

ФІЗІОЛОГІЯ ВІДТВОРЕННЯ

УДК 636.4; 612,6

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

ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ ГОМЕОСТАЗ У ПЛАЗМІ ТА СПЕРМІ КНУРЦІВ ВЕЛИКОЇ ЧОРНОЇ ПОРОДИ

Рецензент – кандидат біологічних наук О.Ф. Сагло

У статті висвітлено окремі особливості прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в плазмі і спермі кнурців великої чорної породи у період становлення статевої функції. Встановлено, що 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-ти місячного віку, в основному, не викликає зниження якості спермопродукції. У період становлення статевої функції в плазмі та спермі молодих кнурців процеси вільно-радикального перекисного окислення (ВРПО) прискорюються, рівень антиоксидантних ензимів (СОД і КТ) зростає, а низькомолекулярних антиоксидантів (ГТ, АК і ДАК) знижується. Інкубування плазми і сперми призводить до інтенсифікації протікання процесів ВРПО та виснаження системи АОЗ, особливо чутливими ці тканини до дії температурного фактора були у 5-, 6-ти і 7-ми місячних кнурців. Перебіг процесів ВРПО в плазмі сперми кнурців порівняно зі спермою відбувається менш інтенсивно.

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

Широке впровадження методу штучного осіменіння свиней, суттєво підвищує економічну ефективність ведення галузі свинарства. Інтенсивне використання кнурів для штучного осіменіння свиней вимагає отримання високоякісної сперми у більш ранньому віці. Це спонукає науковців до розробки ефективних методів прогнозування якості спермопродукції, особливо в аспекті окислювального стресу, ролі неферментних та ферментних антиоксидантів.

Істотні зміни прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в організмі тварин перш за все впливають на розвиток статевих клітин, особливо сперміїв.

Джерелом реактивних форм кисню у спермі є мітохондрії і плазматичні мембрани сперміїв. У спермі, її плазма виконує антиоксидантну функцію, яка вміщує значну кількість антиоксидантів – супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази і каталази (КТ), які продукуються 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 активної форми кисню (АФК), які ушкоджують їх ядерну ДНК призводячи до апоптозу. Зруйнована ДНК сперміїв (найчастіше у Y хромосомі) може потрапляти до зиготи і в подальшому наявність таких пошкоджень викликає порушення розвитку ембріонів, припинення вагітності та виникнення різних патологій у потомства [5].

Рівень реактивного кисню в плазмі сперми може відображати фертильність у тварин. Висока запліднююча здатність сперміїв супроводжується істотними рівнями АФК і системи антиоксидантного захисту (АОЗ) значно вищі, що забезпечує нормальне запліднення, а зниження антиоксидантного захисту може викликати безпліддя [6, 7].

Спермії здатні до продукування власного фізіологічного рівня вільних радикалів і аніонів пероксидів, що є необхідним фактором для стимуляції процесів гіперактивації і капацитації. Однак, надмірний рівень АФК може спричинити зниження рухливості сперміїв та порушення процесів злиття їх з ооцитами [8, 9, 10].

Наведені матеріали досліджень свідчать про те, що процеси розмноження перебувають під динамічним контролем прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу (ПАГ) 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 потомства.

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

Основною метою наших досліджень було з'ясувати закономірності і особливості формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в плазмі та спермі кнурців великої чорної породи (ВЧ) у період становлення статевої функції.

Матеріали і методи. У досліді використовували кнурців ВЧ породи, яких оцінювали за 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 тварин проводили двічі на добу згідно кормових норм ІС і АПВ НААН. Усі піддослідні 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-го до 8-го місяці 4 садки на місяць, а з 9-го по 10-й місяць – 8 садок. Кількісні і якісні показники спермопродукції, визначали за такими методами: об'єм – вимірювання циліндром, концентрацію – фотоколориметричним, рухливість і виживаність – мікроскопічним, терморезистентну пробу сперміїв шляхом дослідження 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 – дієнових кон'югатів (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 малоновий диальдегід (МДА) [14].

