

Шостя А.М., кандидат біологічних наук
Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ ГОМЕОСТАЗ У ПЛАЗМІ ТА СПЕРМІ КНУРЦІВ У ПЕРІОД СТАНОВЛЕННЯ СТАТЕВОЇ ФУНКЦІЇ

Рецензент – кандидат біологічних наук О.Ф. Сагло

У статті висвітлено окремі особливості прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в плазмі і спермі кнуриців у період становлення статевої функції. Встановлено, що рівень спермопродукції в молодих кнуриців від 5-го до 8-го місяця життя істотно збільшується. Одержання по два еякулята на тиждень від кнуриців 9-10 місячного віку, в основному, не викликає зниження якості спермопродукції. В 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 6-го та 7-го місяців їх розвитку. Інкубування плазми і сперми призводить до суттєвого зростання протікання процесів ВРПО та виснаження системи АОЗ, особливо вразливими ці тканини до дії температурного фактора були у 5-ти, 6-ти і 7-ми 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 та ДАК децю вищий.

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

В умовах сьогодення, широкого використання методу штучного осіменіння свиней, отримання кожної додаткової спермодози з відібраного еякуляту має суттєве економічне значення.

Комерційне використання сперми кнуриців для штучного осіменіння свиней вимагає більш раннього віку їх використання та забезпечення спермою високої якості. Це спонукає до розробки ефективних методів прогнозування цих показників, особливо в аспекті окислювального стресу, ролі неферментних та ферментних антиоксидантів.

Найбільш чутливими до зміни прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в організмі тварин є статеві клітини, особливо спермії. Надмірний вміст активних форм кисню (АФК) у зовнішньому і внутрішньому середовищі гамет часто викликає їх пошкодження та порушення функціонування.

У спермі джерелами реактивних форм оксигену є їх мітохондрії і плазматичні мембрани сперміїв. Функцію антиоксидантного захисту в спермі виконує плазма сперми, що вміщує значну кількість антиоксидантів, які захищають ці гамети від окислювального стресу, компенсуючи нестачу ендоплазматичних ензимів. Плазма сперми містить супероксиддисмутазу (СОД), глутатіонпероксидазу, каталазу (КТ), що виробляються простатою і додатковими залозами [1], а також неферментні антиоксиданти: глутатіон (ГТ), метіонін, вітаміни С і Е [2, 3, 4].

Спермії особливо чутливі до руйнівної дії АФК. Так, ушкоджена ними ядерна ДНК цих клітин до настання мейозу призводить до їх апоптозу. Коли руйнується ДНК сперміїв (найчастіше у Y хромосомі) після мейозу, така спадковість може потрапляти до зиготи, у наступному наявність таких пошкоджень викликає порушення розвитку ембріонів, переривання вагітності та виникнення різних патологій у потомства [5].

За рівнем реактивного кисню в плазмі сперми можна прогнозувати фертильність у тварин. У ній з високою запліднюючою здатністю сперміїв рівні АФК і системи антиоксидантного захисту (АОЗ) значно вищі, що забезпечує нормальне запліднення, а

виснаження антиоксидантного захисту може викликати безпліддя [6, 7].

Однією з властивостей сперміїв є продукування власного фізіологічного рівня вільних радикалів і аніонів пероксидів у сперміях, що і є необхідним фактором для їх капацитації, реакції прилипання до зони пелюциди ооциту, стимуляції процесів гіперактивації та злиття з ооцитом. Надмірний рівень АФК може спричинити зниження рухливості сперміїв та порушення процесів злиття їх з ооцитами [8, 9, 10].

Встановлено, що активність СОД у сперміях негативно корелює з їх рухливістю та злиттям з ооцитами, а позитивно з прискоренням вільно-радикального перекисного окислення (ВРПО). Отже, СОД підтримує баланс між АФК і пероксидом, однак високі їх рівні пов'язані зі зниженням життєдіяльності сперміїв [11].

Наведені матеріали досліджень свідчать про те, що зміна складу мембран, конденсація хроматину, набуття властивості до руху, створення потенціалу (здатність генерувати АФК і пероксид) для капацитації, перебувають під динамічним контролем прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу середовища. Будь-які різкі зміни рівноваги призводять до зниження біологічної повноцінності сперміїв: порушення процесів їх формування, здатності до запліднення, цілісності ДНК – однієї з основних причин загибелі зигот, ембріонів і аномалій у потомстві.

З'ясування закономірностей перебігу процесів ВРПО у плазмі та спермі розкриє можливість розробки різних методів і способів для корекції якості спермопродукції з подальшим отриманням повноцінного потомства.

Основною метою наших досліджень було з'ясувати закономірності і особливості прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в плазмі та спермі кнурців у період становлення статевої функції.

