 6 podgrupy doświadczalnej wstrzykiwano lek będący bataadrenolitykiem – Propranolol „Polfa” – w dawce 0,005 g na 100 kg masy ciała, aby po upływie 30 minut od iniekcji pobierać nasienie. Samcom podgrup 4 i 7 podawano domięśniowo Propranolol w ilości 0,005 na 100 kg masy ciała, a po upływie 30 minut, również w formie iniekcji Levonor w dawce 0,004 g/100 kg masy ciała – w 15 minut od drugiej iniekcji pobierano nasienie. W każdym etapie badań od wszystkich buhajów pobrano i przebadano po 10-12 ejakulatów; w odstępach tygodniowych 5- lub 6-krotnie pobrano po 2 ejakulatory.

W poszczególnych etapach obserwacji określano nasilenie popędu płciowego oraz dynamikę pozostałych odruchów płciowych. Po pobraniu ejakulatów badano ich właściwości: objętość, barwę, konsystencję, pH, ruch falowy, procent plemników o ruchu prawidłowym i procent plemników martwych, morfologię i koncentrację plemników w jednostce objętości i ich liczbę w całym ejakulacie. Oprócz wym. obserwacji przeprowadzono badanie biochemiczne osocza nasienia: aktywność aminotransferazy asparaginowej (AsT), aminotransferazy alaninowej (AIT) i fosfatazy zasadowej (ALP). Aktywność enzymów oznaczono metodami dynamicznymi przy zastosowaniu aparatu „Technicon RA-1000” i odczynników „Technicon Diagnostics Reagents”. Zawartość fruktozy w osoczu nasienia oznaczono metodą Kulki (1). Zawartość kwasu cytrynowego kontrolowano również tradycyjną metodą kolorymetryczną, polegającą na reakcji utleniania kwasu cytrynowego do pentabromoacetonu i jego zamianie w kompleks barwny (4). Wszystkie dane liczbowe uzyskane w przeprowadzonych doświadczeniach przeanalizowano metodami statystycznymi. W celu porównania średnich w poszczególnych etapach eksperymentu posłużono się testem t-Studenta przy poziomie istotności  $p \leq 0,05$ .

### Wyniki i omówienie

Badania wykazały, że średnia objętość ejakulatów młodych buhajów wynosiła 3,68 ml i była o 19,6% niższa od odpowiedniej wartości nasienia starych buhajów. Także koncentracja plemników w jednostce objętości ejakulatu młodych buhajów (średnio  $0,77 \times 10^9$ /ml) oraz liczba plemników w

całym ejakulacie (średnio  $2,92 \times 10^9$ ) były wyraźnie niższe w porównaniu z nasieniem buhajów starszych, odpowiednio o 33,4 i 43,4%. Różnice te są statystycznie istotne. Charakterystycznymi cechami nasienia buhajów doświadczalnych były duże wahania w jego składzie biochemicznym. Porównując średnie wyniki analizy biochemicznej ejakulatów buhajów młodych i starych przed podaniem leków adrenergicznych należy przyjąć, że średnie aktywności AsT, AIT nie różniły się w sposób istotny statystycznie. Zaobserwowano natomiast, że nasienie starych buhajów charakteryzuje się niższą aktywnością fosfatazy zasadowej o 47% w porównaniu z nasieniem młodych samców. Ejakulaty tych ostatnich miały niższą koncentrację fruktozy i kwasu cytrynowego o odpowiednio 7,4 i 8,7% w porównaniu do samców dorosłych. Nie notowano różnic w nasileniu popędu płciowego i pozostałych odruchów płciowych w zależności od wieku buhajów.

Po podaniu preparatu Levonor (2 podgrupa doświadczalna) popęd płciowy buhajów utrzymywał się na tym samym poziomie, ale obserwowano większą dynamikę przebiegu poszczególnych odruchów płciowych. Na uwagę zasługuje niepełny wzwód prącia u 2 młodych reproduktorów po podaniu Levonoru. W tej fazie eksperymentu zanotowano spadek koncentracji plemników, aktywności fosfatazy zasadowej oraz wzrost aktywności AsP i AIT.

