

УДК 636.4; 612,6

Стояновський В.Г., доктор ветеринарних наук
Львівський університет ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С.З. Гжицького
Шостя А.М., кандидат біологічних наук
Усенко С.О., кандидат біологічних наук
Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН

АКТИВНІСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ У РІЗНИХ ТКАНИНАХ КНУРЦІВ У ПЕРІОД СТАНОВЛЕННЯ СТАТЕВОЇ ФУНКЦІЇ

Рецензент – кандидат біологічних наук О.Ф. Сагло

У статті висвітлено особливості динаміки супероксиддисмутази в крові, плазмі сперми та спермі кнурців у період становлення статевої функції. Встановлено, що активність СОД у крові молодих кнурців від 5 до 8 місяця життя істотно зменшується, найбільш істотно це відбувається у тварин універсального напрямку продуктивності. У період становлення статевої функції в плазмі та спермі молодих кнурців активність СОД підвищується, особливо суттєве підвищення відмічено протягом 6 та 7 місяців їх розвитку. Інкубування зразків плазми сперми і сперми призводить до зниження активності СОД, особливо вразливими ці тканини до дії температурного фактору були у 5, 6 і 7 – місячних кнурців. Однак по досягненні тваринами 9 – 10 – місячного віку активність СОД після інкубування зростає. Плазма сперми кнурців порівняно зі спермою характеризується меншою функціональною активністю СОД.

Ключові слова: кнури, кров, сперма, супероксиддисмутаза.

Сперміям властиво продукувати фізіологічні рівні радикалів Оксигену та пероксидів, що і є необхідною умовою для їх капацитації, реакції прилипання до зони пелюциди ооциту, стимуляції процесів гіперактивації та злиття з ооцитом. Однак, надмірний рівень радикалів Оксигену може спричинити зниження рухливості сперміїв та порушення процесів злиття їх з ооцитами [1, 2, 3].

Встановлено, що активність СОД у сперміях негативно корелює із їх рухливістю та розвитком реакції злиття з ооцитами, а позитивно з прискоренням пероксидного окиснення. Отже, цей ензим підтримує концентрацію радикалів Оксигену і пероксиду гідрогену, однак високі їх рівні пов'язані зі зниженням життєдіяльності сперміїв [4].

З'ясування закономірностей перебігу окремих ланок процесу пероксидного окиснення у тканинах кнурців відкриє можливість для розробки різних методів і способів корекції якості їх спермопродукції з подальшим отриманням повноцінного потомства.

Основною метою наших досліджень було з'ясувати особливості динаміки супероксиддисмутази у крові, спермальній плазмі та спермі в кнурців у період становлення статевої функції.

Матеріали і методи. В експериментах використали кнурців різних напрямів продуктивності, що зумовлено особливостями ліпідного і білкового обміну речовин: м'ясного (I група) – української м'ясної (УМ), полтавської м'ясної (ПМ) та червоної білопоясої порід (ЧБП); універсального (II група) – свині великої білої (ВБ), української степової білої (УСБ) порід; сального (III група) – великої чорної (ВЧ), миргородської (М) порід. Утримували їх у приміщенні елевелу по 2 голови в станку при вільно-

вигульному режимі. Годівлю піддослідних тварин проводили двічі на добу згідно з кормовими нормами ІС і АПВ НААН.

Протягом 5- і до 10 – місячного віку від кнурців одержували сперму мануальним методом. У досліді використовували таке статеве навантаження кнурців – від 5 до 8 місяці 4 садки на місяць, а з 9 по 10 місяць – 8 садок.

Для оцінки активності супероксиддисмутази (СОД) у крові, спермальній плазмі та спермі кнурців використовували фотометричний метод в основі якого лежить визначення швидкості інгібування ензимом аутоокислення адреналіну в зразку тканини [5]. Активність даного ензиму в спермі кнурців розраховували на 0,2 мільярди спермійів у 1 мл спермальної плазми.

Результати й обговорення. Отримані експериментальні дані свідчать, про те, що активність СОД у крові кнурців м'ясного напрямку продуктивності впродовж 6, 7 та 8 місяців розвитку була нижчою порівняно із встановленою в універсальних і сальних порід. В подальші періоди досліджень мінімальним рівнем даного ензиму характеризувались представники універсального напрямку продуктивності.

