



УДК 57.08:599.323:636.028:611.013.1

ВПЛИВ ВІКУ САМЦІВ НА ІНКРЕТОРНУ ФУНКЦІЮ СТАТЕВИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ

Щербак О.В., к. с.-г. н.

Харківська державна зооветеринарна академія

У статті вивчено вплив віку щурів на інкреторну функцію сім'яників за концентрацією тестостерону та встановлено, що його рівень майже не змінювався, незважаючи на їх незначні коливання в фізіологічних межах, якщо за контроль взяли групу тварин репродуктивного періоду життя (6 місяців). Вміст фруктози з віком незначно збільшувався, але при цьому не відмічалось зміння такого важливого показника як співвідношення фруктоза/тестостерон у всіх експериментальних тварин.

Ключові слова: **сперма, гормони, щури, вікові групи, фруктоза, тестостерон.**

Стан репродуктивного здоров'я чоловіків - це одна з актуальних проблем у біології та медицині. Це обумовлено мінливістю процесів адаптації організму людини до діючих на нього екзо- та ендогенних факторів [1]. При цьому встановлено, що найбільш якісним показником репродуктивної функції є здатність до запліднення і до зачаття, а також стан здоров'я майбутнього покоління. За останній час у літературі з'явився ряд повідомлень, що свідчить про проведення досліджень репродуктивного здоров'я населення у зв'язку зі складною демографічною ситуацією, зумовленою зниженням народжуваності. При цьому зазначено, що проблема безплідного шлюбу набуває велику соціальну та медичну значущість. Дані ж про поширеність чоловічого безпліддя носять відносний характер. Порушення запліднюючої здатності чоловіків виявляється причиною безплідного шлюбу в 40-50 % спостережень [2, 3]. Ця проблема з кожним роком набуває все більш гострий характер, оскільки на сьогодні до 15% шлюбів є безплідними, а за деякими даними одна з п'яти подружніх пар. Останнім часом для вирішення проблеми безпліддя використовують штучне осіменіння. Найчастіше звертаються до гомологічного осіменіння, тобто з залученням сперми чоловіка, а не донора. Однак, різні фактори: запальні захворювання, варикоцеле, радіація, вживання деяких лікарських засобів, а також вік чоловіків викликають змінення функціонування репродуктивної системи. Це може виявлятися у зменшенні вмісту фруктози та кислій фосфатази в еякуляті, вмісту тестостерону в сироватці крові, а як наслідок – порушення рухливості і життєздатності сперматозоїдів.

У зв'язку з цим метою нашого дослідження було вивчення впливу віку самців на показники концентрації чоловічого статевих гормону та фруктози.

Матеріали та методи дослідження. У роботі використано 60 самців щурів популяції Вістар. Цей вид тварин використовувався через те, що перетворення чоловічого статевих гормону у них ідентичне цьому процесу у людини та перебігає з перевагою 5 α – відновлення [4].

Тварин різних вікових груп декапітували, виділяли сім'яні пухирці та визначали вміст фруктози, також у сироватці крові визначали рівень тестостерону.

Для визначення впливу віку самців щурів на функціонування сім'яних пухирців та андрогенну насиченість організму щурів було підрозділено на 7 груп:

1) 3,5-місячні (пубертатний період життя);



- 2) 6-місячні (репродуктивний період життя);
- 3) 12-місячні (молодий зрілий період життя);
- 4) 18-місячні (пізній зрілий період життя);
- 5) 24-місячні (пізній зрілий період життя);
- 6) 30-місячні (старечий період життя);
- 7) 36-місячні (межовий старечий період життя).

У всіх піддослідних тварин досліджувався вміст фруктози у сім'яних пухирцях за класичною методикою Бокуняєвої [5]. Суть методу полягає в наступному. Гомогенізують СП з 1 мл дистильованої води зі склом на кризі, потім послідовно додають 2 мл 2 % розчину сульфату цинка ($ZnSO_4$), 2 мл 0,1 N розчину гідроксиду натрію (NaOH). Суміш підігрівають дві хвилини на киплячій водяній бані та фільтрують через паперовий фільтр. Після чого до 0,5 мл фільтрату додають 0,5 мл розчину резорцину та 1,5 мл 30 % розчину соляної кислоти (HCl). Все змішують та розміщують на водяній бані при $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ на п'ять хвилин. Інтенсивність рожево-червоного забарвлення, що виникає при цьому, вимірюють на фотоелектроколометрі при зеленому світлофільтрі. Розрахунок кількості фруктози проводять за калібровочним графіком, відтворюючи у ммоль/літр.

