



DEVELOPMENT OUTLOOKS OF ELECTRO-MANIPULATION METHODS AND APPARATUS IN A CELLULAR BIOTECHNOLOGY

V. Shigimaga, Institute of Animal Science of NAAS

The modern methods of electro-manipulation, which are used in a cellular biotechnology, in particular, in animal science for cloning, receipt of chimera embryos, cellular hybrids by dielectroforez, electro-fusing and electroporation, are resulted in article. The development outlooks of electro-manipulation methods in cellular biotechnology is shown, based on the use of newest methods of pulse electric field action on a cell and application of the automated apparatus in cellular processes which have electric nature.

Keywords: method, electro-manipulation, cellular biotechnology, outlook.

УДК 636.4; 612,6

**ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ ГОМЕОСТАЗ
У ПЛАЗМІ ТА СПЕРМІ КНУРЦІВ УКРАЇНСЬКОЇ
СТЕПОВОЇ БІЛОЇ ПОРОДИ**

Стояновський В. Г., д. вет. н.

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С. З. Гжицького

Шостя А. М., к. б. н., **Усенко С. О.**, к. б. н.

Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН

У статті висвітлено окремі особливості прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в спермі та її плазмі кнуриців української степової білої породи у період становлення статевої функції. Встановлено, що рівень спермопродукції в молодих кнуриців від 5-го до 8-го місяців життя істотно збільшується. Одержання двох еякулятів на тиждень від кнуриців 9-10-місячного віку, в основному, не викликає зниження якості спермопродукції. У період становлення статевої функції в плазмі та спермі молодих кнуриців процеси ВРПО прискорюються, рівень антиоксидантних ензимів (СОД і КТ) зростає, а неензимних антиоксидантів (ГТ, АК і ДАК) знижується. Найбільш інтенсивно ці процеси відбуваються протягом 5-го, 6-го та 7-го місяців їх розвитку. Інкубування плазми і сперми призводить до суттєвого прискорення процесів ВРПО та виснаження системи АОЗ, особливо вразливими ці тканини до дії температурного фактора були у 5- 6- і 7-місячних кнуриців. Перебіг процесів ВРПО в плазмі сперми кнуриців порівняно зі спермою відбувається менш інтенсивно, але в першій тканині рівень активності КТ і насичення АК був вищим.

Ключові слова: кнури, сперма, прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз.

Інтенсивне використання сперми кнуриців для штучного осіменіння свиней вимагає більш раннього віку їх введення в основне стадо та забезпечення спермою високої якості. Це спонукає до розробки ефективних методів прогнозування якості спермопродукції, особливо в аспекті окислювального стресу, ролі ферментних та ферментних антиоксидантів.

Найбільш чутливими до зміни прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в організмі тварин є спермії, особливо їх плазматичні мембрани, які вкривають акросому, хвіст (велика кількість ненасичених жирних кислот, сильна ліпідна те-



чія) [1] та цитоплазма (низька концентрація антиоксидантних ферментів) [2]. У спермі тварин функцію антиоксидантного захисту виконує плазма сперми, що вміщує значну кількість антиоксидантів, які захищають спермії від окислювального стресу, компенсуючи нестачу ендоплазматичних ферментів. Плазма сперми містить супероксиддисмутазу (СОД), глутатіонпероксидазу, глутатіонредуктазу і каталазу (КТ), що продукуються простатою і додатковими залозами [3], а також неферментні антиоксиданти: глутатіон, метіонін, вітаміни С і Е [4, 5, 6]. Активність СОД у спермі дуже варіабельна, а глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази - більш стабільна. Встановлено, що активність СОД прямо пропорційна життєдіяльності і рухливості сперміїв [2], де кореляція становила $r=0,50$ [7].

У процесі формування сперміїв стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у сперматозоїдах значно змінюється на різних стадіях їх дозрівання. Доведено, що рівень генерування активних форм кисню (АФК) незрілими сперміями з аномальною морфологією є досить високим [5, 6]. Це може стати причиною зниження якісних показників сперми. Спільне проходження від сім'яних каналців до придатку сім'яників може стати причиною окислювального пошкодження дозрілих сперміїв через продукування АФК їх незрілими формами. Використання цієї закономірності може стати одним із шляхів, спрямованих на корекцію антиоксидантного статусу сперми у наслідок збільшення рівня антиоксидантів у мембранах дозрілих статевих клітин упродовж сперматогенезу [8].