Матеріали і методи. В експериментах використовували кнурців великої білої породи, яких оцінювали за показниками власної продуктивності, привчали до садки на чучело з подальшим вивченням якості спермопродукції за розробленим нами оригінальним способом, що дозволяє отримувати від них сперму. 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 комбікормом за рецептом СК-55-25. Усі піддослідні групи тварин були клінічно здоровими, за ростом і розвитком належали до першого класу та класу еліта.

Протягом 5-го і до 10-ти місячного віку від кнурців одержували сперму мануальним методом. У досліді використовували таке статеве навантаження кнурців – від 5 до 8 місяців 4 садки на місяць, а з 9 по 10 місяць – 8 садок. Кількісні і якісні показники спермопродукції, визначали за такими методами: об'єм – вимірюванням циліндром, концентрацію – фотоколориметричним, рухливість і виживаність – мікроскопічним, терморезистентну пробу 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 місяця життя. Оцінювали рівень перебігу ВРПО у плазмі і спермі за концентрацією первинних продуктів пероксидації – дієнові кон'югати (ДК) спектрофотометрично [12, 13] та вторинних продуктів – альдегіди і кетони, що реагують із 2-тиобарбитуровою кислотою, визначали фотоколориметрично. Серед них найбільшу частку (до 40%) становить МДА [14].

Для оцінки рівня антиоксидантного захисту в спермі кнурців і її плазмі використовували наступні показники та методи їх визначення. Активність СОД визначали фотометрично по швидкості її інгібування аутоокислення адреналіну в зразку сперми [15]. Для визначення активності КТ у плазмі і спермі було застосовано спектрофотометричний метод вимірювання забарвленого комплексу утвореного перекисом водню з солями молібдену [16]. Вміст ГТ визначали за допомогою реактиву Елмана (5,5-дітіо-2-биснітробензойної кислоти) [17]. Вміст аскорбінової (АК) і дигідроаскорбінової (ДАК) кислот визначали фотоколориметрично [14]. Активність ферментних і

вміст неферментних антиоксидантів та метаболітів у спермі кнурців розраховували на 0,2 мільярди спермій у 1 мл.

Результати й обговорення. Отримані результати досліджень свідчать, що в кнурців об'єм еякуляту протягом досліджуваного періоду підвищувався в 3,3 рази, при цьому найбільш інтенсивно зростав впродовж 6-го місяця в 1,9 рази (табл. 1). Впродовж 7-го і 8-го місяців життя встановлено суттєве зростання об'єму еякуляту в – 1,5, а в послідуочий період від 8-го до 10-го – продовжувалось зростання на 16,6%.

Аналіз кількості спермій в еякуляті показав, що від 150-ї до 180-ї діб розвитку кнурів спостерігалось незначне підвищення цього показника, але впродовж 7-го і 8-го місяців розвитку відбувалось суттєве зростання в 1,3 та 1,5 рази. Максимальний рівень концентрації спермій встановлено на 270-у добу життя. Впродовж 9-го і 10-го місяців розвитку цей показник майже не змінювався, за виключенням зростання до максимального рівня на 280-ту добу з послідуочим зниженням, на 8,1%.

Кількість живих спермій в еякуляті зі збільшенням віку тварин істотно зростала протягом експериментального періоду з 4,95 до 33,64 млрд в еякуляті. Найбільш інтенсивно підвищувалась кількість цих гамет від 150-ї до 210-ї діб життя. Слід зазначити, що кількість живих спермій в еякуляті при досягненні кнурцями 8-ми місячного віку, порівняно з початковим періодом, зростає в 6,3 рази. Посилення статевого навантаження на кнурців сприяло незначному підвищенню цього показника.

1. Динаміка показників якості спермопродукції у кнурців, (M±m)

Показники	Вік тварин, місяців							
	n	5	6	7	8	n	9	10
Об'єм еякуляту, мл	16	54,31 ±4,76	105,38 ±8,81	138,75 ±7,76	153,00 ±9,53	32	162,78 ±7,80	178,44 ±10,12
Концентрація спермій, млрд/мл	16	0,144 ± 0,01	0,168 ± 0,011	0,214 ±0,07	0,254 ±0,12	32	0,271 ±0,011	0,249 ±0,066
Загальна кількість живих спермій, млрд.	16	4,95 ±0,67	13,34 ±1,97	24,84 ±2,15	30,98 ±2,96	32	35,61 ±2,54	33,64 ±1,38

n – кількість дослідних доз спермій

Дослідження рухливості і переживаємості спермій у кнурців 5-10-ти місячного віку показало, що їх активність коливалась від 68,8 до 82,8 (табл. 2).