Оцінювали рівень антиоксидантного захисту в спермі і її плазмі за наступними показниками використовуючи такі методи їх визначення. Активність СОД визначали фотометрично за швидкість 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 молібдена [16]. Вміст ГТ визначали за допомогою реактиву Елмана (5,5-дітіо-2-биснітробензойної кислоти) [17]. Активність ферментних і вміст неферментних антиоксидантів та метаболітів у спермі кнурців розраховували на 0,2 мільярди сперміїв в 1 мл.

Результати й обговорення. Отримані результати досліджень свідчать, що у кнурців ВЧ породи об'єм еякуляту протягом експериментального періоду підвищувався в 5,2 рази ($p<0,001$), при цьому найбільш інтенсивне зростання відбувалось впродовж 6-го місяця розвитку в 2,8 рази ($p<0,001$) (табл. 1). Протягом 7-го і 8-го місяців життя встановлено суттєве збільшення об'єму еякуляту в 1,6 рази ($p<0,001$). Впродовж 9-го і 10-го місяців порівняно із 8-м місяцем розвитку відмічено подальше підвищення цього показника відповідно на 26 та 16%.

Дані досліджень свідчать, що концентрація спермій в еякуляті кнурців, від 150-ї до 180-ї діб розвитку підвищувалась на 42,4% ($p < 0,001$). Впродовж 7-го і 8-го місяців життя відбувалось подальше зростання концентрації спермій. Впродовж 9-го і 10-го місяців розвитку цей показник змінювався, в напрямку незначного зменшення концентрації спермій в еякуляті.

Кількість живих спермій в еякуляті кнурів протягом експериментального період із збільшенням віку тварин істотно зростала у з 2,38 до 43,78 млрд. Найбільш інтенсивно підвищувалась кількість цих гамет від 150-ї до 210-ї діб життя ($p < 0,001$). Слід зазначити, що кількість живих спермій в еякуляті протягом 8-го і 9-го місяців продовжувала зростати досягаючи максимального рівня. Посилення статевого навантаження на кнурців сприяло незначному підвищенню цього показника.

1. Динаміка показників якості спермопродукції у кнурців ВЧ породи, ($M \pm m$)

Показники	Вік тварин, місяців							
	n	5	6	7	8	n	9	10
Об'єм еякуляту, мл	20	40,81 $\pm 4,11$	114,87 $\pm 6,94$	153,62 $\pm 5,61$	184,25 $\pm 9,88$	40	231,97 $\pm 7,50$	213,94 $\pm 6,67$
Концентрація спермій, млрд/мл	20	0,144 $\pm 0,011$	0,205 $\pm 0,013$	0,255 $\pm 0,014$	0,266 $\pm 0,016$	40	0,233 $\pm 0,014$	0,248 $\pm 0,013$
Загальна кількість живих спермій, млрд.	20	2,38 $\pm 0,61$	16,72 $\pm 2,0$	29,24 $\pm 1,61$	36,37 $\pm 2,17$	40	43,13 $\pm 3,78$	43,78 $\pm 4,03$

n – кількість досліджених еякулятів

Дослідження рухливості і переживаємості спермій у кнурців 5-10-ти місячного віку показало, що їх активність коливалась від 58,75 до 82,81% (табл. 2).

2. Показники рухливості і виживаємості спермій у кнурів ВЧ породи, ($M \pm m$), %

Вік тварин, місяців											
5		6		7		8		9		10	
Д	П	Д	П	Д	П	Д	П	Д	П	Д	П
58,75	19,38	70,94	37,5	76,56	62,20	77,5	64,06	80,16	66,88	82,81	70,00
$\pm 3,71$	$\pm 3,74$	$\pm 2,08$	$\pm 3,96$	$\pm 1,32$	$\pm 2,18$	$\pm 1,37$	$\pm 2,83$	$\pm 1,02$	$\pm 1,55$	$\pm 0,92$	$\pm 1,57$

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 12,2%, у той час як їх переживаємість зросла відповідно у 1,9 рази ($p < 0,01$). Рівень досліджуваних показників продовжував підвищуватись до досягнення тваринами 270-у денного віку, а в наступні місяці спостерігалась її стабілізація.