За рівнем прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в плазмі сперми можна прогнозувати фертильність у тварин. Висока запліднююча здатність сперміїв супроводжується підвищеними рівнями АФК і системи антиоксидантного захисту (АОЗ), що забезпечує нормальне запліднення, а виснаження системи АОЗ може викликати безпліддя [9, 10]. Ці процеси контролюються станом прооксидантно-антиоксидантної системи, а зміни рівноваги призводять до зниження біологічної повноцінності сперміїв: порушення процесів їх формування, здатності до запліднення, загибелі зигот та ембріонів.

Розкриття закономірностей перебігу процесів вільно радикального перекисного окислення (ВРПО) у спермі та її плазмі розкриє можливість розробки різних методів і способів для корекції якості спермопродукції з подальшим отриманням повноцінного потомства.

Метою досліджень було з'ясувати особливості прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в спермі та її плазмі кнурців у період становлення статевої функції.

Матеріали і методи досліджень. В експериментах використовували кнурців української степової білої породи, яких оцінювали з показниками власної продуктивності, привчали до садки на чучело з подальшим вивченням якості спермопродукції. Утримували тварин у приміщенні елевелу по 2 голови в станку при вільно-вигульному режимі. Годівлю піддослідних кнурців проводили двічі на добу згідно з кормовими нормами ІС і АПВ НААН.

Протягом із 5-го до 10- місячного віку від кнурців одержували сперму мануальним методом. У досліді використовували таке статеве навантаження кнурців – від 5-го до 8-го місяців 4 садки, а з 9-го до 10-го місяців - 8 садок на місяць. Кількісні й якісні показники спермопродукції визначали за такими методами: об'єм - вимірювання циліндром, концентрацію – фотоколориметричним, рухливість і виживаність – мікроскопічним, переживаємість сперміїв шляхом визначення рухливості до та після інкубування при $t=38^{\circ}\text{C}$.

Для оцінки прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу відбирали зразки сперми від 5-ти кнурців у процесі їх вирощування та використання щомісячно від



5-го до 10-го місяців життя. Оцінювали рівень перебігу ВРПО у спермі і їх плазмі за концентрацією первинних продуктів пероксидації – дієнових кон'югатів (ДК) спектрофотометрично [11] та вторинних продуктів - альдегіди і кетони, що реагують із 2-тіобарбітуровою кислотою, визначали фотоколориметрично. Серед них найбільшу частку (до 40 %) становить малоновий діальдегід (МДА) [12].

Для оцінки рівня антиоксидантного захисту в спермі й її плазмі кнурців використовували наступні показники та методи їх визначення. Активність СОД визначали фотометрично по швидкості її інгібування аутоокислення адреналіну в зразку [13]. Для визначення активності КТ у плазмі і спермі було застосовано спектрофотометричний метод вимірювання забарвленого комплексу утвореного перекисом водню з солями молібдена [14]. Вміст глутатіону (ГТ) визначали за допомогою реактиву Елмана (5,5-дітіо-2-биснітробензойної кислоти) [15]. Активність ферментних, вміст неферментних антиоксидантів та метаболітів у спермі кнурців розраховували на 0,2 мільярди спермійів у 1 мл.

Результати досліджень. Отримані результати досліджень свідчать, що у кнурців об'єм еякуляту протягом досліджуваного періоду підвищувався в 5,8 раза ($P < 0,001$), при цьому найбільш інтенсивно він зростав упродовж 6-го місяця в 2,7 раза ($P < 0,010$) (табл. 1). Упродовж 7-го і 8-го місяців життя встановлено суттєве зростання об'єму еякуляту в 1,7 раза ($P < 0,001$), а в наступний період від 8-го до 10-го - продовжувалось підвищення на 21,6 %.

Таблиця 1

Динаміка показників якості спермопродукції у кнурців української степової породи, ($M \pm m$)

Показники	Вік тварин, місяців							
	n	5	6	7	8	n	9	10
Об'єм еякуляту, мл	20	38,6 ±4,31	102,95 ±4,67	145,65 ±4,11	175,45 ±6,63	40	219,55 ±5,71	223,85 ±4,78
Концентрація спермійів, млрд/мл	20	0,161 ±0,009	0,196 ±0,014	0,258 ±0,016	0,275 ±0,017	40	0,223 ±0,011	0,214 ±0,008
Загальна кількість живих спермійів, млрд.	20	3,81 ±0,41	16,33 ±2,05	31,16 ±4,24	38,07 ±1,97	40	41,72 ±3,64	36,68 ±4,11

Примітка. n - кількість дослідних зразків сперми.