2. Показники рухливості і виживаємості спермій у кнурів, (M±m),%

Вік тварин, місяців											
5		6		7		8		9		10	
Д	П	Д	П	Д	П	Д	П	Д	П	Д	П
68,75 ±2,14	15,94 ±2,15	74,38 ±2,10	40,63 ±2,46	82,8 ±1,28	63,13 ±2,74	79,06 ±1,46	68,44 ±2,55	82,34 ±1,37	73,28 ±1,79	80,16 ±0,18	72,81 ±1,36

Примітка: Д – рухливість спермій у свіжій спермі

П – переживаємість спермій

У кнурців зі збільшенням віку спостерігалось зростання активності гамет. Так, впродовж 6-го місяця життя відбувалось підвищення активності спермій у кнурців на 5,6%, у той час як їх переживаємість зростає відповідно в 2,5 рази. Рівень досліджуваних показників продовжував підвищуватись до досягнення тваринами 210-ти денного віку, а в послідуочі місяці спостерігалась стабілізація цього показника. Отже, рівень спермопродукції в молодих кнурців від 5-го до 8-го місяця життя істотно збільшується. Одержання по два еякулята 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 0,075...0,27 УО/мл (табл. 3), де перший показник встановлено на 150-у, а другий на 210-ту добу розвитку. Особливістю динаміки цього ферменту було підвищення рівня протягом 6- і 7-го місяця в 3,6 рази, з послідувачим зниженням на 26%.

Після 3-х годинного інкубування зразків цієї тканини при 38°C виявлено загальне зниження активності СОД, максимальний її спад було встановлено на 150-у та 210-у доби життя в межах 32,7 – 65,7%, однак протягом останніх двох місяців експерименту рівень ензиму зменшувався в межах 16 – 18,1%. Це свідчить про те, що в більш дорослих кнурців у цій тканині утворення O_2 відбувається дещо повільніше.

Визначення КТ в плазмі сперми кнурців показало постійну зміну її активності від 31,57 до 42,11 мкмоль H_2O_2 /хв.мл, де мінімальний показник встановлено в 5-ти, а максимальний 7-ми місячному віці, з різницею між ними 33,4%, що вказує на стрімку динаміку зростання активності впродовж зазначеного періоду. Впродовж 8-го місяця розвитку тварин рівень цього ензиму суттєво не змінювався, але від 240-ї до 300-ї діб спостерігалось його зниження – 15%.

Інкубування плазми сперми кнурців 5-, 6-, 7-ми місячного віку призводило до зниження рівня КТ у межах 17,4 – 25%. Функціональна активність цього ферменту в інкубованій плазмі сперми від 9-ти та 10-ти місячних кнурців була менш вразливою, знижуючись відповідно на 7,4 та 7,5%.

Діапазон коливання концентрації ГТ у плазмі сперми кнурців протягом експериментального періоду був у межах від 0,283 до 0,685 мкмоль/л. У досліджуваній тканині спостерігалось зменшення кількості цієї речовини з 5-го по 10-й місяць розвитку в 2,4 рази. Особливістю динаміки ГТ у цій тканині було зниження вмісту на 18,1% протягом першого місяця досліджень з послідувачим зменшенням до закінчення експерименту в 2 рази проти 180-ї доби розвитку. В плазмі сперми кнурців 180-ти та 210-ти денного віку після інкубування встановлено найвищу інтенсивність зменшення концентрації ГТ відповідно на 31,7 та 32,3%, найбільш стійкою до цього процесу була ця тканина у 240-а денному віці.

Нами встановлено, що на 240-у добу розвитку та послідувачі періоди, інтенсивність зниження рівня цього метаболіту після інкубування було менш значним ніж у 5-6-ти та 7-ми місячному віці.

У плазмі сперми кнурів протягом експериментального періоду вміст АК був у діапазоні 38,34 ... 59,83, а ДАК – 36,08...56,35 мкмоль/мл. В цілому з 150-ї до 300-ї доби життя спостерігалось зменшення кількості АК і ДАК відповідно на 35,9 і 32%. Найбільш суттєвий спад концентрації АК відбувався протягом 6-го місяця розвитку на 27,6, а кількість ДАК майже не змінювалась. У досліджуваній тканині кнурів підданій інкубації вміст АК впродовж експериментального періоду знижувався в межах 30,4 – 47,7%. Вплив цього фактору найбільш відчутним був по закінченні 10-го місяця розвитку, проявляючись у зменшенні вмісту АК і ДАК відповідно на 47,7 та 41,6%.