Рівень чоловічого статевого гормону у сироватці периферичної крові визначали імуноферментним методом за допомогою стандартного комерційного імуноферментного набору „Стероид ИФА – тестостерон” фірми „Алкор Био” (Росія).

Дані представлено як середнє арифметичне та його похибка. При статистичній обробці результатів перевіряли характер розподілу даних у вибірках, який здебільшого підкорявся закону нормального розподілу [6].

Результати досліджень. Необхідність проведення нашого дослідження визначається тим, що до складу сім'яної рідини людини входить велика кількість неорганічних і органічних речовин (вуглеводів, ліпідів, білків, вільних амінокислот, гормонів, вітамінів, ферментів). Від змісту цих компонентів у певній мірі залежить запліднююча здатність сперматозоїдів. Однак до теперішнього часу біохімічний склад сперми, і які у ній процеси, вивчено недостатньо. Найбільше практичне значення має визначення фруктози, тому що кількість фруктози дозволяє судити про функцію СП та частково відображає андрогенну насиченість організму [7]. Утворення фруктози відбувається в сім'яних пухирцях. За рахунок розщеплення фруктози (фруктоліза) виходить енергія, необхідна для життєвих процесів сперматозоїдів. Фруктоза утворюється лише при достатній гормональній функції гландулоцитів. Споживання фруктози залежить від числа сперматозоїдів, їх рухливості і здатності до фруктолізу. Значне зниження вмісту фруктози вказує на брак андрогенів. Синтез фруктози є андрогензалежним процесом, у зв'язку з цим її концентрація може бути маркером реалізації дії тестостерону. У літературі достатньо відомостей про вплив багатьох чинників на рухливість сперматозоїдів, які визначаються безпосередньо в самому еякуляті: його рН, концентрація фруктози, мінеральних речовин, цитокинів, тощо [8,9]. У свою чергу, всі ці показники впливають на рухливість гамет через зміну внутріклітинного метаболізму, діючи на ферментні системи клітин [10]. Тобто, можна припустити, що при зміні гормонального тла, під час стресової реакції, відбувається підвищення концентрації іонів натрію та зсув рН еякуляту у кислий бік, що може призводити до зниження рухливості спермій і, відповідно, до зниження їх запліднюючої здатності [11].

Стан інкреторної функції сім'яників ми оцінювали за концентрацією у периферичній крові тестостерону. Рівень цього гормону є основним показником ступеня андрогенізації, та дозволяє виявити як абсолютну, так і відносну недо-



статність тестостерону [12]. Отже з віком, у самців розвиток та функціонування органів репродуктивної системи залежить від тестостерону. У чоловіків, на відміну від жінок, не відбувається різкого закінчення репродуктивної функції, виділення сперми триває до глибокої старості. Відзначено, що після 30-40 років рівень тестостерону знижується приблизно на 1–2 % у рік. Тому, як видно з даних таблиці, він майже не змінювався, незважаючи на незначні коливання в фізіологічних межах, якщо за контроль взяти групу тварин репродуктивного періоду життя (6 місяців).

Таблиця

Вміст тестостерону у сироватці крові та фруктози у сім'яних пухирцях самців щурів різних вікових груп

Група тварин	Вміст тестостерону у сироватці крові, нмоль/л	Вміст фруктози у сім'яних пухирцях, ммоль/л	Співвідношення фруктоза/тестостерон
3,5 місяці	20,28±1,13	0,904±0,058	4,67±0,35
6 місяців	23,80±1,20	0,964±0,064	4,12±0,27
12 місяців	26,56±1,03	1,046±0,064	4,02±0,26
18 місяців	28,12±2,96	1,482±0,165	5,33±0,61
24 місяці	23,04±0,71	1,436±0,163	6,29±0,96
30 місяців	23,02±0,89	1,096±0,062	4,79±0,52
36 місяців	22,20±0,96	1,054±0,056	4,91±0,37