Дослідження активності СОД у плазмі сперми кнурців свідчить про її лабільний рівень, що знаходився в межах 0,0720,27 у.о./мл (табл. 3), де перший показник встановлено на 150-у, а другий на 270 – ту доби розвитку. Особливістю динаміки цього ферменту було інтенсивне підвищення рівня з 5-го по 7-й місяці в 3,5 рази ($p < 0,01$), з наступним плато та зниженням активності впродовж останнього місяця експерименту на 22,2%.

Після 3-х годинного інкубування зразків цієї тканини при 38°C виявлено загальне зниження СОД, максимальний її спад було встановлено на 150 – у та 210-у доби життя в межах 30,0 – 54,1%, однак протягом останніх двох місяців експерименту рівень ензиму після дії цього фактора зменшувався менш суттєво.

Визначення КТ у плазмі сперми кнурців показало постійну зміну її рівня від 37,49 до 47,13 мкмоль H_2O_2 /хв.мл, де мінімальний показник встановлено в 5-ти, а максимальний 9-ти місячному віці, з різницею між ними 21,5%, що вказує на стрімку динаміку зростання активності цього ензиму впродовж зазначеного періоду.

Інкубування плазми сперми кнурців 5-, 6-та і 7-ми місячного віку призводило до зниження рівня КТ відповідно на: 47,7 ($p < 0,05$); 48 ($p < 0,05$) та 29,1%. Функціональна активність даного ензиму в інкубованій цій тканині від 9-ти та 10-ти місячних кнурців була більш сталою знижуючись відповідно на 7,4 та 3,9%.

Діапазон коливання концентрації ГТ у плазмі сперми кнурців протягом експериментального періоду був у межах від 0,223 до 0,494 мкмоль/л. У досліджуваній тканині спостерігалось зменшення кількості цієї речовини з 5-го по 10-й місяць розвитку в 2,2 рази ($p < 0,01$). Особливістю динаміки ГТ у цій тканині було зниження вмісту на 21,1% протягом 6-го і 7-го місяця розвитку з послідуєчим поступовим зменшенням до закінчення експерименту. В плазмі сперми кнурців 150-ти та 210-ти денного віку після інкубування встановлено найбільше зменшення концентрації ГТ відповідно на 38,8 та 36%, а у подальші періоди ця тканина була більш стійкою до дії даного фактора.

У плазмі сперми кнурів протягом експериментального періоду вміст аскорбінової кислоти (АК) був у діапазоні 34,27 – 41,44, а дегідроаскорбінової кислоти (ДАК) – 34,5553,82 мкмоль/мл. В цілому з 150-ї до 300-ї доби життя спостерігалось зменшення кількості АК і ДАК відповідно на 15,1 і 35,8%. Вміст ДАК порівняно з АК зменшувався більш суттєво особливо впродовж 7-го і 8-го місяців розвитку. Крім цього, у цій проінкубованій тканині вміст окисленої форми аскорбінової кислоти триманої від 6-, 7-ми та 9-ти місячних кнурців зменшувався відповідно на 17; 14,5 та 15,8%. Дія температурного фактора на вміст АК у досліджуваній тканині була незначною.

Аналіз співвідношення відновленої і окисленої форм аскорбінових кислот свідчить про суттєве переважання концентрації ДАК над АК у 5-, 6-ти і 7-ми місячному віці відповідно на 23 ; 22,8 та 21,6, з послідуєчим наближенням їх концентрацій.

Концентрація ДК у плазмі сперми ростучих кнурців коливалась у межах від 0,3 до 0,85 мкмоль/л, де мінімальний показник зареєстровано у 5-ти місячних тварин, а максимальний – 10-ти місячному віці, з різницею між ними в 2,8 рази ($p < 0,001$), що вказує на насичення первинними продуктами пероксидації ліпідів цієї тканини зі збільшенням віку.

Встановлено суттєве підвищення у 2 рази ($p < 0,01$) вмісту ДК у плазмі сперми відбувалось протягом 8-го місяця розвитку із наступним плато до закінчення експерименту. Інкубування цієї тканини кнурців 5-, 6-ти і 7-ми місячного розвитку впливало на рівень досліджуваного метаболіту, який підвищувався відповідно у 2,2 ($p < 0,05$); 2,1 ($p < 0,01$) та 1,9 рази ($p < 0,01$), що свідчить про істотну дію цього процесу на перебіг ВРПО. Слід зазначити, що вплив температурного фактора зменшувався в послідуєчі періоди до закінчення експерименту.