Аналіз кількості спермійів в еякуляті показав, що від 150 –ї до 270 –ї діб розвитку кнурів спостерігалось підвищення цього показника, до максимальних значень на 41,5 % ($P < 0,001$). Упродовж 9-го і 10-го місяців розвитку цей показник незначно знижувався відповідно на 19,1 та 22,2 %.

Кількість живих спермійів в еякуляті зі збільшенням віку тварин істотно зростала протягом експериментального періоду з 3,81 до 41,72 млрд в еякуляті. Найбільш інтенсивно підвищувалась кількість цих гамет від 150 до 210 діб життя. Слід зазначити, що кількість живих спермійів в еякуляті при досягненні кнурцями 8-місячного віку, порівняно з початковим періодом, зросла в 10 разів ($P < 0,001$). Посилення статевого навантаження на кнурців 9-місячного віку сприяло незначному підвищенню цього показника.



Дослідження рухливості і переживаємості спермій у кнурців 5-10- місячного віку показало, що їх активність коливалась від 61,3 до 82,8 (табл. 2).

Таблиця 2

**Показники рухливості і виживаємості спермій
у кнурів української степової породи, (M±m),%, n=40**

Вік тварин, місяців											
5		6		7		8		9		10	
Д	П	Д	П	Д	П	Д	П	Д	П	Д	П
61,25 ±2,95	21,25 ±4,13	81,00 ±1,28	59,5± 2,00	82,25± 1,32	61,5± 1,56	80,25± 1,44	69,25± 2,31	82,8± 1,10	72,13± 1,26	76,00± 1,02	70,13± 0,88

Примітка. Д – рухливість спермій у свіжій спермі; П – переживаємість спермій.

У кнурців зі збільшенням віку спостерігалось зростання активності гамет. Так, упродовж 6-го місяця життя відбувалось підвищення активності спермій у кнурців на 19,8 %, того часу як їх переживаємість зросла відповідно в 2,8 раза ($P < 0,001$). Рівень досліджуваних показників продовжував підвищуватись до досягнення тваринами 210- денного віку, а в наступні місяці спостерігалась стабілізація цього показника. Отже, рівень спермопродукції в молодих кнурців від 5-го до 8-го місяців життя істотно збільшується. Одержання двох еякулятів на тиждень від кнурців 9-10 -місячного віку, в основному, не викликає зниження якості спермопродукції.

Дослідження активності СОД у плазмі сперми кнурців свідчить про її лабільний рівень, що знаходився в межах 0,06...0,38 у.о./мл (табл. 3), де перший показник встановлено на 150-у, а другий на 240–у доби розвитку. Особливістю динаміки цього ферменту було підвищення рівня протягом 6, 7 і 8-го місяців у 6,3 раза ($P < 0,001$), з наступним зниженням до закінчення експерименту – 34,2 %. Після 3-годинного інкубування зразків цієї тканини при $t 38^{\circ}\text{C}$ виявлено загальне зниження активності СОД, максимальний її спад було встановлено на 7, 8 та 10-й місяці в межах 26,3 – 44 %.

Визначення КТ у плазмі сперми кнурців показало постійну зміну її активності від 25,78 до 43,31 мкмоль $\text{H}_2\text{O}_2/\text{хв.мл}$, де мінімальний показник встановлено в 5-ти, а максимальний 10- місячному віці, з різницею між ними 40,5%, що вказує на стрімку динаміку зростання рівня протягом зазначеного періоду. Інкубування плазми сперми кнурців 6-, 7– та 8- місячного віку призводило до зниження рівня КТ відповідно на 31,1; 16,4 та 17,5 %. Функціональна активність цього ферменту в інкубованій плазмі сперми від 9– та 10–місячних кнурців була менш вразливою, знижуючись відповідно на 14,5 та 8,2 %.

Діапазон коливання концентрації ГТ у плазмі сперми кнурців протягом експериментального періоду був у межах від 0,205 до 0,482 мкмоль/л. У досліджуваній тканині спостерігалось зменшення кількості цієї речовини з 5-го до 9-го місяців розвитку в 2,4 раза. У плазмі сперми кнурців 150-, 180- та 210- денного віку після інкубування встановлено найвищу інтенсивність зменшення концентрації ГТ відповідно на 26,1; 21,1 та 34,8 %. Найбільш стійкою до цього фактора була ця тканина у 270-денному віці. Встановлено, що на 240-у добу розвитку та наступні

Таблиця 3

Динаміка перебігу процесів ВРПО в плазмі та спермі кнурців української степової породи, (M±m), n=10