При вивченні функціонування сім'яних пухирців в усіх групах досліджуваних щурів (крім групи пубертатного періоду життя – 3,5 місяці та репродуктивного періоду життя (6 місяців) слід відмітити, що вміст фруктози з віком незначно збільшувався. Але при цьому не відмічалось змінення такого важливого показника як співвідношення фруктоза/тестостерон у всіх експериментальних тварин, а в групі тварин пізнього зрілого періоду життя (24- місячні) навіть підвищувався. Крім того, вміст фруктози може бути маркером реалізації дії тестостерону, яка залежить не тільки від його кількості, але й стану чутливості клітин – мішеней до дії андрогенів. При цьому вельми об'єктивним критерієм реалізації дії тестостерону є співвідношення фруктоза/тестостерон [12, 13]. Знаходження цього показника в межах контрольних величин розглядається як збереження адекватної чутливості сім'яних пухирців до дії ендогенного тестостерону [13, 14, 15].

Висновок. Таким чином, на підставі отриманих даних можна зробити висновок про те, що показники андрогенної насиченості організму у щурів із віком майже не змінюються, що навіть у зрілому і старому віковому періоді, спостерігається збереження нормальної репродуктивної функції самців. А це вказує на те, що у допоміжних репродуктивних технологіях людини та у методах біотехнології відтворення тварин можна використовувати сперму, отриману від самців різних вікових груп.

Бібліографічний список

1. Побічний вплив ліків на статеву систему / О.П. Вікторов, Л.А. Порохняк, Н.О. Постригач, І.О. Борзенко // Клініч. фармація. – 1999. – Т. 3, № 1. – С. 75–79.
2. Гладкова А.И., Сидорова И.В., Золотухина В.Н. Патогенетические особенности экспериментальных патоспермий разного генеза // Патогенетичні аспекти фармакотерапії ендокринних захворювань: Матеріали. наук.–практ. конф., при-



свят. 150-річчю з дня народження акад. В.Я. Данилевського, Харків, 6–7 лют. 2002 р. – Харків, 2002. – С. 28–29.

3. Кулаков В.И. Репродуктивное здоровье: проблемы, достижения, перспективы // Проблемы репродукции. – 1999.- №2. – С. 6–10.

4. The heart is a target organ for androgen / H.C. Mc Gill, V.C. Anselmo, J.M. Buchanan, P.J. Meridan // Science. – 1980. –Vol. 207, № 4432. – P. 775–777.

5. Бокуняева Н.И. Выделения половых органов // Справочник по клиническим и лабораторным методам исследования / Под ред. Е.А. Кост. – М., 1975. – С. 331–340.

6. Гланц С. Медико–биологическая статистика / Пер. с англ. – М.: Практика, 1998. – 459 с.

7. Рівень андрогенізації та концентрації фруктози в еякуляті у чоловіків з гіпофертильністю / В.А. Бондаренко, О.М. Демченко, Т.Ю. Бурма та ін. // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 54–60.

8. Йен С. С. К., Джаффе Р. Б. Репродуктивная эндокринология. Том 1. – М.: Медицина, 1998. – 702 с.

9. Йен С.С.К., Джаффе Р.Б. Репродуктивная эндокринология. Т. 2. – М.: Медицина, 1998. – 432 с Эндокринология и метаболизм / Под ред. Ф. Фелига, Дж. Д. Бакстреа, А. Е. Бродуса, Л. А. Фромена. – М.: Медицина, 1985. – в 2-х т.: -Т 1. 520 с., Т. 2. – 416 с.

10. Эндокринология и метаболизм /Под ред. Ф.Фелига, Дж.Д. Бакстреа, А.Е.Бродуса, Л.А.Фромена. – М.:Медицина, 1985. – в 2-х т. – Т.1. 520 с., Т.2. – 416 с.

11. Чистякова Е.С. Стан репродуктивної функції нащадків стресованих самців щурів/ дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук.- Харків, 2008. – 218 с.

12. Sergio R. Ojedo. The Mustery of mammalian puberty: how much more do we know? // Perspect. Biol. Med. – 1991. – Vol. 34, № 3. – P. 365–383.

13. Application of seminal germ cell morphology and semen biochemistry in the diagnosis and management of azoospermic subjects / Roy S., Banerjee F., Pandey H.C. et al. // Asian J. Androl. – 2001. – Vol. 3, № 1. – P. 55–62.