Iniekcja Propranololu (3 podgrupa) spowodowała istotny wzrost objętości ejakulatów i liczby plemników w całym ejakulacie oraz poprawę dynamiki odruchów płciowych. Objętość wytrysków zwiększyła się o około 26%, a liczba plemników w całym ejakulacie o około 30%. Podanie leków Propranolol i Levonor (4 podgrupa), podobnie jak w podgrupie poprzedniej, zwiększyło istotnie statystycznie objętość ejakulatów, koncentrację plemników i liczbę plemników w całym nasieniu. Objętość ejakulatów wzrosła o około 20%, a liczba plemników w całym ejakulacie o 35%.

W 5 podgrupie doświadczalnej Levonor był przyczyną spadku objętości ejakulatu i liczby plemników w całym ejakulacie (podobnie jak w 2 podgrupie). *Libido sexualis* utrzymywało się na tym samym poziomie, ale stwierdzono większą dynamikę przebiegu poszczególnych odruchów płciowych.

W kolejnej podgrupie nr 6, identycznie jak w 3 podgrupie doświadczalnej także otrzymującej Propranolol obserwowano po podaniu leku istotny statystycznie wzrost liczby plemników w całym ejakulacie (około 30%). Po podaniu betaadrenolityku notowano wzrost popędu płciowego i nasilenie pozostałych odruchów płciowych.

Tab. 1 ilustruje odruchy płciowe i właściwości nasienia 6 somatycznie dojrzałych buhajów przed i po podaniu im preparatów Propranolol i Levonor (7 podgrupa). Podobnie jak w poprzednich podgrupach doświadczalnych, po podaniu Propranololu lub tego ostatniego i Levonoru, obserwowano istotny statystycznie wzrost liczby plemników w całym ejakulacie o około 25% oraz koncentracji plemników w jednostce objętości wytrysku.

Po iniekcji leków adrenergicznych buhaje wykazały nasilenie popędu płciowego i zwiększoną dynamikę pozostałych odruchów płciowych. W tym samym czasie pobrane nasienie charakteryzowało się zwiększoną aktywnością fosfatazy zasadowej.

W badaniach własnych stwierdzono, że nasienie starych buhajów wykazuje niższą aktywność fosfatazy zasadowej, ale charakteryzuje się wyższym stężeniem fruktozy i kwasu cytrynowego w porównaniu z rocznymi reproduktorami. Zjawisko

Tab. 1. Odruchy płciowe i właściwości nasienia dorosłych buhajów przed i po podaniu preparatów Propranolol i Levonor (7 podgrupa doświadczalna) (n=6;  $\bar{x} \pm s$ )

Odruchy płciowe i właściwości nasienia	Przed podaniem	Po podaniu
Popęd płciowy	L - 3	L - 3
Odruchy płciowe	prawidłowe	prawidłowe**
Objętość ejakulatów (ml)	5,18±2,14	5,08±1,72
Koncentracja plemników ( $n \times 10^9$ /ml)	1,18±0,43	1,55±0,37*
Liczba plemników w ejakulacie ( $n \times 10^9$ )	5,96±2,69	7,87±3,37*
Procent plemników o ruchu prawidłowym	70±10	70±10
Procent plemników martwych	9±3,5	13±2,3
Procent wad głównych plemników	6,5±3	5±3,5
Procent wad podrzędnych plemników	14±3	12,5±3,5
Aktywność AsT U/1 plazmy	529±113	550±103
Aktywność AIT U/1 plazmy	21±11	19±5
Aktywność AIP U/1 plazmy	5461±2711	8620±2268*
Poziom fruktozy mg/100 ml plazmy	597±137	553±136
Poziom kwasu cytryn. mg/100 ml plazmy	562-117	567-106