Концентрація ДК у плазмі сперми ростучих кнурців коливалась в межах від 0,36 до 0,62 мкмоль/л, де мінімальний показник зареєстровано у 5-ти місячних тварин, а максимальний – 10-ти місячному віці, з різницею між ними в 1,7 рази, що вказує на насичення первинними метаболітами пероксидації ліпідів цієї тканини зі збільшенням віку.

Необхідно зазначити, що суттєве підвищення вмісту ДК відбувалось протягом 6-го і 7-го місяців розвитку відповідно на 25 і 13,3% 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 межах – 6,5-30%, що свідчить про істотну дію цього процесу на перебіг ВРПО. Слід зазначити, що найбільша дія цього фактора спостерігалась при досягненні кнурцями 8-ми і 9-ти місячного віку, а найменша в 10-ти місячному віці.

3. Динаміка перебігу процесів ВРПО в плазмі та спермі кнуриців, (M±m)

Показники ВРПО	Вік тварин, місяців																															
	5					6					7					8					9					10						
	1	2	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2	1	2			
Плазма сперми																																
СОД, Уо/мл	0,075 ±0,018	0,034 ±0,012	0,11 ±0,019	0,074 ±0,016	0,27 ±0,043	0,12 ±0,025	0,24 ±0,044	0,16 ±0,038	0,22 ±0,058	0,18 ±0,025	0,24 ±0,044	0,16 ±0,038	0,22 ±0,058	0,18 ±0,025	0,24 ±0,044	0,16 ±0,038	0,22 ±0,058	0,18 ±0,025	0,24 ±0,044	0,16 ±0,038	0,22 ±0,058	0,18 ±0,025	0,24 ±0,044	0,16 ±0,038	0,22 ±0,058	0,18 ±0,025	0,24 ±0,044	0,16 ±0,038	0,22 ±0,058	0,18 ±0,025	0,24 ±0,044	
КТ, мкмоль Н ₂ О ₂ /хв.мл	31,57 ±4,11	25,44 ±3,12	40,79 ±5,00	33,76 ±4,89	42,11 ±6,94	31,62 ±7,09	41,63 ±4,72	33,30 ±4,16	39,64 ±5,63	36,71 ±3,57	41,63 ±4,72	33,30 ±4,16	39,64 ±5,63	36,71 ±3,57	41,63 ±4,72	33,30 ±4,16	39,64 ±5,63	36,71 ±3,57	41,63 ±4,72	33,30 ±4,16	39,64 ±5,63	36,71 ±3,57	41,63 ±4,72	33,30 ±4,16	39,64 ±5,63	36,71 ±3,57	41,63 ±4,72	33,30 ±4,16	39,64 ±5,63	36,71 ±3,57	41,63 ±4,72	
ГТ, мкмоль/л	0,685 ±0,083	0,481 ±0,072	0,561 ±0,059	0,383 ±0,086	0,434 ±0,035	0,294 ±0,06	0,366 ±0,068	0,321 ±0,049	0,317 ±0,078	0,250 ±0,028	0,366 ±0,068	0,321 ±0,049	0,317 ±0,078	0,250 ±0,028	0,366 ±0,068	0,321 ±0,049	0,317 ±0,078	0,250 ±0,028	0,366 ±0,068	0,321 ±0,049	0,317 ±0,078	0,250 ±0,028	0,366 ±0,068	0,321 ±0,049	0,317 ±0,078	0,250 ±0,028	0,366 ±0,068	0,321 ±0,049	0,317 ±0,078	0,250 ±0,028	0,366 ±0,068	
АК, мкмоль/л	59,83 ±3,80	38,99 ±4,66	43,29 ±4,23	30,12 ±3,23	43,36 ±3,32	26,15 ±2,87	47,14 ±3,47	28,07 ±3,45	39,45 ±5,98	25,28 ±5,33	47,14 ±3,47	28,07 ±3,45	39,45 ±5,98	25,28 ±5,33	47,14 ±3,47	28,07 ±3,45	39,45 ±5,98	25,28 ±5,33	47,14 ±3,47	28,07 ±3,45	39,45 ±5,98	25,28 ±5,33	47,14 ±3,47	28,07 ±3,45	39,45 ±5,98	25,28 ±5,33	47,14 ±3,47	28,07 ±3,45	39,45 ±5,98	25,28 ±5,33	47,14 ±3,47	
ДАК, мкмоль/л	56,35 ±4,56	40,41 ±4,77	52,22 ±7,23	31,93 ±2,63	50,47 ±6,32	31,18 ±3,63	45,13 ±4,42	27,15 ±1,73	36,08 ±3,96	24,13 ±1,76	45,13 ±4,42	27,15 ±1,73	36,08 ±3,96	24,13 ±1,76	45,13 ±4,42	27,15 ±1,73	36,08 ±3,96	24,13 ±1,76	45,13 ±4,42	27,15 ±1,73	36,08 ±3,96	24,13 ±1,76	45,13 ±4,42	27,15 ±1,73	36,08 ±3,96	24,13 ±1,76	45,13 ±4,42	27,15 ±1,73	36,08 ±3,96	24,13 ±1,76	45,13 ±4,42	
ДК, мкмоль/л	0,36 ±0,066	0,44 ±0,102	0,45 ±0,071	0,53 ±0,073	0,51 ±0,13	0,59 ±0,161	0,50 ±0,093	0,65 ±0,158	0,54 ±0,105	0,68 ±0,11	0,50 ±0,093	0,65 ±0,158	0,54 ±0,105	0,68 ±0,11	0,50 ±0,093	0,65 ±0,158	0,54 ±0,105	0,68 ±0,11	0,50 ±0,093	0,65 ±0,158	0,54 ±0,105	0,68 ±0,11	0,50 ±0,093	0,65 ±0,158	0,54 ±0,105	0,68 ±0,11	0,50 ±0,093	0,65 ±0,158	0,54 ±0,105	0,68 ±0,11	0,50 ±0,093	