Дослідження активності СОД у крові кнурців, показало, що серед представників м'ясного напрямку продуктивності впродовж експериментального періоду у тварин УМ, ПМ і ЧБП порід відбувалось зниження рівня функціонування даного ензиму відповідно на 18 %; 18,3 та 11,7% (табл.1).

Дані досліджень про динаміку СОД у крові кнурців універсального напрямку свідчать про зниження активності цього ензиму з 5 по 10 місяці розвитку в ВБ на 33,3 % і УСБ порід – 55,2 %.

У тварин третьої групи встановлено істотне зниження активності СОД на 27,8 % впродовж 6 місяця розвитку, в подальшому продовжувалось зменшення рівня функціонування даного ензиму. Серед свиней 7 місячного віку сального напрямку продуктивності вищою активністю СОД на 23,5 %, характеризувались тварини М породи, також закономірність спостерігалась протягом 8 і 9 місяців розвитку.

Таблиця 1

Динаміка СОД у крові кнурів різних порід, у.о/мл, М±m

Групи	Порода	n	Вік, місяці					
			5	6	7	8	9	10
I	УМ	8	0,476 ±0,06	0,372 ±0,055	0,424 ±0,054	0,38 ±0,061	0,41 ±0,056	0,39 ±0,074
	ПМ	8	0,453 ±0,081	0,398 ±0,059	0,361 ±0,069	0,34 ±0,06	0,39 ±0,05	0,37 ±0,047
	ЧБП	10	0,419 ±0,044	0,439 ±0,073	0,383 ±0,054	0,41 ±0,047	0,38 ±0,06	0,37 ±0,055
	У середньому	26	0,442 ±0,04	0,401 ±0,026	0,389 ±0,039	0,378 ±0,049	0,385 ±0,036	0,377 ±0,038
II	ВБ	8	0,51 ±0,03	0,418 ±0,066	0,411 ±0,05	0,36 ±0,051	0,32 ±0,041	0,34 ±0,037
	УСБ	10	0,782 ±0,099	0,439 ±0,069	0,414 ±0,042	0,39 ±0,046	0,36 ±0,062	0,35 ±0,06
	У середньому	18	0,641 ±0,052	0,421 ±0,034	0,431 ±0,034	0,39 ±0,04	0,338 ±0,047	0,344 ±0,063
III	М	10	0,747 ±0,114	0,43 ±0,078	0,506 ±0,068	0,47 ±0,062	0,40 ±0,075	0,38 ±0,03
	ВЧ	8	0,418 ±0,045	0,405 ±0,073	0,381 ±0,059	0,37 ±0,04	0,38 ±0,039	0,39 ±0,07
	У середньому	18	0,576 ±0,047	0,415 ±0,031	0,442 ±0,044	0,41 ±0,054	0,388 ±0,064	0,387 ±0,059

Активність СОД у плазмі сперми кнурців різних порід від 5 – до 10 – місячного віку суттєво коливалась у межах 0,05...0,53 у.о./мл., (табл. 2). Рівень функціонування даного ензиму в цій тканині кнурців універсального напрямку продуктивності 5, 6, 9 та 10 – місячного віку був найменшим, а максимальний у представників сального напрямку продуктивності на 7, 8, 9 та 10 місяці розвитку.

У кнурців I групи 150– денного віку встановлено найбільші міжпородні відмінності за активністю СОД, де максимальний показник цього ензиму було встановлено у ПМ, а мінімальний – ЧБП порід, різниця між ними склала – 3,2 раза ($P < 0,05$). У тварин II групи різниці між рівнями досліджуваного ензиму були незначними, в межах – 25 % на користь ВБ породи. В той час, як між представниками III групи відмінність за активність СОД становила 80,6 % будучи вищою у кнурців М породи проти ВЧ. В цілому в універсальних порід, проти сальних і м'ясних у цій тканині встановлено меншу активність досліджуваного ензиму в 1,4 раза. Після 3-х годинного інкубування зразків плазми сперми отриманої від 5-ти місячних кнурців виявлено загальну закономірність – зниження рівня СОД, а інтенсивність цього процесу залежала від породи, становлячи в УМ- 6,7($P < 0,05$); ПМ – 2,1; ВБ – 2,2; УСБ – 3; М – 1,6; ВЧ – 2,2 раза, тільки в ЧБП цей показник дещо підвищувався на 8%.