Objaśnienia: \* - różnice istotne statystyczne przy  $p \leq 0,05$ , \*\* - zwiększenie dynamiki odruchów płciowych.

to należy tłumaczyć większym udziałem w składzie ejakulatów buhajów starszych wydzieliny gruczołów pęcherzykowych w zestawieniu z ilością wydzieliny pozostałych odcinków narządu płciowego. Według Manna (17) do 3-4-tygodnia życia buhaja jest brak kwasu cytrynowego w tkance gruczołów pęcherzykowych, a fruktozy jest mniej niż 8 mg/100 g tkanki. Szybki wzrost produkcji wymienionych składników osocza nasienia następuje od 20 tygodnia życia. Od 32 tygodnia można już uzyskać wydzielinę tych gruczołów i jej analizy wykazują wyższą zawartość kwasu cytrynowego niż fruktozy. Wydzielina gruczołów pęcherzykowych dojrzałych płciowo buhajów posiada wysokie stężenie kwasu cytrynowego i fruktozy jako materiału energetycznego dla plemników (17).

Na podstawie spostrzeżeń wielu autorów przyjęto, że wydzieliny pochodzące z gruczołów pęcherzykowych i prostaty są podstawowym źródłem fosfatów w nasieniu różnych gatunków samców (cyt. 6). Tymczasem już badania Berna i Rollinsona (cyt. 6) dowiodły, że źródłem fosfatów w nasieniu są nie tylko wymienione dodatkowe gruczoły płciowe, ale także pozostałe części narządu płciowego samców zwierząt domowych. Interesujące obserwacje nad nasieniem buhajów przeprowadzili Hag i Müllen, którzy określając aktywność fosfatów w nasieniu zawierającym różną koncentrację plemników wykazali, że ejakulaty o niskiej koncentracji elementów morfotycznych cechuje obniżona aktywność fosfatów i na tej podstawie sugerują, iż fosfatazy nasienia buhajów powstają w jądrach (cyt. 6). Porównanie stężeń fosfatazy zasadowej w ejakulatach buhajów dorosłych i młodych oraz aktywności wymienionego enzymu w ejakulatach buhajów dorosłych różnych ras, które różni stopień rozwoju dodatkowych gruczołów płciowych, wskazuje na wyższą aktywność fosfatazy zasadowej w nasieniu np. bawołów i młodych buhajów. Zjawisko to tłumaczy się słabszym stopniem rozwoju dodatkowych gruczołów płciowych tych samców i mniejszym udziałem ich wydzieliny w składzie wytrysku.

Jak już wspomniano, skromna jest liczba prac badawczych dotyczących wpływu leków adrenergicznych na odruchy płciowe samców i właściwości nasienia. Markvichitr (18) podaje,

że po iniekcji knurom Carazololu (betaadrenolityk) i Midodrinu (alfa adrenomimetyk) oraz kombinacji leków Carazolol i Arterenol (ten ostatni to odpowiednik noradrenaliny) zaobserwowano istotny statystycznie wzrost koncentracji i liczby plemników w ejakulatach. Autor fakty te tłumaczy zwiększonym wyrzutem rezerw plemników z najądrzy pod działaniem leków adrenergicznych na mięśniówkę gładką ogona najądrzy i nasieniowodów. Rath (20) udowodnił, że aplikowanie psom Propranololu i po krótkim czasie Midodrinu powoduje zwiększenie koncentracji plemników w jednostce objętości ejakulatów. Również Dubiel i wsp. (7, 8, 9) wykazali statystycznie istotny wzrost liczby plemników w ejakulatach knurów po podaniu im betaadrenolityków Suacron® lub Propranolol oraz o przewadze działania alfaadrenomimetycznego leku Levonor.