МДА, мкмоль/л	1,95 ±0,48	4,36 ±0,82	5,86 ±1,01	11,12 ±1,38	8,56 ±1,35	13,67 ±2,58	14,27 ±2,60	16,99 ±2,92	16,53 ±1,96	23,29 ±3,02	14,27 ±2,60	16,99 ±2,92	16,53 ±1,96	23,29 ±3,02	14,27 ±2,60	16,99 ±2,92	16,53 ±1,96	23,29 ±3,02	14,27 ±2,60	16,99 ±2,92	16,53 ±1,96	23,29 ±3,02	14,27 ±2,60	16,99 ±2,92	16,53 ±1,96	23,29 ±3,02	14,27 ±2,60	16,99 ±2,92	16,53 ±1,96	23,29 ±3,02	14,27 ±2,60	16,99 ±2,92
Сперма																																
СОД, Уо/мл	0,12 ±0,027	0,049 ±0,017	0,17 ±0,038	0,093 ±0,023	0,33 ±0,051	0,17 ±0,029	0,26 ±0,047	0,22 ±0,045	0,28 ±0,06	0,34 ±0,056	0,17 ±0,029	0,26 ±0,047	0,22 ±0,045	0,28 ±0,06	0,34 ±0,056	0,17 ±0,029	0,26 ±0,047	0,22 ±0,045	0,28 ±0,06	0,34 ±0,056	0,17 ±0,029	0,26 ±0,047	0,22 ±0,045	0,28 ±0,06	0,34 ±0,056	0,17 ±0,029	0,26 ±0,047	0,22 ±0,045	0,28 ±0,06	0,34 ±0,056	0,17 ±0,029	
КТ, мкмоль Н ₂ О ₂ /хв.мл	33,01 ±3,48	15,81 ±3,81	33,63 ±5,29	20,42 ±4,90	35,42 ±4,87	25,88 ±5,62	37,09 ±4,29	34,14 ±2,67	37,93 ±4,07	38,76 ±2,67	35,42 ±4,87	25,88 ±5,62	37,09 ±4,29	34,14 ±2,67	37,93 ±4,07	38,76 ±2,67	35,42 ±4,87	25,88 ±5,62	37,09 ±4,29	34,14 ±2,67	37,93 ±4,07	38,76 ±2,67	35,42 ±4,87	25,88 ±5,62	37,09 ±4,29	34,14 ±2,67	37,93 ±4,07	38,76 ±2,67	35,42 ±4,87	25,88 ±5,62	37,09 ±4,29	
ГТ, мкмоль/л	0,84 ±0,057	0,577 ±0,072	0,67 ±0,052	0,492 ±0,085	0,606 ±0,035	0,434 ±0,053	0,49 ±0,074	0,402 ±0,069	0,44 ±0,077	0,364 ±0,079	0,434 ±0,053	0,49 ±0,074	0,402 ±0,069	0,44 ±0,077	0,364 ±0,079	0,434 ±0,053	0,49 ±0,074	0,402 ±0,069	0,44 ±0,077	0,364 ±0,079	0,434 ±0,053	0,49 ±0,074	0,402 ±0,069	0,44 ±0,077	0,364 ±0,079	0,434 ±0,053	0,49 ±0,074	0,402 ±0,069	0,44 ±0,077	0,364 ±0,079	0,434 ±0,053	
АК, мкмоль/л	58,90 ±8,48	39,26 ±3,23	41,10 ±2,31	30,12 ±3,23	40,29 ±2,88	23,96 ±3,23	42,86 ±3,86	29,98 ±2,63	37,84 ±6,67	26,28 ±5,28	42,86 ±3,86	29,98 ±2,63	37,84 ±6,67	26,28 ±5,28	42,86 ±3,86	29,98 ±2,63	37,84 ±6,67	26,28 ±5,28	42,86 ±3,86	29,98 ±2,63	37,84 ±6,67	26,28 ±5,28	42,86 ±3,86	29,98 ±2,63	37,84 ±6,67	26,28 ±5,28	42,86 ±3,86	29,98 ±2,63	37,84 ±6,67	26,28 ±5,28	42,86 ±3,86	
ДАК, мкмоль/л	54,27 ±4,48	43,27 ±5,53	53,09 ±5,80	31,93 ±2,63	49,68 ±5,41	37,41 ±3,28	45,21 ±2,60	34,07 ±3,15	35,06 ±2,99	27,86 ±1,41	45,21 ±2,60	34,07 ±3,15	35,06 ±2,99	27,86 ±1,41	45,21 ±2,60	34,07 ±3,15	35,06 ±2,99	27,86 ±1,41	45,21 ±2,60	34,07 ±3,15	35,06 ±2,99	27,86 ±1,41	45,21 ±2,60	34,07 ±3,15	35,06 ±2,99	27,86 ±1,41	45,21 ±2,60	34,07 ±3,15	35,06 ±2,99	27,86 ±1,41	45,21 ±2,60	
ДК, мкмоль/л	0,43 ±0,03	0,47 ±0,03	0,59 ±0,07	0,63 ±0,08	0,65 ±0,13	0,69 ±0,13	0,61 ±0,05	0,82 ±0,08	0,69 ±0,09	0,72 ±0,09	0,69 ±0,13	0,82 ±0,08	0,69 ±0,09	0,72 ±0,09	0,69 ±0,13	0,82 ±0,08	0,69 ±0,09	0,72 ±0,09	0,69 ±0,13	0,82 ±0,08	0,69 ±0,09	0,72 ±0,09	0,69 ±0,13	0,82 ±0,08	0,69 ±0,09	0,72 ±0,09	0,69 ±0,13	0,82 ±0,08	0,69 ±0,09	0,72 ±0,09	0,69 ±0,13	
МДА, мкмоль/л	2,55 ±0,39	5,12 ±0,69	7,96 ±1,12	12,17 ±1,97	13,22 ±1,49	18,03 ±2,66	21,34 ±2,02	25,84 ±2,56	24,64 ±2,56	28,85 ±2,32	21,34 ±2,02	25,84 ±2,56	24,64 ±2,56	28,85 ±2,32	21,34 ±2,02	25,84 ±2,56	24,64 ±2,56	28,85 ±2,32	21,34 ±2,02	25,84 ±2,56	24,64 ±2,56	28,85 ±2,32	21,34 ±2,02	25,84 ±2,56	24,64 ±2,56	28,85 ±2,32	21,34 ±2,02	25,84 ±2,56	24,64 ±2,56	28,85 ±2,32	21,34 ±2,02	25,84 ±2,56