Показники ВРПО	Вік тварин, місяців											
	5		6		7		8		9		10	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Плазма сперми												
СОД, у.о./мл	0,06 ±0,014	0,2 ±0,01	0,14 ±0,032	0,101 ±0,022	0,26 ±0,05	0,19 ±0,025	0,38 ±0,076	0,28 ±0,064	0,26 ±0,042	0,26 ±0,031	0,25 ±0,037	0,14 ±0,025
КТ, мкмоль Н ₂ О ₂ /хв.мл	25,78 ±4,29	20,63 ±5,01	37,71 ±3,88	25,97 ±3,33	40,03 ±4,28	33,37 ±3,13	42,35 ±4,52	32,7 ±3,40	41,32 ±4,98	35,30 ±5,24	43,31 ±6,66	39,33 ±5,52
ГТ, мкмоль/л	0,482 ±0,069	0,353 ±0,075	0,343 ±0,062	0,274 ±0,054	0,29 ±0,035	0,16 ±0,033	0,229 ±0,051	0,189 ±0,05	0,205 ±0,035	0,16 ±0,037	0,211 ±0,039	0,174 ±0,035
АК, мкмоль/л	62,44 ±5,08	48,80 ±4,35	50,23 ±4,04	44,33 ±3,93	45,47 ±2,53	44,74 ±6,27	43,1 ±5,00	33,55 ±3,05	36,87 ±3,57	32,08 ±4,48	40,27 ±5,94	37,75 ±6,49
ДАК, мкмоль/л	57,88 ±6,31	46,76 ±4,34	48,26 ±1,99	43,06 ±2,90	47,85 ±4,24	32,73 ±2,78	45,46 ±4,8	34,88 ±3,37	42,99 ±4,23	33,97 ±4,77	36,28 ±4,58	22,71 ±2,37
ДК, мкмоль/л	0,35 ±0,03	0,55 ±0,063	0,40 ±0,04	0,61 ±0,075	0,48 ±0,04	0,6 ±0,059	0,56 ±0,04	0,67 ±0,1	0,63 ±0,09	0,84 ±0,164	0,71 ±0,11	0,93 ±0,11
МДА, мкмоль/л	1,08 ±0,22	2,28 ±0,39	2,76 ±0,36	6,01 ±0,40	7,69 ±0,61	12,14 ±0,61	20,75 ±1,81	21,04 ±1,68	21,88 ±1,89	23,10 ±1,75	28,97 ±3,29	24,35 ±1,55
Сперма												
СОД, у.о./мл	0,09 ±0,017	0,023 ±0,008	0,2 ±0,047	0,06 ±0,017	0,29 ±0,055	0,164 ±0,045	0,43 ±0,094	0,33 ±0,071	0,33 ±0,045	0,36 ±0,046	0,31 ±0,062	0,35 ±0,08
КТ, мкмоль Н ₂ О ₂ /хв.мл	26,63 ±4,02	7,17 ±1,99	32,67 ±4,27	15,28 ±2,72	36,34 ±3,19	23,31 ±3,99	36,70 ±3,57	35,47 ±2,79	37,96 ±4,97	39,30 ±5,06	41,32 ±6,31	44,37 ±5,95
ГТ, мкмоль/л	0,588 ±0,085	0,477 ±0,095	0,463 ±0,06	0,414 ±0,079	0,291 ±0,039	0,265 ±0,064	0,302 ±0,061	0,242 ±0,058	0,263 ±0,037	0,223 ±0,029	0,235 ±0,039	0,182 ±0,045
АК, мкмоль/л	61,43 ±5,46	47,61 ±4,21	49,04 ±4,21	46,31 ±4,13	42,73 ±2,27	43,89 ±5,63	41,61 ±4,19	32,78 ±3,20	35,50 ±3,21	31,41 ±5,13	35,16 ±4,69	28,22 ±5,10
ДАК, мкмоль/л	57,88 ±6,61	51,01 ±5,64	46,94 ±2,16	45,55 ±1,82	48,30 ±4,17	36,61 ±4,71	44,40 ±5,08	40,35 ±3,95	43,28 ±4,16	37,38 ±4,32	41,21 ±5,78	35,84 ±3,52
ДК, мкмоль/л	0,42 ±0,04	0,65 ±0,04	0,54 ±0,06	0,76 ±0,05	0,63 ±0,05	0,72 ±0,05	0,73 ±0,08	0,94 ±0,06	0,91 ±0,09	1,07 ±0,11	1,05 ±0,09	1,4 ±0,19
МДА, мкмоль/л	1,20 ±0,16	4,21 ±0,36	3,85 ±0,42	7,21 ±0,88	12,02 ±0,96	15,32 ±0,88	27,19 ±3,14	32,09 ±0,99	25,39 ±4,56	31,25 ±3,13	37,86 ±3,84	39,31 ±2,68

Примітка. 1 – до інкубації; 2 – після інкубації.