Klug i wsp. stwierdzili wzrost liczby plemników oraz glicerofosfocholiny w nasieniu ogierów po podaniu im leków alfaadrenomimetycznych i betaadrenolityku (14).

W oparciu o przedstawione wyniki badań przeprowadzonych na ogierach, knurach i psach, biorąc pod uwagę rezultaty własnych doświadczeń przeprowadzonych na buhajach, można stwierdzić, że leki adrenergiczne mogą istotnie wpływać na jakość nasienia samców. Można wnioskować, że sympatyczne impulsy nerwowe dla odruchu ejakulacji są przekazywane przez alfa-receptory, podczas gdy impulsy hamujące są przenoszone przez adrenergiczne beta-receptory. Wzrost liczby plemników w ejakulatach pozyskanych od samców po podaniu leków adrenergicznych jest wynikiem wyrzutu rezerw plemników z ogonów najądrzy. Następuje to pod wpływem zmian wrażliwości receptorów decydujących o kurczliwości mięśniówki gładkiej wymienionego odcinka dróg wyprowadzających narządu płciowego. Zmieniająca się wrażliwość tych receptorów może też wpływać na objętość ejakulatów. Wzrost koncentracji plemników i aktywności fosfatazy zasadowej po podaniu buhajom dorosłym 7 podgrupy Propranololu i Levonoru świadczy o wzroście wyrzutu plemników z rezerw magazynowych najądrzy i nasieniowodów. Spadek objętości ejakulatów, koncentracji plemników i aktywności fosfatazy zasadowej po podaniu buhajom młodym 2 podgrupy Levonoru, wskazuje na zaburzenia procesu ejakulacji spowodowane podaniem wymienionego leku, ponieważ pobudza on równocześnie alfa i beta receptory.

Niektórzy autorzy (14, 20) nie stwierdzili wpływu omawianych leków na popęd płciowy i pozostałe odruchy badanych samców. Jedynie Dubiel (7, 8, 9) i Markvichitr (18) zaobserwowali przedłużenie czasu ejakulacji knurów po podaniu beta-adrenolityku i następnie alfa-adrenomimetyku, co zostało uznane za skutek oddziaływania mechanizmów regulacyjnych w centralnym systemie nerwowym. W badaniach własnych na buhajach zaobserwowano poprawę dynamiki odruchów płciowych po zastosowaniu badanych leków. Na podstawie prawie gwałtownego zachowania płciowego reproduktorów można sądzić, że jest to skutek zadziałania mechanizmów przystosowawczych, umożliwiających adekwatną reakcję „fight or flight”. Stresorem jest wzrastający poziom noradrenaliny we krwi po iniekcji Levonoru. W wyniku jego działania następuje uczynnienie dwóch układów: podwzgórze-przysadka-nadnercze z wydzielaniem hormonów korowo-nadnerczowych oraz nerwowego układu współczulnego z uwolnieniem dużej ilości adrenaliny, która wprowadza ustrój w stan zwiększonej gotowości (reakcja alarmowa).

Trudno jest interpretować pobudzający wpływ Propranololu na odruchy płciowe buhajów, gdyż są to pierwsze tego rodzaju

obserwacje. Markvichitr (18) osłabienie wzrodu prącia knura po podaniu Midodrinu tłumaczy intensywnością skurczu naczyń włosowatych tego narządu po stymulacji alfa-receptorów. Pojedyncze przypadki osłabienia erekcji prącia młodych buhajów po podaniu Levonoru mogą mieć tło podobne.

W podsumowaniu wyników badań własnych i cytowanych autorów należy stwierdzić, że stosowane leki adrenergiczne oddziałują dodatnio na odruchy płciowe i właściwości nasienia samców. Możliwość zwiększenia liczby plemników w ejakulatach przy zastosowaniu Propranololu lub tego ostatniego i Levonoru może służyć zwiększeniu liczby dawek inseminacyjnych z ejakulatów sprawdzonych reproduktorów w stacjach hodowli i unasienniania zwierząt.