Примітка: 1 – до інкубації; 2 – після інкубації

У плазмі сперми кнурців різних генотипів впродовж досліджуваного періоду концентрація МДА була в широких межах 1,95 ... 19,68 мкмоль/л, зростаючи із збільшенням віку. Кількість цього метаболіту найбільш інтенсивно зростала впродовж 6-, 7- і 8-го місяців розвитку в кнурців відповідно в 3; 1,5; 1,6 рази.

Встановлено, що в спермі ростучих кнурців активність СОД змінювалась у таких межах від 0,12 до 0,33 УО/мл, де мінімальний показник зареєстровано на 150-ту добу, а максимальний 210- у, що відображає загальне зростання рівня цього ензиму протягом зазначеного періоду. В подальшому до закінчення експерименту рівень СОД дещо знижувалась у межах 24,2% порівняно з 7-м місяцем розвитку. В цілому за період досліджування в цій тканині кнурців виявлено збільшення активності СОД – 2,1 рази.

Рівень СОД у спермі кнурців після її інкубування знижувався, але цей вплив зменшувався із збільшенням їх віку. Так, у 5-ти місячному віці активність СОД у проінкубованій цій тканині знижувалась на 59,1%, а по досягненні ними 8-ми місячного віку зменшення її рівня становило лише 15,4%. По закінченні 9-го і 10-го місяців розвитку в проінкубованій спермі активність СОД зростала відповідно на 21,4 і 32, %.

