

ЗВ'ЯЗОК МІЖ ФІЗІОЛОГІЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ ЕЯКУЛЯТІВ ТА ОКИСНИМИ ПРОЦЕСАМИ У СПЕРМІ БУГАЇВ

С. Й. Кава¹, канд. вет. наук,
І. М. Яремчук², канд. с.-г. наук,
Н. В. Кузьміна², канд. б. наук
Д. Д. Остапів², доктор с.-г. наук

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С.З. Гжицького
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна

²Інститут біології тварин НААН
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

В еякулятах протікають процеси окиснення, які зумовлені як використанням субстратів сперміями для ресинтезу АТФ, так і неконтрольованими процесами руйнування протеїнів, ліпідів та інших сполук, які супроводжуються як поглинанням, так і виділенням кисню. В зв'язку з цим вивчали кореляції між фізіологічними характеристиками еякулятів та дихальною активністю й відновною здатністю сперми бугаїв. Встановлено, що еякуляти бугаїв характеризуються об'ємом $4,3 \pm 0,18$ мл та концентрацією сперміїв $1,09 \pm 0,11 \times 10^9$ клітин /мл і проявляють дихальну активність $13,3 \pm 0,62$ нг-атом $O/xv \times 0,1$ мл сперми та відновну здатність - $1,54 \pm 0,14$ мкг $K_3[Fe(CN)_6]/xv \times 0,1$ мл сперми. Виявлено, що між об'ємом еякуляту та дихальною активністю сперми існує слабкої сили негативний зв'язок ($\eta = 0,202$), а відновною здатністю в присутності калію ферриціаніду - позитивний ($\eta = 0,230$). Концентрація сперміїв в еякуляті позитивно корелює зі споживанням кисню спермою як без використання акцептора електронів ($\eta = 0,296$), так і в присутності калію ферриціаніду ($\eta = 0,395$). Концентрація сперміїв зі слабкою силою корелює з відновною здатністю сперми без використання калію ферриціаніду ($\eta = 0,222$), а за використання позаклітинного акцептора електронів – криволінійно з середньою силою ($\eta = 0,331$) з мінімальною величиною позаклітинного транспорту електронів при $0,80 - 1,20 \times 10^9$ сперміїв/мл в еякуляті.

Ключові слова: ДИХАЛЬНА АКТИВНІСТЬ, ВІДНОВНА ЗДАТНІСТЬ, СПЕРМІЇ, ЕЯКУЛЯТИ, БУГАЇ.

Після еякуляції, густа маса сперміїв, розріджена секретами додаткових статевих залоз, забезпечується субстратами окиснення і статеві клітини набувають здатність до прямолінійно поступального руху. Енергію для руху спермії бугаїв отримують шляхом використання присутніх в плазмі сперми цукрів, ліпідів та білків, а одним із основних біохімічних процесів, за рахунок якого ресинтезується АТФ, є дихання [3, 5]. При цьому виявлено, що інтенсивність використання субстратів окремими із ланок ланцюга дихання мітохондрій є маркерами фізіологічних якостей і запліднювальної здатності статевих клітин [1]. Поряд з використанням субстратів сперміями в еякулятах протікають неконтрольовані процеси окиснення протеїнів, ліпідів та інших сполук, які можуть супроводжуватися як поглинанням, так і виділенням кисню.

Мета роботи — вивчити кореляції між фізіологічними характеристиками еякулятів та дихальною активністю й відновною здатністю сперми бугаїв.

Матеріали і методи. Досліджували еякуляти бугаїв, які отримували на штучну вагіну

з режимом використання плідників дуплетна садка два рази на тиждень. Для забезпечення вірогідності та об'єктивності результатів дослідження проводили систематично, з інтервалом 10 - 14 днів.