періоди, інтенсивність зниження рівня цього метаболіту після інкубування було менш значним ніж у 5-, 6- та 7- місячному віці.

У плазмі сперми кнурів протягом експериментального періоду вміст АК був у діапазоні 36,87 ... 62,44, а ДАК – 36,28...57,88 мкмоль/мл. У цілому з 150-ї до 300-ї доби життя спостерігалось зменшення кількості АК і ДАК відповідно на 35,5 ($P < 0,01$) і 37,3 % ($P < 0,01$). Найбільш суттєвий спад концентрації АК відбувався протягом 6-го місяця розвитку на 19,5, а кількість ДАК – 16,4 %. У досліджуваній тканині кнурів, що піддавали інкубації, вміст АК упродовж експериментального періоду знижувався в межах 2 – 21,8 %, а ДАК на 10,7 - 37,4 %.

Концентрація ДК у плазмі сперми кнурців, які росли, коливалась у межах від 0,35 до 0,71 мкмоль/л, де мінімальний показник зареєстровано у 5-місячних тварин, а максимальний – 10-місячному віці, з різницею між ними в 2 рази ($P < 0,001$), що вказує на насичення первинними метаболітами пероксидації ліпідів цієї тканини зі збільшенням віку.

Необхідно зазначити, що суттєве підвищення вмісту ДК відбувалось протягом 7-го і 8-го місяців розвитку кнурців відповідно на 16,7 і 14,3 % з наступним плато до закінчення 9-го місяця, але протягом 10-го місяця розвитку встановлено підвищення їх кількості на 14,8 %. Інкубування плазми сперми кнурців суттєво впливало на рівень досліджуваного метаболіту, який підвищувався в таких межах: 16,5 % (240-ва доба), 36,4 % (150-та доба розвитку), що свідчить про істотну дію цього процесу на перебіг ВРПО. Слід зазначити, що найбільша дія цього фактора спостерігалась при досягненні 8- і 9-місячного віку, а найменша в 10 – місячному віці кнурців.

У плазмі сперми кнурців різних генотипів упродовж досліджуваного періоду концентрація МДА була в широких межах 1,08-28,97 мкмоль/л, зростаючи зі збільшенням віку. Кількість цього метаболіту найбільш інтенсивно підвищувалась упродовж 6 , 7 і 8 – го місяців розвитку в кнурців відповідно в 2,6; 2,8 ($P < 0,01$); 2,7 рази ($P < 0,001$).

Встановлено, що в спермі кнурців, які ростуть, активність СОД змінювалась у таких межах від 0,09 до 0,43 у.о./мл, де мінімальний показник зареєстровано на 150-ту, а максимальний на 240-у добу розвитку, що відображає загальне зростання рівня цього ензиму протягом зазначеного періоду. У подальшому до закінчення експерименту рівень СОД дещо знижувався у межах 23,2 – 28 % порівняно з 8 місяцем розвитку. У цілому за період дослідження в цій тканині кнурів виявлено збільшення активності СОД в 3,4 рази ($P < 0,01$).

Рівень СОД у спермі кнурців після її інкубування знижувався, але цей вплив зменшувався зі збільшенням їх віку. Так, у 5-місячному віці активність цього ферменту у проінкубованій тканині знижувалась на 74,5 %, а по досягненні ними 8-місячного віку зменшення її рівня становило лише 23,3 %. По закінченні 9-го і 10-го місяців розвитку в проінкубованій спермі активність СОД зростала відповідно на 8,4 і 11,5 %.

Отримані дані свідчать про лабільність рівня КТ у спермі кнурців, який змінювався з 26,63 до 41,32 мкмоль H_2O_2 /хв.мл, де перша величина зареєстрована на 150-у, а друга на 300-у добу розвитку. У цілому загальною закономірністю зміни цього ензиму було зростання активності від 5-го до 7-го місяців розвитку на 14,9 %, з наступним підвищенням . Істотний спад активності КТ у цій тканині відбувався після її інкубування зменшуючись на 73 (150-та) ($P < 0,01$), 53,2 (180-та) і 35,8 % (210-та доба розвитку) ($P < 0,05$). У більш дорослому віці на 300-у добу життя, спостерігалось підвищення рівня досліджуваного ензиму після інкубації на 4,8 %.