#### Wnioski

1. Preparaty Levonor „Polfa” i Propranolol „Polfa” zwiększają dynamikę odruchów płciowych buhajów, przy czym Levonor może niekiedy powodować u buhajów młodych zaburzenia w erekcji prącia.
2. Charakterystyczną cechą ejakulatów buhajów jednorocznych jest mniejsza objętość i koncentracja plemników w jednostce objętości i całym wytrysku oraz niższe stężenie kwasu cytrynowego i fruktozy w porównaniu z ejakulatami reproduktorów trzyletnich; nasienie tych ostatnich wykazuje niższą aktywność fosfatazy zasadowej w zestawieniu z ejakulatami buhajów jednorocznych.
3. Levonor „Polfa” podany domięśniowo zmniejsza liczbę plemników w ejakulatach buhajów.
4. Podany domięśniowo Propranolol „Polfa”, jak też podanie w jednym układzie Propranololu i Levonoru istotnie zwiększa liczbę plemników w nasieniu buhajów.

#### Piśmiennictwo

1. Bielański W.: Rozród zwierząt. PWRiL, Warszawa 1977.
2. Burnstock G., Holman M. E.: J. Physiol., 155, 115, 1961.
3. Burnstock G., Holman M. E.: J. Physiol., 160, 461, 1982.
4. Colowick, Kaplan: Methods in Enzymology, 3, 425, 1957.
5. Doepfner R.: Z. Hant.-Geschl. Krkh. 36, 476, 1964.
6. Dubiel A.: Zesz. Nauk. AR Wrocław, Rozprawy 4, 1987.
7. Dubiel A.: Zesz. Probl. Post. Nauk. Rol. 340, 121, 1987.
8. Dubiel A., Stańczyk J. F., Karpiakowa Cz., Kotoński B., Bakońska-Pacoń E., Sobiech K. A.: Pol. Arch. wet. 29, 143, 1988.
9. Dubiel A., Stańczyk J. F., Polańska E., Dziadek K., Karpiakowa Cz., Borgowski R., Merkt H., Weitze K., Klug E.: 11th Inter. Congr. Animal Reprod. Art. Insem. Dublin 4, 240, 1988.
10. Falek B., Trop A.: Med. Exp. 6, 169, 1962.
11. Günther E.: Derm. Wschr. 153, 849, 1967.
12. Hühn V.: Fortpfl. Haust. 6, 390, 1970.
13. Kinura Y.: Tohoku J. Exp. Med. 105, 177, 1970.
14. Klug E., Deegen E., Martin J. C., Lazarz B.: 9th Int. Cong. Animal Reprod. Art. Insem., Madrid, 1980, s. 824.
15. Klug E., Deegen E., Lazarz B., Rojem I., Markt F.: J. Reprod. Fert. Suppl. 32, 31, 1982.
16. Kragt F., Schellen A.: Andrologie 10, 381, 1978.
17. Mann T.: Biochemia nasienia. PWRiL, Warszawa 1958.
18. Markvichitr K.: Einfluss neuroomyotrop wirkender Substanzen auf die Ejakulation des Ebers anhand spermatologischer und biochemischer Parameter. Praca dokt., Wyższa Szkoła Wet., Hanower, 1984.
19. Rasbech N. C.: J. Reprod. Suppl. 23, 123, 1975.
20. Rath D.: Untersuchungen zur Beeinflussbarkeit andrologischer Parameter durch Propranolol und Midodrin bei Beagle-Rüden. Praca dokt., Wyższa Szkoła Wet., Hanower, 1983.
21. Sjöstrand N. O.: Acta Physiol. Scand. Suppl. 65, 157, 1965.
22. Steward B. H., Bergart J. A.: Fertil. Steril. 25, 1072, 1974.

Adres autora: prof. dr hab. Andrzej Dubiel, Pl. Grunwaldzki 6a/18, 50-384 Wrocław