Вивчали показники якості еякулятів: фізіологічні - об'єм еякуляту (мл) і концентрацію статевих клітин (10^9 /мл) за допомогою фотоелектроколориметра; біохімічні - дихальну активність – полярографічно (нг-атом O/хв \times 0,1 мл сперми (С)) у термостатованій комірці (температура 38,5 $^{\circ}$ С) і відновну здатність - потенціометрично (фериціанід калію – 10^{-4} М; мкг перетвореного $K_3[Fe(CN)_6]$ /хв \times 0,1 мл С; мкг $K_3 \dots$ /хв \times 0,1 мл С) з використанням системи відкритих мікроелектродів [4]. Статистичний аналіз отриманого матеріалу проведено за Плохінським М.О. (1969)[2].

Результати й обговорення. Встановлено, що еякуляти бугаїв характеризуються об'ємом $4,3 \pm 0,18$ мл та концентрацією спермійів $1,09 \pm 0,11 \times 10^9$ клітин /мл і проявляють дихальну активність $13,3 \pm 0,62$ нг-атом O/хв \times 0,1мл С та відновну здатність - $1,54 \pm 0,14$ мкг $K_3 \dots$ /хв \times 0,1мл С. Вивченням кореляцій між об'ємом еякуляту та досліджуваними біохімічними показниками встановлено, що при об'ємі до 4,0 мл споживання кисню спермою високе ($13,3 - 14,1$ нг-атом O/хв \times 0,1мл С) і знижується на 13,7% при збільшенні до 6,0 мл (табл. 1).

Таблиця 1

Зв'язок об'єму еякуляту з дихальною активністю сперми

Досліджувані показники	Об'єм еякуляту, мл								η
	2,0 <		2,0 - 4,0		4,1- 6,0		> 6,0		
	n	M \pm m	n	M \pm m	n	M \pm m	n	M \pm m	
Дихальна активність, нг-атом O/хв \times 0,1мл С									
сперми	8	13,3 \pm 1,21	36	14,1 \pm 0,90*	45	12,4 \pm 0,83	40	10,8 \pm 1,21	0,202
з $K_3[Fe(CN)_6]$	8	10,9 \pm 1,50	36	11,4 \pm 1,12	43	9,8 \pm 0,60	40	11,0 \pm 1,33	0,120
Відновна активність, мкг $K_3 \dots$ /хв \times 0,1мл С									
сперми	19	0,6 \pm 0,12	42	0,5 \pm 0,09	27	0,6 \pm 0,08	7	0,5 \pm 0,20	0,135
з $K_3[Fe(CN)_6]$	19	0,8 \pm 0,14	46	1,8 \pm 0,32**	28	1,9 \pm 0,54*	8	2,5 \pm 0,70**	0,230

Примітка: в цій та наступній таблицях різниця статистично вірогідна порівняно до мінімальної величини значення: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

При максимальній величині фізіологічного показника (більше 6,0 мл) дихальна активність сперми найнижча - $10,8 \pm 1,2$ нг-атом O/хв \times 0,1мл С. Отже, між об'ємом еякуляту та дихальною активністю сперми існує обернений зв'язок. Кореляційне відношення за об'ємом еякуляту для дихальної активності сперми $\eta = 0,202$.

Додавання акцептора електронів ($K_3[Fe(CN)_6]$) до свіжоотриманих еякулятів нівелювало різницю у дихальній активності сперми в зв'язку з об'ємом еякуляту. Величина показника знаходилась в межах $9,8 \pm 0,60 - 11,4 \pm 1,12$ нг-атом O/хв \times 0,1мл С.

Встановлену залежність між об'ємом еякуляту і дихальною активністю сперми можна пояснити тим, що з одного боку, основна частина кисню споживається сперміями, густа маса яких після еякуляції, розріджується секретами додаткових статевих залоз і, відповідно, проявляється тенденція до зниження величини біохімічного показника.