14. Бондаренко В.А., Демченко А.Н., Дунаев В.А. Андрологический статус и функция системы гипофиз–гонады у мужчин с недостаточностью пубертата в анамнезе отдаленные сроки после терапии// Проблемы медичної науки та освіти. – 2002. – № 3. – С. 23–25.

15. Рівень андрогенізації та концентрації фруктози в еякуляті у чоловіків із гіпофертильністю / В.А. Бондаренко, О.М. Демченко, Т.Ю. Бурма та ін. // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 54–60.

ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТА САМЦОВ НА ИНКРЕТОРНУЮ ФУНКЦИЮ ПОЛОВЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС

Щербак О.В., Харьковская государственная зооветеринарная академия

В статье изучено влияние возраста крыс на инкреторную функцию семенников по концентрации тестостерона и установлено, что его уровень почти не менялся, несмотря на незначительные колебания в физиологических пределах, если в качестве контроля взять группу животных репродуктивного периода жизни (6 месяцев). Содержание фруктозы с возрастом незначительно увеличивалось, но при этом не отмечалось изменение такого важного показателя как соотношение фруктоза / тестостерон у всех экспериментальных животных.

Ключевые слова: сперма, гормоны, крысы, возрастные группы, фруктоза, тестостерон.



THE MALE AGE EFFECT TO THE RATS GONADAL INCRETORY FUNCTION
Shcherbak O., Kharkiv State Academy of Animal Health

The article highlights the rats age effect to the incretory function of testes by testosterone concentration and it was defined that its level was hardly changed, no matter the minor variations on the physiological range, if the group of animals of reproductive life period (6 months) was taken as control. The fructose concentration was low increased with age, but the ratio of fructose / testosterone in all experimental animals, as the important indicator, was not changed.

Keywords: sperm, hormones, rats, age, fructose, testosterone.

УДК 636.92.4.082:591.3:57.089.3

**БІОТЕХНОЛОГІЧНА МОДЕЛЬ ВИКОРИСТАННЯ *IN VITRO*
РЕПРОДУКТИВНОГО МАТЕРІАЛУ КРОЛІВ НА ОСНОВІ
МЕТОДІВ ЕМБРІОЛОГІЧНОЇ ГЕНЕТИКИ**

Щербак О. В., к. с.-г. н., Зюзюн А. Б., Осипчук О. С., асп.⁷
Інститут розведення і генетики тварин НААН

*Розроблено і практично застосовано біотехнологічну модель використання *in vitro* репродуктивного матеріалу кролів на основі методів ембріологічної генетики. Здійснено морфологічний та цитогенетичний аналіз з метою відбору найбільш придатних для повноцінного дозрівання *in vitro* ооцит-кумулюсних комплексів кролиць. Встановлено, що використання дозрілих *in vitro* ооцитів кролиць порід метелик та сірий велетень забезпечує формування ембріонів *in vitro* на рівні 51,2 %. Використання епідидимальних сперматозоїдів кролів для запліднення *in vitro* дозволяє додатково використовувати генетичний потенціал тварин і удосконалювати біотехнологічні методи.*

Ключові слова: ооцит-кумулюсні комплекси (ОКК) кролиць, епідидимальні сперматозоїди, дозрівання та запліднення *in vitro*, ембріони кролі.

На сучасному етапі розвитку репродуктивної біотехнології на теренах Російської федерації та України дослідження з удосконалення методик клонування, трансгенезу та одержання ембріональних стовбурових клітин виконуються переважно з використанням гамет кролів. Цей вид тварин є зручним біологічним об'єктом внаслідок короткого репродуктивного циклу і багатоплідності, витрати на утримання суттєво нижче, порівняно з утриманням та годівлею великих тварин.

Завдяки розвитку методів ембріологічної та молекулярної генетики з'явилась реальна перспектива отримувати трансгенних тварин, які є носіями чужорідної генетичної інформації [2, 5, 13]. Такі тварини є модельними для виконання прикладних і фундаментальних біотехнологічних досліджень. Трансгенні тварини є новим джерелом отримання цінних фармацевтичних речовин (інтерлейкіни, антитрипсин, інсуліноподібний фактор росту, тощо) та донорами внутрішніх органів для ксенотрансплантації [8, 9, 12, 14]. Застосування молекулярно-генетичних технологій забезпечує отримання тварин-продуцентів біологіч-

⁷ Науковий керівник – доктор сільськогосподарських наук, член-кореспондент НААН С.І. Ковтун