Вміст ГТ у спермі кнурців знаходиться в межах від 0,235 до 0,59 мкмоль/л. Насиченість цим метаболітом у досліджуваній тканині протягом експерименту зменшилась в 2,5 рази ($P < 0,001$). Особливістю динаміки цієї речовини було зниження її кількості протягом 6-го і 7-го місяців відповідно на 11,2 та 37,1 %, із наступним плато упродовж 8-го місяця та подальшим зменшенням до закінчення експерименту. Процес інкубування зразків сперми суттєво знижував концентрацію ГТ у кнурців 5-, 6- і 7-місячного віку відповідно на 19,8; 10,6 та 8 %. У цілому в подальші періоди вплив температурного фактора на кількість даного метаболіту зменшувався.

У спермі молодих кнурців концентрація АК коливалась від 35,16 до 63,43 мкмоль/л, а ДАК від 41,21 до 57,88 мкмоль/л, залежачи від віку. Мінімальним вмістом АК у досліджуваній тканині упродовж експериментального періоду характеризувались тварини у віці 10 місяців, а максимальним у 5 місяців розвитку. Дані експерименту вказують на те, що зі збільшенням віку кнурців насиченість сперми аскорбіновими кислотами зменшується у відновленій формі в 1,7, а окисленої у 1,4 рази. Встановлено, що найбільш істотний спад концентрації АК на 20,2 % відбувся протягом 6-го місяця життя, з наступним плато впродовж 7-го і 8-го місяців розвитку. Проте вже протягом останніх двох місяців експерименту спостерігалось подальше зменшення її концентрації на 14,7 %. Рівень ДАК протягом дослідного періоду поступово знижувався. Кількість окисленої форми аскорбінової кислоти порівняно з відновленою була вищою від 6-го до 10-го місяців розвитку. Інкубування зразків сперми кнурців призводило до зниження кількості аскорбінових кислот. Це підтверджують отримані дані, а саме на 150-ту добу розвитку концентрація АК і ДАК зменшувалась відповідно на 16,1 і 11,8 %.

Вміст ДК у спермі кнурців протягом досліджуваного періоду був лабільним і коливався у діапазоні 0,42 - 1,05 мкмоль/л. Перший показник встановлено на початку (150-та доба), другий по закінченні (300-та доба) експерименту, що свідчить про зростання концентрації цих речовин у 2,5 рази ($P < 0,001$). Особливістю динаміки ДК під час дослідження було зростання кількості цих речовин відносно початку досліджень на 22,2 (180-а доба) і 33,3 % (210-а доба життя) ($P < 0,05$). Упродовж 8, 9 і 10-го місяців розвитку концентрація вивчаемого метаболіту в тварин суттєво не змінювалась. Процес інкубування сперми суттєво впливав на рівень ДК, їх вміст зростав у 150-денних тварин на 35,4 ($P < 0,01$), 180-денних – 29, 210-денних 12,5, 240-денних 12,3, а у 300-денних 25 %.

Встановлено, що в спермі кнурців у залежності від віку кількість МДА становила від 1,2 до 37,86 мкмоль/л. Мінімальний показник виявлено на 5-й місяць, а максимальний на 10-й місяць життя. Вміст цієї речовини змінювався таким чином: стрімке збільшення концентрації в 3,2 рази ($P < 0,001$) упродовж 6-го місяця, із подальшим істотним її підвищенням протягом 7-го місяця життя в 3,1 рази ($P < 0,001$). Така закономірність спостерігалась упродовж 8, 9 і 10-го місяців розвитку до максимальних значень. Інкубування зразків сперми кнурців стимулювало перебіг вільнорадикального окислення, що підтверджується підвищенням концентрації МДА у 150-денному у 3,5 рази ($P < 0,01$) і 180-денному віці у 1,9 рази ($P < 0,001$). Однак, зі збільшенням віку тварин дія цього фактора зменшувалась.

Висновки:

1. Рівень спермопродукції в молодих кнурців української степової породи від 5-го до 8-го місяців життя істотно збільшується. Одержання двох еякулятів на тиждень від кнурців 9- і 10-місячного віку, в основному, не викликає зниження якості спермопродукції.

2. У період становлення статевої функції в плазмі та спермі молодих кнур-



ців цієї породи процеси ВРПО прискорюються, рівень антиоксидантних ензимів (СОД і КТ) зростає, а неензимних антиоксидантів (ГТ, АК і ДАК) знижується. Найбільш інтенсивно ці процеси відбуваються протягом 5, 6 та 7-го місяців їх розвитку.

3. Інкубування плазми і сперми призводить до суттєвого прискорення протікання процесів ВРПО та виснаження системи АОЗ, особливо вразливими до дії температурного фактора ці тканини були у 5-, 6- і 7-місячних кнурців.