Найбільш істотне зростання активності СОД у плазмі сперми відбувалось у кнурців протягом 6 місяця розвитку в м'ясних порід на 58,4, універсальних – 85,7 і сальних – 58,4 %. Закономірність ранжування загального рівня цього ензиму за напрямками продуктивності свиней була аналогічною до попереднього періоду – вищий рівень у м'ясних і сальних порівняно з універсальними.

По закінченні 7 місяця розвитку кнурців активність СОД у плазмі сперми підвищувалась, будучи в діапазоні 0,18-0,34 у.о./мл. Граничні показники було встановлено у тварин I групи найвищий рівень цього ензиму встановлено у ЧБП, а найнижчий – ПМ порід, де різниця між ними становила 11 %. В цілому, від 180 до 210 днів життя активність СОД зростала з різною інтенсивністю для окремої породи, в УМ – 1,6; ПМ – 2,3($P < 0,05$); ВБ – 2,5($P < 0,01$); УСБ – 1,9; М – 1,6 і ВЧ – 2 рази, в той час як в ЧБП рівень даного ензиму майже не змінювався.

Серед тварин II групи активність досліджуваного ензиму у представників ВБ і УСБ порід була майже на однаковим рівнем. В той час, як між ровесниками III групи встановлено вищий на 20 % рівень функціонування у М проти ВЧ порід. Інкубування плазми сперми 7 місячних кнурців при 38°C супроводжувалося зниженням активності СОД в УМ на 48%, ПМ – 58,2%, ЧБП – 47,2%($P < 0,01$), ВБ – 55,6($P < 0,01$), УСБ – 26,9%, М – 23,3% і ВЧ – 30%. Це є свідченням про те, що у останніх трьох генотипів утворення супероксидрадикалу відбувається дещо повільніше.

Максимальних значень активність СОД в досліджуваній тканині кнурців досягала на 8-й місяць розвитку. Рівень цього ензиму протягом 8 місяця життя зростав в УМ на 8, ПМ – 20,6, ЧБП – 38,9, ВБ – 46,2, М – 76,7, ВЧ – 4 %, однак, у ВБ спостерігалось незначне зниження її активності. Активність СОД у плазмі сперми кнурці 240 добового віку сального напрямку продуктивності була вищою порівняно з м'ясними і універсальними відповідно на 19,1 % та 17 %.

Впродовж 9 і 10 місяців розвитку в плазмі сперми кнурців на фоні загального зменшення активності СОД, представники сального напрямку продуктивності характеризувались вищим рівнем цього ензиму порівняно з універсальними і м'ясними на 29,4 і 20,6 % на 270 добу, а також на 23,3 та 16,7 % на 300 добу життя відповідно.

У плазмі сперми кнурців 10-місячного віку мінімальною активністю СОД характеризувались свині універсального типу, рівень даного ензиму був меншим порівняно з м'ясними і сальними відповідно на 8,7 % та 30,4 %. Між тваринами I групи найвищу активність СОД у цій тканині мали тварини ПМ породи, яка була більшою порівняно з УМ і ЧБП на 34,8 % та 71 %. Серед тварин II групи максимальний рівень досліджуваного ензиму спостерігався в УСБ, що перевищував встановлений у ВБ на 25 %. Суттєва різниця між рівнями функціонування СОД у межах III групи спостерігалась між тваринами М і ВЧ порід, де її рівень був вищим у перших проти других у 1,8 раза.

Інкубування плазми сперми протягом 3 годин призводило до зниження рівня СОД, але інтенсивність процесу залежала від породи тварин, а саме у кнурців УМ, ПМ, ЧБП, УСБ і М порід активність даного ензиму зменшувалась в межах 41...50 %, у ВБ на 15 %, а в ВЧ лише 4,8 %.