При вивченні кореляцій між об'ємом еякуляту та відновною здатністю сперми встановлено, що нагромадження відновних еквівалентів у спермі без додавання акцептора електронів не залежить від зміни величини фізіологічного показника. Відновна здатність знаходиться в межах $0,5 - 0,6$ мкг $K_3 \dots$ /хв \times 0,1 мл С. Проте, додавання ферриціаніду калію виявляє різницю у відновній здатності сперми, яка низька ($0,8 \pm 0,14$ мкг $K_3 \dots$ /хв \times 0,1 мл С) при мінімальному об'ємі еякуляту (менше 2,0 мл), зростає більше ніж у два рази ($p < 0,01$) при 2,0 – 4,0 мл і досягає максимуму ($2,5 \pm 0,70$ мкг $K_3 \dots$ /хв \times 0,1 мл С) при величині фізіологічного показника більше 6,0 мл. Кореляційне відношення за об'ємом еякуляту для

відновної здатності сперми $\eta = 0,230$. Таким чином, між об'ємом еякуляту та відновною активністю сперми в присутності калію ферриціаніду встановлена позитивна кореляція.

Вивченням кореляцій між концентрацією спермій та споживанням кисню спермою виявлено позитивну залежність. При цьому, за концентрації менше $0,80 \times 10^9$ /мл споживання кисню низьке ($11,8 \pm 0,71$ нг-атом $O/xv \times 0,1$ мл С), зростає на 10,1% при збільшенні до $1,20 \times 10^9$ /мл і досягає максимальної величини ($18,0 \pm 2,44$ нг-атом $O/xv \times 0,1$ мл С) при концентрації більше $1,20 \times 10^9$ спермій/мл, що вище вихідного значення на 34,5% ($p < 0,05$; табл. 2).

Таблиця 2

Зв'язок концентрації спермій з дихальною активністю сперми бугаїв

Досліджувані показники	Концентрація спермій, 10^9 /мл						η
	0,80 <		0,80 - 1,20		> 1,20		
	n	$M \pm m$	n	$M \pm m$	n	$M \pm m$	
Дихальна активність, нг-атом $O/xv \times 0,1$ мл С							
Сперми	24	$11,8 \pm 0,71$	60	$13,0 \pm 0,72$	8	$18,0 \pm 2,44^*$	0,296
з $K_3[Fe(CN)_6]$	24	$9,9 \pm 0,90$	58	$10,0 \pm 0,50$	8	$17,3 \pm 3,71^*$	0,395
Відновна здатність, мкг $K_3 \dots /xv \times 0,1$ мл С							
Сперми	25	$0,5 \pm 0,08$	63	$0,5 \pm 0,06$	7	$0,8 \pm 0,11^*$	0,222
з $K_3[Fe(CN)_6]$	25	$2,4 \pm 0,40^{**}$	63	$1,3 \pm 0,21$	7	$3,3 \pm 0,61^{**}$	0,331

Подібну закономірність виявлено за присутності в еякулятах акцептора електронів – ферриціаніду калію. Низькою дихальною активністю ($9,9 \pm 0,90$ нг-атом $O/(xv \times 0,1$ мл С) характеризуються еякуляти з концентрацією спермій менше $0,80 \times 10^9$ /мл. При збільшенні концентрації статевих клітин до $1,20 \times 10^9$ /мл дихальна активність майже не змінюється ($10,0 \pm 0,50$ нг-атом $O/xv \times 0,1$ мл С), а при величині фізіологічного показника більше $1,20 \times 10^9$ /мл зростає до $17,3 \pm 3,71$ нг-атом $O/xv \times 0,1$ мл С, що вище вихідного значення 42,8% ($p < 0,05$). Таким чином, кореляційне відношення за концентрацією спермій для дихальної активності сперми $\eta = 0,296$, з додаванням акцептора електронів - $\eta = 0,395$. Існування позитивної залежності між концентрацією спермій і дихальною активністю сперми свідчить, що статеві клітини бугаїв є основним споживачем Оксигену в еякуляті. При цьому, використання позаклітинного акцептора електронів нормалізує процеси використання субстратів і їх окиснення в мітохондріях спермій із ресинтезом АТФ.