4. Перебіг процесів ВРПО в плазмі сперми кнурців порівняно зі спермою відбувається менш інтенсивно, але у першій тканині рівень активності КТ і насичення АК був вищий.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження з вивчення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у спермі кнурців української степової породи будуть спрямовані на розробку засобів регуляції їх репродуктивної здатності.

Бібліографічний список

1. James P. S. Lipid dynamics in the plasma membrane of fresh and cryopreserved human spermatozoa / P. S. James, C. A. Wolfe, A. Mackie, S. Ladha // Human Reproduction. – 1999. – Vol. 14, № 7. – P. 1827 – 1832.

2. Storey B. T. Human sperm glutathione reductase activity in situ reveals limitation in the glutathione antioxidant defense system due to supply of NADPH / B. T. Storey, J. G. Alvarez, K. A. Thomson // Molecular Reproduction and Development. – 1998. – Vol.49, № 4. – P. 400 – 407.

3. Yeung C. H., Cooper T. G., Geyter M. D., Rolf C, Kamischke A. Studies on the origin of redox enzymes in seminal plasma and their relationship of in-vitro fertilization / C. H. Yeung, T. G. Cooper, M. D. Geyter, C. Rolf, A. Kamischke // Molecular Human reproduction. – Vol. 4. P. 835 – 839.

4. Sharma R. K. The reactive oxygen species – total antioxidant capacity score is a new measure of oxidative stress to predict male infertility / R. K. Sharma, F. F. Pasqualotto, D. R. Nelson // Human Reproduction. – 1999. – Vol. 14, – № 11. – P. 2801 – 2807.

5. Sikka S. C. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function / S. C. Sikka // Front. Biosci. – 1996. – № 1. – P.78 – 86.

6. Okada H. Formation of reactive oxygen species by spermatozoa from asthenospermic patients: response to treatment with pentoxifylline / H. Okada, N. Tatsu-mi, M. Kanzaki, M. Fujisawa, S. Arakawa, S. Kamidono // J. Urol. – 1997, – Vol. 157(6). – P. 2140 – 2146.

7. Maarten T. Glutathione and glutathione S – transferases A1 – 1 and P1 – 1 in seminal plasma may play a role in protecting against oxidative damage to spermatozoa / T. Maarten, M. Raijmakers, M. Hennie, M. Roelofs // Fertility and Sterility – 2003. – Vol. 79, – № 1. – P. 169 – 172.

8. Gil-Guzman L. E. Hydrogen peroxide is involved in hamster sperm capacitation in vitro / L. E. Gil-Guzman, M. C. Ollero, M. C. Lopez // Human Reproduction. – 2001. – Vol.16. – № 9. –P. 1922 – 1930.

9. Rakesh K. The reactive oxygen species – total antioxidant capacity score is a new measure of oxidative stress to predict male infertility / K. Rakesh, F. Pasqualotto, D. Nelson, K. Rakesh, F. Pasqualotto, D. Nelson // Human Reproduction. – 1999. – Vol. 14, – № 11. – P. 2801 – 2807.

10. Smith R. Total antioxidant capacity of human seminal plasma / R. Smith, D. Vantman, J. Ponce, J. Escobar // Human Reproduction. – Vol. 11. – P. 1655 – 1660.



11. Стальная И. Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / И. Д. Стальная // В кн.: Современные методы биохимии. – Медицина. – 1977. – С. 63 – 64.

12. Владимиров Ю. А. Перекисное окисление в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчков. – М.: Наука, – 1972. – С. 272.

13. Посібник з експериментально – клінічних досліджень з біології та медицини. За редакцією І. П. Кайдашева. – 1996. – Полтава. – С. 123 – 128 с.

14. Брусов О. С., Герасимов А. М., Панченко Л. Ф. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина / О. С. Брусов, А. М. Герасимов, Л. Ф. Панченко // Бюл. эксп. биол. и мед. – 1976. – №1. – С. 33–35.

15. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев. // Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С. 16 – 19.