Отримані дані свідчать про лабільність рівня КТ у спермі кнурців, який змінювався з 33,01 по 37,93 мкмоль Н₂О₂/хв.мл, де перша величина зареєстрована на 150-й, а друга 270-й день розвитку. В цілому загальною закономірністю зміни цього ензиму було зростання активності від 5-го до 9-ти місячного віку на 14,9%, з подальшим його зниженням майже до початкового рівня по завершенню експерименту. Істотний спад активності КТ у цій тканині відбувався після інкубування зменшуючись на 52,1 (150-та), 39,3 (180-та) і 26,9% (210-та доба розвитку). У більш дорослому віці, на 300-у добу життя, спостерігалось підвищення рівня досліджуваного ензиму після інкубації на 18%.

Вміст ГТ у спермі кнурців знаходиться в межах від 0,208 до 0,84 мкмоль/л. Насиченість ГТ у досліджуваній тканині протягом експерименту зменшилась майже вдвічі. Особливістю динаміки цієї речовини було зниження її кількості протягом 6-го місяця на 20,2%, з послідовним платом впродовж 7-го місяця та подальшим зменшенням до закінчення експерименту. Процес інкубування сперми суттєво знижував концентрацію ГТ у спермі кнурців 5-ти, 6-ти і 7-ми місячного віку відповідно на 31,3; 25,6 та 28,4%. В цілому в подальші періоди вплив температурного фактора на кількість цього метаболіту зменшувався.

У спермі молодих кнурців концентрації АК коливались з 31,01 по 58,90 мкмоль/л, а ДАК від 33,99 до 54,27 мкмоль/л, залежачи від віку. Мінімальним вмістом АК у досліджуваній тканині впродовж експериментального періоду характеризувались тварини у віці 10 місяців, а максимальним 5 місяців. Дані вказують на те, що із збільшенням віку кнурців насиченість сперми аскорбіновими кислотами зменшується: відновленої форми в 1,9, а окисленої в 1,6 рази. Встановлено, що найбільш істотний спад концентрації АК на 32,2% відбувся протягом 6-го місяця життя, з наступним плато впродовж 7-го, 8-го місяців. Проте вже протягом останніх двох місяців експерименту спостерігалось подальше зменшення її концентрації на 27,7%. Рівень ДАК протягом експерименту поступово знижувався. Кількість окисленої форми аскорбінової кислоти порівняно з відновленою була вищою з 6-го по 8-й місяці розвитку, а різниця між ними становила на 180-ту добу – 22,6, 210-ту – 18,9, 240-ву – 5,1%.

Інкубування 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 33,3 і 20,3%. По закінченню 6-го місяця розвитку вплив 3-х годинного інкубування полягав у зменшенні кількості аскорбінових кислот, відновленої форми на 26,7, а окисленої – 39,9%. Однак, вже в наступні місяці знову спостерігалось суттєве зниження АК і ДАК після дії цього температурного фактора відповідно на 40,53 і 24,7 (7-й місяць), 30,1 та 24,7 (8-й місяць), 30,6 і 20,5% (9-й місяць), 37,2 та 21,2% (10-й місяць життя).

Вміст ДК у спермі кнурців протягом досліджуваного періоду був лабільним коливаючись у діапазоні 0,43 ... 0,8 мкмоль/л. Перший показник встановлено на почат-

ку (150-та доба), другий по закінченні (300-та доба) експерименту, що свідчить про зростання концентрації цих речовин в 1,9 рази. Особливістю динаміки ДК під час дослідження було зростання кількості цих речовин відносно початку експерименту на 37,2 (180-а доба) і 51,2% (210-а доба життя). Упродовж 8-го і 9-го місяців концентрація вивчаемого метаболіту в тварин суттєво не змінювалась, але протягом 10-го місяця відмічалось незначне зростання на 15,9%. Процес інкубування сперми суттєво не впливав на збільшення вмісту ДК, знаходячись у межах 4,3-11,3%, за виключенням 8-го місяця розвитку, де він істотно зростає на 34,4%.

Встановлено, що в спермі кнурців у залежності від віку кількість МДА становила від 2,55 до 24,64 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 3,1 рази впродовж 6-го місяця, з подальшим істотним її підвищенням протягом 7-го місяця життя в 1,7 рази. Така закономірність спостерігалась упродовж 8-го, 9-го і 10-го місяців розвитку до максимальних значень.

Отримані експериментальні дані свідчать, що 3-х годинне інкубування сперми кнурців протягом досліджуваного періоду призводить до прискорення перебігу процесів ВРПО, що підтверджується підвищенням рівня. Інтенсивність накопичення МДА в інкубованій спермі цих тварин зменшувалась зі збільшенням їх віку. Найбільше утворення МДА у цій тканині після її інкубування спостерігалось у 5-ти місячному віці – 100%. Однак, вже по закінченні 6-го і 7-го місяця розвитку відбувалось зниження показників приросту МДА під дією температурного фактора відповідно на 52,9 та 36,4%. Менш вразливою до інкубування була сперма 8-ми та 9-ти місячних кнурців, де вміст цієї речовини зростає на 17,1 – 21%. Однак, по закінченні експерименту спостерігалось суттєве продукування МДА, становлячи 39,2%.