У спермі кнурців різних порід протягом дослідного періоду активність СОД змінювалась у таких межах від 0,08 до 0,66 у.о./мл. У тварин сального типу в цій тканині встановлено максимальний рівень досліджуваного ензиму протягом експерименту (за виключенням 180 доби), мінімальна її активність була виявлена у представників універсального напрямку на 150, 240, 270 і 300 доби розвитку. Найбільша різниця між ними спостерігалась по закінченню 8, 9 і 10 місяців життя складаючи 1,4 раза. В цілому за період досліду в спермі кнурів встановлено збільшення активності СОД у м'ясних в 2,6 ($P<0,01$), універсальних – 2,5 ($P<0,05$) та сальних – 2,8 раза ($P<0,01$).

Серед тварин I групи в усі періоди експерименту максимальний рівень СОД у спермі встановлено у ПМ, а мінімальною її активністю характеризувались ровесники ЧБП з 5 по 8 місяці життя, а в послідувачі місяці розвитку представники УМ породи. Найбільша міжпородна різниця між рівнем цього ензиму спостерігалась на 240 добу розвитку, де її активність у ПМ була вищою порівняно з УМ і ЧБП породами відповідно на 40 та 38 % ($P<0,05$). Протягом експериментального періоду активність СОД у спермі представників УМ породи змінювалась таким чином: стрімке зростання в 2,8 раза з 5 по 8 місяця до максимальних значень, з послідувачим незначним зниженням. Динаміка даного ензиму у ПМ породи полягала в підвищенні її рівня з 150 до 240 діб у 2,6 раза з наступним суттєвим зменшенням на 18,2 (270-та доба) та 10,6 % (300-та доба розвитку). Активність СОД у цій тканині тварин породи ЧБП породи також суттєво зростала у 3,9 рази ($P<0,05$) від 5 до 9 місяця розвитку, з подальшим незначним його зниженням на 10,7 % протягом останнього місяця експерименту.

Після інкубування активність СОД у спермі кнурців 5 – місячного віку суттєво спадала в УМ на 150, ПМ – 140 ($P<0,05$), а ЧБП – 48,1%. Із збільшенням їх віку вплив цього фактора зменшувався, а по досягненні ними 9 місяця розвитку рівень досліджуваного ензиму у цій тканині кнурців УМ не змінювався, в ПМ породи зростав на 12,8, а ЧБП підвищувався лише на 3,2 %.

У спермі кнурців ВБ породи активність СОД впродовж дослідного періоду змінювалась таким чином: підвищення її рівня до максимальних значень від 150 до 210 діб у 2,6 раза ($P<0,05$). В наступні періоди експерименту спостерігалось зменшення рівня цього ензиму порівняно з 7 місяцем розвитку на 19,2 (8 місяць), 10,7 (9 місяць) і 24 % (10 місяць розвитку). У цій тканині в представників УСБ породи істотне підвищення активності досліджуваного ензиму в 4,8 раза ($P<0,01$) до найвищих значень відбувалось з 150 до 240 діб розвитку. В подальші періоди виявлено зниження рівня зазначеного ензиму проти 240 доби у 1,3 (270-та) і 1,4 раза (300-та доби). Рівень досліджуваного ензиму у спермі кнурців УСБ породи переважав за встановлений у ВБ відповідно на 65,4 (8 місяць), 17,9 (9 місяць) і 24 % (10 місяць життя). Після інкубування досліджуваної тканини кнурців 150 денного віку рівень СОД суттєво знижувався у ВБ в 2,4 ($P<0,05$) і УСБ у 3,9 раза ($P<0,01$). Однак, вже по досягненні ними 240 денного віку встановлено зменшення активності цього ензиму у перших лише на 18,2, других – 30,3 %. Про те, по закінченні 9 і 10 місяців розвитку в проінкубованій спермі активність СОД зростала у ВБ відповідно на 21,4% і 32,0% а в УСБ на 9,1% та 12,9%.

Таблиця 2.