16. Elmann G. L. Tissue sulphhydryl groups / Elmann G. L. // Arch. Biochem. – 1959. – №82. – P. 70 – 77.

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ ГОМЕОСТАЗ В ПЛАЗМЕ И СПЕРМЕ ХРЯЧКОВ УКРАИНСКОЙ СТЕПНОЙ БЕЛОЙ ПОРОДЫ

Стояновский В. Г., Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С. З. Гжицкого

Шостя А. М., Усенко С. О., Институт свиноводства и агропромышленного производства НААН

В статье представлены отдельные особенности прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза в плазме и сперме хрячков украинской степной белой породы в период становления половой функции. Установлено, что уровень спермопродукции в молодых хрячков от 5-го до 8-го месяцев жизни существенно увеличивается. Получение по два эякулята на неделю от хрячков 9-10-месячного возраста, в основном, не вызывает снижения качества спермопродукции. В период становления половой функции в плазме и сперме молодых хрячков процесс СРПО ускоряется, уровень антиоксидантных энзимов (СОД КТ) возрастает, а неэнзимных антиоксидантов (ГТ, АК и ДАК) снижается. Наиболее интенсивно эти процессы происходят в течение 5, 6 и 7-го месяцев их развития. Инкубирование плазмы и спермы приводит к существенной интенсификации протекания процессов СРПО и истощению системы АОЗ, особенно чувствительны эти ткани к действию температурного фактора были в 5-, 6- и 7-месячных хрячков. Протекание процессов СРПО в плазме спермы хрячков сравнительно со спермой происходит менее интенсивно, но в первой ткани уровень активности КТ и насыщения АК был более высоким.

Ключевые слова: хряки, сперма, прооксидантно-антиоксидантный гомеостаз.

PROOXIDANT AND ANTIOXIDANT HOMEOSTASIS IN PLASMA AND SPERM OF BOARS OF THE UKRAINIAN STEPPE WHITE BREED

V. Stojanovski, Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology S.Z. Gzhytsky

A. Shostia, S. Usenko, Pig Breeding and agroindustrial production of NAAS

In the article it is lit up some peculiarities of prooxidant and antioxidant homeostasis in plasma and sperm of boars during the period of a formation of sexual function. It was determined that a level of sperm production in young boars from 5-th to 8-th



month of a life substantially increase. Receiving two ejaculates a week from boars of 9-th – 10-th month age mainly doesn't cause lowering the quality of sperm production. During the period of a formation of sexual function in plasma and sperm of young boars, the processes of FRPO are accelerated, a level of antioxidant enzymes (SOD and CT) increasing, but not enzymes antioxidants (CT, AA and DC) lowering. The most intensively these processes occur during 5-th, 6-th and 7-th months of their development. The incubation of plasma and sperm causes to the essential increasing processes FRPO and the exhaustion of a system A03, especially these tissues were sensitive to the action of a temperature factor in 5-th, 6-th and 7-th months of young boars.

The course of processes FRPO in plasma of sperm in young boars in comparison with sperm occur less intensively, but the level of the activity of CT and the saturation of AA and DC is higher in the first tissue.

Key words: boars, sperm, prooxidant and antioxidant homeostasis.

УДК:57.08:599.323:636.028:611.013.1

ВІКОВІ ЗМІНИ АНДРОГЕНІЗАЦІЇ ОРГАНІЗМУ У САМЦІВ ЩУРІВ

Щербак О. В., к. с.-г. н.

Харківська державна зооветеринарна академія

Бречка Н. М., к. б. н.

Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського

У досліді використано 60 щурів популяції Вістар, які розділені на 8 вікових груп: 2,5; 3,5; 6; 12; 18; 24; 30 та 36 місяців. У роботі було визначено рівень андрогенної насиченості організму самців щурів різних вікових категорій. Встановлено, що починаючи з пізнього зрілого періоду життя, у самців щурів спостерігається поступове згасання рівня андрогенізації організму, але повного згасання не відбувається.

Ключові слова: андрогенна насиченість, секрет передміхурової залози, щури.

Чоловіче безпліддя являє собою не тільки медичну, але й велику соціальну проблему.

За даними ВООЗ кількість безплідних шлюбів становить 10-15 %, а згідно з деякими епідеміологічними дослідженнями їх кількість варіює від 8 до 29 % та немає тенденції до зниження [1, 2, 3, 4]. Звертає на себе увагу той факт, що за останніми даними чоловічій фактор безпліддя починає домінувати над жіночим. За останні 20 років він змінився з 30 % до 50 % и продовжує зростати [5, 6, 7, 8].

Зменшити відсоток таких шлюбів сучасна медицини може за рахунок допоміжних репродуктивних біотехнологій. Якість сперми є одним із факторів, які впливають на ефективність методів допоміжної репродукції людини. У свою чергу вона залежить як від способу життя чоловіка, так і суто фізіолого-біологічних факторів. Одним із яких є його вік. Літературні джерела містять достатньо суперечливі дані.

Тому, метою нашого дослідження було визначення рівня андрогенної насиченості організму самців щурів різних вікових категорій.

Матеріали і методи досліджень. У роботі використано 60 самців щурів популяції Вістар. Цей вид тварин використовувався через те, що перетворення