Вивченням зв'язку між концентрацією спермій і відновною здатністю сперми виявлено низьку величину біохімічного показника ($0,5$ мкг $K_3 \dots /xv \times 0,1$ мл С) за концентрації статевих клітин до $1,20 \times 10^9$ /мл і вищу на 37,5% ($0,8 \pm 0,11$ мкг $K_3 \dots /xv \times 0,1$ мл С) при концентрації більше $1,20 \times 10^9$ /мл. Додавання акцептора електронів також виявило відмінності відновної здатності сперми відносно концентрації спермій у еякуляті. Зокрема, максимальним значенням ($3,3 \pm 1,31$ мкг $K_3 \dots /xv \times 0,1$ мл С) характеризуються еякуляти з концентрацією більше $1,20 \times 10^9$ /мл, нижчим на 27,3 % з концентрацією менше $0,80 \times 10^9$ /мл і найнижчим ($1,3 \pm 0,21$ мкг $K_3 \dots /xv \times 0,1$ мл С) при $0,80 - 1,20 \times 10^9$ спермій/мл. Наведені результати переконують, що в еякулятах з концентрацією менше $0,80$ та більше $1,20 \times 10^9$ спермій /мл відбувається інтенсивне переміщення електронів зі статевих клітин у зовнішнє середовище, що може свідчити як про дефіцит кисню в спермі, так і про нагромадження продуктів окиснення внаслідок розчеплення цукрів чи інших субстратів.

ВИСНОВКИ

1. Еякуляти бугаїв характеризуються об'ємом $4,3 \pm 0,18$ мл та концентрацією спермій $1,09 \pm 0,11 \times 10^9$ клітин /мл і проявляють дихальну активність $13,3 \pm 0,62$ нг-атом $O/xv \times 0,1$ мл

сперми і відновну здатність - $1,54 \pm 0,14$ мкг $K_3 \dots / хв \times 0,1$ мл сперми.

2. Між об'ємом еякуляту та дихальною активністю сперми існує слабкої сили негативний зв'язок ($\eta = 0,202$), а відновною здатністю в присутності калію ферриціаніду - позитивний ($\eta = 0,230$).

3. Концентрація сперміїв в еякуляті позитивно корелює зі споживанням кисню спермою як без використання акцептора електронів ($\eta = 0,296$), так і в присутності калію ферриціаніду ($\eta = 0,395$).

4. Концентрація сперміїв зі слабкою силою корелює з відновною здатністю сперми без використання калію ферриціаніду ($\eta = 0,222$), а за використання позаклітинного акцептора електронів – криволінійно з середньою силою ($\eta = 0,331$) з мінімальною величиною позаклітинного транспорту електронів при $0,80 - 1,20 \times 10^9$ сперміїв/мл в еякуляті.

Перспективи подальших досліджень. Вивчити кореляції між фізіологічними показниками якості еякулятів й інтенсивністю транспорту електронів через ланки ланцюга дихання мітохондрій сперміїв бугаїв.

CONNECTION BETWEEN EJACULATE PHYSIOLOGICAL INDEXES AND OXIDATIVE PROCESSES IN BULL SPERM

S. Y. Kava¹, I. M. Yaremchuk², N. V. Kuzmina², D. D. Ostapiv²

¹Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology
named after S. Z. Gzhytskiy
50, Pekarska str., Lviv, 79010, Ukraine

²Institute of Animal Biology of NAAS
38, V. Stusa str., Lviv, 79034, Ukraine

S U M M A R Y

In ejaculates oxidation processes occur, that are triggered by substrate utilization for ATP resynthesis and uncontrolled destruction of proteins, lipids and other structures that is followed by absorption and release of oxygen. Therefore we studied the correlation between physiological ejaculate characteristics and respiratory activity and redox abilities of bull sperm. It was found that bull semen is characterized by volume $4,3 \pm 0,18$ ml and sperm concentration $1,09 \pm 0,11 \times 10^9$ cell / ml and respiratory activity – $13,3 \pm 0,62$ ng atom O / min $\times 0,1$ ml of semen and redox ability - $1,54 \pm 0,14$ mg $K_3[Fe(CN)_6]$ / min $\times 0,1$ ml of semen. Between the volume of ejaculate and sperm respiration activity exists a negative relationship with a weak force ($\eta = 0,202$), and redox ability in the presence of potassium ferrocyanide is positive ($\eta = 0,230$). The concentration of spermatozoa in the ejaculate is positively correlated with the consumption of oxygen without using electron acceptor ($\eta = 0,296$), and in the presence of potassium ferrocyanide ($\eta = 0,395$). The concentration of spermatozoa with weak strength correlates with the ability of sperm replacement without using potassium ferrocyanide ($\eta = 0,222$), and the use of extracellular electron acceptor - with an average power curvilinear ($\eta = 0,331$) with a minimum value extracellular electron transport at $0.80 - 1.20 \times 10^9$ spermatozoa / ml in the ejaculate.

