

УДК: 577.151.64:591.463.1

**АКТИВНІСТЬ І ВМІСТ ІЗОФОРМ ХОЛІНЕСТЕРАЗ У СПЕРМІ КНУРІВ***Н. В. Насєдкіна*

samd@inenbiol.com.ua

Інститут біології тварин НААН

Прямолінійний поступальний рух сперміїв зумовлений здатністю статевих клітин засвоювати субстрати плазми сперми і ресинтезувати АТФ. Рух сперміїв забезпечується сполуками та ензимами, які не тільки перетворюють, але й регулюють використання субстратів. До таких належить ацетилхолін і ацетилхолінстераза (АХЕ). Доведено, що ацетилхолін і АХЕ впливають на рухливість та стимулюють акросомну реакцію статевих клітин. Після еякуляції, спермії піддаються окисному тиску, що зумовлює активування вільнорадикальних процесів: окиснення ліпідних і білкових компонентів плазми сперми, а також зростання переокисного окиснення ненасичених жирних кислот мембран статевих клітин. Очевидно змінюється й активність систем, які регулюють утворення і використання енергії, в тому числі, й АХЕ. Вказані зміни призводять до зниження активності, виживання і запліднювальної здатності сперміїв.

Мета досліджень — вивчити активність та спектр ізоформ АХЕ в еякулятах кнурів.

Досліджували еякуляти кнурів, які отримували мануально з режимом використання самців одна садка два рази на тиждень. Для встановлення активності, локалізації і вмісту ізоформ АХЕ, оцінені за фізіологічними показниками (об'ємом, концентрацією і кількістю живих сперміїв) еякуляти ділили на частини: одна — цільна сперма, а друга — центрифугували при 3 тис.об./хв і отримували плазму і спермії. Вивчали в цільній спермі, плазмі і суспензії сперміїв — вміст загального білка (мг/мл), активність АХЕ і нХЕ — за швидкістю гідролізу субстратів, відповідно, ацетилхоліну і бутирилхоліну (нмоль/хв×мг протеїну), ізоформи АХЕ - електрофорезом в 7,5 % поліакриламідному гелі (ПААГ) та специфічного фарбування ізоформ ензиму. Статистичний аналіз результатів досліджень проведено за М. О. Плохінським.

Обґрунтування отриманих результатів. Активність холінстераз в свіжоотриманій спермі кнурів становлять: цільній — АХЕ  $16,3 \pm 1,44$  нмоль/хв×мг білка, нХЕ —  $6,0 \pm 0,94$  нмоль/хв×мг білка, плазмі сперми, відповідно,  $13,3 \pm 0,98$  і  $4,3 \pm 0,72$  нмоль/хв×мг білка і сперміях —  $3,0 \pm 0,47$  та  $1,2 \pm 0,15$  нмоль/хв×мг білка. Основна величина активності АХЕ еякулятів проявляється у плазмі сперми, а менша — у сперміях, відповідно, 81,6 і 18,4 %. Одночасно, нХЕ у плазмі сперми кнура становить 71,7 % і сперміях 20,0 % від загальної активності ензиму в еякулятах. Активність АХЕ у спермі кнурів реалізується 3–4 основними і 2–3 мінорними ізоформами АХЕ. В еякулятах кнура, як і в плазмі сперми вміст ізоформ поступово знижується зі збільшенням швидкості міграції протеїнів ензиму в ПААГ. Найбільше АХЕ-активних протеїнів з низькою електрофоретичною рухливістю (АХЕ1;  $30,6 \pm 0,95$  %). Зі збільшенням швидкості міграції ізоформ ензиму в ПААГ їх вміст поступово знижується і становить: АХЕ2 —  $26,7 \pm 2,50$ , АХЕ3 —  $23,5 \pm 7,35$ , АХЕ4 —  $16,8 \pm 1,89$  і АХЕ5 —  $13,1 \pm 1,35$  %.

Сперма кнура проявляє активність специфічної і неспецифічної холінстераз, відповідно, АХЕ —  $16,3 \pm 1,44$  і нХЕ —  $6,0 \pm 0,94$  нмоль/хв×мг білка. Вміст ізоформ в еякулятах, як і в плазмі сперми поступово знижується зі збільшенням швидкості міграції протеїнів ензиму в ПААГ. У сперміях кнура проявляється тільки одна ізоформа — АХЕ1.