Висновки. 1. Рівень спермопродукції в молодих кнурців від 5-го до 8-го місяця життя істотно збільшується. Одержання по два еякулята на тиждень від кнурців 9-10 місячного віку, в основному, не викликає зниження якості спермопродукції.

2. У період становлення статевої функції в плазмі та спермі молодих кнурців процеси ВРПО прискорюються, рівень антиоксидантних ензимів (СОД і КТ) зростає, а неензимних антиоксидантів (ГТ, АК і ДАК) знижується. Найбільш інтенсивно ці процеси відбуваються протягом 6-го та 7-го місяців їх розвитку.

3. Інкубування плазми і сперми призводить до суттєвого зростання протікання процесів ВРПО та виснаження системи АОЗ, особливо вразливими ці тканини до дії температурного фактору були у 5-ти, 6-ти 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 та ДАК дещо вищий.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження з вивчення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у спермі кнурців у період становлення статевої функції будуть спрямовані на з'ясування його особливостей у різних типів продуктивності та розробки засобів регуляції їх репродуктивної здатності.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. 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// Molecular Human reproduction. – Vol. 4. P. 835-839.
2. Sharma R. K., Pasqualotto F. F., Nelson D.R. The reactive oxygen species-total antioxidant capacity score is a new measure of oxidative stress to predict male infertility// Human Reproduction. – 1999. – Vol. 14, -No. 11. -P. 2801-2807,
3. Sikka S.C. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function// Front. Biosci. – 1996, No 1. P.78-86.
4. Okada H., Tatsumi N., Kanzaki M., Fujisawa M., Arakawa S., Kamidono S. Formation of reactive oxygen species by spermatozoa from asthenospermic patients: response to treatment with pentoxifylline// J. Urol. -1997, -Vol. 157(6). -P. 2140-2146.

5. Twigg J., Fulton N., Gomez E., Irvine D.S., Aitken R.J. Analysis of the impact of intracellular reactive oxygen species generation on the structural and functional integrity of human spermatozoa: lipid peroxidation, DNA fragmentation and effectiveness of antioxidants// Human Reproduction.- Vol. 13. –P. 1429-1436.
6. Smith R., Vantman D., Ponce J., Escobar J. Total antioxidant capacity of human seminal plasma// Human Reproduction.- Vol. 11. – P. 1655-1660.
7. Aitken R. J., Gordon E., Harkiss D., Tivigg J. P. Relative Impact of Oxidative Stress on the Functional Competence and Genomic Integrity of Human Spermatozoa// Biology of Reproduction. -1998. Vol. 59. P. 1037-1046.
8. Kim J.G., Parthasarathy S. Oxidation and the spermatozoa// Semin Reprod Endocrinol. – 1998. Vol. 16(4).-P.235-239.
9. 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.
10. 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.
11. Aitken 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.
12. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот//В кн.:Современные методы биохимии.-Медицина, -1977.- С.63-64.
13. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление в биологических мембранах// –М.:Наука, 1972.-С.272.
14. Посібник з експериментально-клінічних досліджень з біології та медицини. За редакцією І.П.Кайдашева. -1996.-Полтава. –С.123-128с.
15. Брусов 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,
16. М.А.Королук, Л.И.Иванова, И.Г.Майорова, В.Е.Токарев. Метод определения активности каталазы//Лабораторное дело. – 1988. -№1. С. 16-19.
17. Elmann G.L. Tissue sulphhydryl groups //Arch. Biohem. -1959.- №82.-P.70-77.

Шостя А.М. Прооксидантно-антиоксидантный гомеостаз в плазме и сперме хрячков в период становления половой функции

В статье представлены отдельные особенности прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза в плазме и сперме хрячков в период становления половой функции. Установлено, что уровень спермопродукции в молодых хрячков от 5-го до 8-го месяца 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 ферментов (СОД и КТ) возрастает, а неэнзимных антиоксидантов (ГТ, АК и ДАК) снижается. Наиболее интенсивно эти процессы происходят в течение 6-го 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-ти, 6-ти и 7-ми 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 и ДАК несколько более высокий.

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

A.M. Shostia. Prooxidant and antioxidant homeostasis in plasma and sperm of boars during the period of a formation of sexual function

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 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 young boars. The course of processes FRPO in plasma of sperm in young boars in the comparison with sperm occur less intensively, but a 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.