Keywords: RESPIRATORY ACTIVITY, RESTORATION ABILITY, SPERM, EJACULATES, BULLS.

СВЯЗЬ МЕЖДУ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ЭЯКУЛЯТОВ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫМИ ПРОЦЕССАМИ В СПЕРМЕ БЫКОВ

С. И. Кава¹, И. М. Яремчук², Н. В. Кузьмина², Д. Д. Остапів²

¹Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З. Гжицького
ул. Пекарская, 50, г. Львов, 79010, Украина

²Институт биологии животных НААН
ул. В. Стуса, 38, г. Львов, 79034, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

В эякулятах протекают процессы окисления, которые обусловлены как использованием субстратов спермиями для ресинтеза АТФ, так и неконтролируемыми процессами повреждения протеинов, липидов и других веществ, которые сопровождаются как поглощением, так и выделением кислорода. В связи с этим изучали корреляции между физиологическими характеристиками эякулятов, дыхательной активностью и восстановительной способностью спермы быков. Установлено, что эякуляты быков характеризуются объёмом $4,3 \pm 0,18$ мл и концентрацией спермиев $1,09 \pm 0,11 \times 10^9$ клеток /мл и проявляют дыхательную активность $13,3 \pm 0,62$ нг-атом О/мин $\times 0,1$ мл спермы и восстановительную способность - $1,54 \pm 0,14$ мкг $K_3[Fe(CN)_6]$ /мин $\times 0,1$ мл спермы. Выявлено, что между объёмом эякулята и дыхательной активностью спермы существует слабой силы отрицательная связь ($\eta = 0,202$), а с восстановительной способностью в присутствии калия феррицианида – положительная ($\eta = 0,230$). Концентрация спермиев в эякуляте положительно коррелирует с потреблением кислорода спермой как без использования акцептора электронов ($\eta = 0,296$), так и в присутствии калия феррицианида ($\eta = 0,395$). Концентрация спермиев со слабой силой коррелирует с восстановительной способностью спермы без использования калия феррицианида ($\eta = 0,222$), а при использовании внеклеточного акцептора электронов – криволинейно с средней силой ($\eta = 0,331$) с минимальной величиной транспорта электронов из половых клеток при $0,80 - 1,20 \times 10^9$ спермиев/мл в эякуляте.

Ключевые слова: ДЫХАТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ, ВОССТАНОВИТЕЛЬНАЯ СПОСОБНОСТЬ, СПЕРМИИ, ЭЯКУЛЯТЫ, БЫКИ.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Косенко М. В. Репродуктивна функція і андрологічна диспансеризація бугаїв / М. В. Косенко, Б. М. Чухрій, І. Я Коцюмбас та ін. — Львів, 2007. — 186 с.
2. Плохинский Н. А. Руководство по биометрии для зоотехников. — М.: Колос., 1969. — 255 с.
3. Шергин Н. П. Биохимия сперматозоидов сельскохозяйственных животных / Н. П. Шергин — М.: Колос, 1967. — 239 с.
4. Штольц К. Ф. Амперометрическое определение ферроцианида в присутствии субклеточных структур / К. Ф. Штольц, И. М. Мосолова, Л. А. Дронова // Биохимические методы. — М.: Наука, 1980. — С. 147–150.
5. Яблонський В. А. Біотехнологічні і молекулярно-генетичні основи відтворення тварин / В. А. Яблонський, С. П. Хомин, В. І. Завірюха та ін. — Львів: Афіша, 2009. — 218 с.

Рецензент — О. П. Панич, к. вет. н., ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.