Динаміка активності СОД у плазмі та сперми кнурів різних порід, у.о/мл, M±m

Групи	Порода	n	Вік, місяці																	
			5		6		7		8		9		10							
			1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2						
I	УМ	8	0,094	0,11	±0,027	±0,036	0,153	0,22	0,25	0,27	0,27	0,31	0,27	0,27	0,29	0,230	0,27			
		8	0,16	0,20	±0,029	±0,036	0,15	0,33	0,34	0,40	0,41	0,52	0,44	0,35	0,310	0,47				
	ЧБП	10	±0,036	±0,04	±0,08	±0,026	±0,065	±0,077	±0,07	±0,083	±0,10	±0,071	±0,078	±0,085						
18		0,05	0,08	±0,064	±0,038	±0,053	±0,018	±0,084	±0,059	±0,061	±0,053	±0,053	±0,057							
II	УСБ	10	±0,013	±0,027	±0,023	±0,023	±0,035	±0,034	±0,035	±0,046	±0,053	±0,042	±0,047							
		8	0,096	0,12	±0,023	±0,023	0,11	0,17	0,27	0,33	0,26	0,28	0,20	0,25						
	У середньому	18	±0,018	±0,027	±0,019	±0,038	±0,043	±0,051	±0,044	±0,047	±0,058	±0,06	±0,049	±0,055						
III	М	10	0,06	0,09	±0,017	±0,032	±0,047	±0,05	±0,055	±0,076	±0,094	±0,045	±0,062							
		18	±0,014	±0,019	±0,024	±0,04	±0,04	±0,047	±0,053	±0,064	±0,044	±0,046	±0,037	±0,051						
	У середньому	8	0,13	0,18	±0,044	±0,033	±0,043	±0,055	±0,065	±0,107	±0,136	±0,103	±0,097							
У середньому	ВЧ	10	0,072	0,091	±0,029	±0,036	0,25	0,31	0,26	0,32	0,27	0,35	0,210	0,31						
		18	±0,018	±0,02	±0,032	±0,037	±0,051	±0,067	±0,042	±0,045	±0,059	±0,043	±0,052							
	У середньому	18	0,100	0,132	±0,031	±0,029	±0,048	±0,063	±0,077	±0,094	±0,071	±0,056	±0,071							

Примітка: 1 – плазма сперми; 2 – сперма;

n – кількість досліджуваних зразків.

Однак, вже по досягненні ними 240-денного віку встановлено зменшення активності цього ензиму у перших лише на 18,2, других – 30,3 %. Про те, по закінченні 9 і 10 місяців розвитку в проінкубованій спермі активність СОД зростала у ВБ відповідно на 21,4 і 32, а в УСБ на 9,1 та 12,9 %.

Протягом експериментального періоду активність СОД у спермі кнурців III групи зростала з збільшенням віку. Найбільш істотно підвищувався її рівень в 2,6 раза ($P < 0,05$) до максимального значення у представників М породи із 180 до 240 діб розвитку. В подальші періоди відносно 8- місяця життя спостерігався спад активності досліджуваного ензиму в тварин цього породи на 29,1 (9 місяць) та 43,5 % (10 місяць життя). Дещо іншу динаміку СОД було встановлено у представників ВЧ породи: суттєве зростання рівня в 3,4 раза на протязі 6 і 7 місяців, а в наступні періоди впродовж 8 і 9 місяців життя виявлено подальше незначне підвищення функціонування цього ензиму. В цілому в усі досліджувані періоди рівень СОД у кнурців М породи був вищим порівняно з ВЧ із найбільш істотною різницею у 2,1 раза на 240 – у добу розвитку. Інкубування сперми кнурців 5-ти місячного віку цієї групи призводило до зниження активності цього ензиму, що складало близько 50 %. Однак більш вразливою до цього фактора була сперма у тварин 6- місячного віку, де показник цього ензиму зменшувався у М на 66,7 і ВЧ – 123,7 % ($P < 0,05$). Наприкінці 9 місяця у її активність після інкубування майже не змінювалась, а у М зростала на 5,7 (270 доба) та 13% (300 доба розвитку).

Порівняльний аналіз даних досліджень про динаміку СОД у різних тканинах кнурців, свідчить, про суттєве переважання її активності у крові кнурців порівняно з спермальною плазмою і спермою у 150-, 180- і 210- денному віці, в подальші періоди в цілому їх рівні були близькими. Встановлено, що сперма кнурів характеризується вищою активністю СОД в усі досліджувані періоди порівняно із спермальною плазмою. При чому ця різниця зростала із збільшенням віку тварин.

Висновки.

2. Активність СОД у крові молодих кнурців від 5- до 8- місяця життя істотно зменшується. Найбільш істотне зниження рівня цього ензиму відбувається у тварин універсального напрямку продуктивності.

3. У період становлення статевої функції в плазмі та спермі молодих кнурців активність СОД підвищується, особливо суттєве зростання відмічено протягом 6- та 7-місяців їх розвитку.

4. Інкубування плазми і сперми призводить до суттєвого зниження активності СОД, особливо вразливими ці тканини до дії температурного фактору були у 5-, 6- і 7-місячних кнурців. Однак по досягненні тваринами 9 – 10 місячного віку рівень даного ензиму зростає.

5. Плазма сперми кнурців порівняно зі спермою характеризується меншою активністю СОД.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження з вивчення окремих компонентів прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в тканинах кнурців у період становлення статевої функції будуть спрямовані розроблення способів регуляції їх репродуктивної здатності.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Kim J.G., Parthasarathy S. Oxidation and the spermatozoa// *Semin Reprod Endocrinol.* – 1998. Vol. 16(4).-P.235-239.

2. Oeda I., Schill O. Reactive oxygen species influence the acrosome reaction but not acrosin activity in human spermatozoa// *International Journal of Andrology.* -1999.-Vol 22.- Issue 1.- P. 37.

3. Lamirandea E., Gagnona C. Capacitation-associated production of superoxide anion by human spermatozoa// *Free Radical Biology and Medicine.* -1995. –Vol. 18.- Issue 3.- P. 487-495.

4. Aitkena R. J., Buckingham D. W., Carrerasb A. Superoxide dismutase in human sperm suspension: relationship with cellular composition, oxidative stress, and sperm function// Free Radical Biology and Medicine. -1996. –Vol. 21.- Issue 4.- P. 495-504.

5. Брусков О.С., Герасимов А.М., Панченко Л.Ф. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина //Бюлл. эксп. биол. и мед. -1976. -N1. -С.33-35.

Стояновский В.Г., Шостя А.М., Усенко С.О. Активность супероксиддисмутазаы в различных тканях хряков в период становления половой функции

В статье представлены особенности динамики супероксиддисмутазаы в крови, плазме спермы и сперме хряка в период становления половой функции. Установлено, что активность СОД в крови молодых хряка от 5 до 8 месяца жизни существенно уменьшается. Наиболее существенное уменьшение происходит у животных универсального направления продуктивности. В период становления половой функции в плазме спермы и сперме молодых хряков активность СОД повышается, особенно существенное повышение отмечено в течение 6 и 7 месяцев их развития. Инкубирование плазмы спермы и спермы приводит к существенному снижению активности СОД, особенно уязвимыми эти ткани к действию температурного фактора были в 5, 6 и 7- месячных хряков. Однако по достижении животными 9 – 10 – месячного возраста уровень данного энзима после инкубирования увеличивается. Плазма спермы хряка по сравнению со спермой характеризуется меньшей функциональной активностью СОД. Ключевые слова: хряки, сперма, супероксиддисмутаза.

V.G. Stoianovskiy, A.M. Shostya, S.O. Usenko. Activity of superoxidedismutase in different tissues of boars in the formation period of sexual function

In the article it is present the peculiarities of the dynamics of superoxide dismutase in blood, seminal plasma and in sperm of boars during the formation of sexual function. It has been determined that the activity of SOD in the blood of young boars from 5 to 8 month of life is significantly reduced. The most significant reduction occurs in animals of universal direction of the productivity. During the formation of the sexual function in the seminal plasma and sperm of young boars SOD activity increased, particularly significant increasing was noted during the 6th and 7 months of their development. Incubation of plasma sperm and sperm leads to a significant decreasing in SOD activity, particularly these vulnerable tissues to the action of the temperature factor were in 5, 6 and 7 monthly boars. However, in the animals of 9 – 10 months of age SOD activity after incubation increases. The seminal plasma of the boar compared with sperm has less functional activity of SOD.

Key words: boars, sperm, superoxidedismutase