У плазмі сперми кнурців впродовж досліджуваного періоду концентрація МДА була в широких межах 1,08 – 15,14, мкмоль/л, зростаючи із збільшенням віку. Кількість цього метаболіту найбільш інтенсивно підвищувалась впродовж 6-, 7-, 8-го і 9-го місяців розвитку кнурців відповідно в 3,8 ($p < 0,01$); 1,5; 1,5 та 1,6 рази. Інкубування цієї тканини суттєво прискорювало процес утворення МДА, інтенсивність його синтезу зменшувалась із збільшенням віку тварин.

Встановлено, що у спермі ростучих кнурців активність СОД змінювалась у межах від 0,091 до 0,35 у.о./мл, де мінімальний показник зареєстровано на 150-ту добу, а максимальний 270-у, що відображає загальне зростання рівня цього ензиму протягом зазначеного періоду. В подальшому до закінчення експерименту рівень даного ферменту дещо знижувалась у межах 11,4% порівняно з 9 – м місяцем розвитку. У цілому за період досліду в цій тканині кнурів виявлено збільшення активності СОД – 3,4 рази ($p < 0,001$).

3. Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у спермі і її плазмі кнурців ВЧ породи, (M±m), n=10

Показники ВРПО	Віктварин, 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	0,072 ±0,018	0,033 ±0,013	0,13 ±0,03	0,07 ±0,016	0,25 ±0,051	0,175 ±0,035	0,26 ±0,042	0,21 ±0,04	0,27 ±0,05	0,23 ±0,054	0,21 ±0,043	0,2 ±0,042
КТ, мкмоль Н ₂ О ₂ /хв.мл	37,49 ±6,21	19,58 ±5,20	46,30 ±4,87	24,07 ±5,01	45,44 ±4,67	32,18 ±3,34	44,18 ±5,04	38,76 ±3,86	47,13 ±4,03	42,54 ±4,40	43,35 ±6,51	41,66 ±6,50
ГТ, мкмоль/л	0,494 ±0,077	0,312 ±0,071	0,435 ±0,063	0,321 ±0,07	0,391 ±0,088	0,25 ±0,061	0,358 ±0,098	0,269 ±0,059	0,229 ±0,060	0,196 ±0,044	0,223 ±0,061	0,130 ±0,024
АК, мкмоль/л	41,44 ±6,59	39,92 ±5,94	39,50 ±4,74	40,11 ±4,90	38,57 ±2,53	38,11 ±1,90	36,03 ±3,98	33,89 ±3,26	34,27 ±3,27	34,56 ±5,14	35,16 ±3,85	34,13 ±2,58
ДАК, мкмоль/л	53,82 ±5,27	49,40 ±5,13	51,21 ±5,42	42,52 ±5,09	49,25 ±6,07	42,13 ±5,31	42,07 ±3,23	37,48 ±2,96	40,13 ±3,77	33,76 ±4,38	34,55 ±2,09	31,03 ±2,67
ДК, мкмоль/л	0,3 ±0,03	0,66 ±0,133	0,35 ±0,05	0,76 ±0,09	0,43 ±0,07	0,8 ±0,071	0,82 ±0,12	0,88 ±0,141	0,81 ±0,09	0,9 ±0,156	0,85 ±0,12	1,06 ±0,17
МДА, мкмоль/л	1,08 ±0,43	2,88 ±0,45	4,09 ±0,72	5,29 ±0,96	6,13 ±0,37	11,42 ±1,20	9,02 ±0,85	14,42 ±1,12	14,06 ±1,19	16,71 ±1,01	15,14 ±1,31	18,39 ±1,11
Сперма												
СОД, у.о./мл	0,091 ±0,02	0,06 ±0,016	0,17 ±0,037	0,076 ±0,02	0,31 ±0,067	0,21 ±0,043	0,32 ±0,045	0,28 ±0,045	0,35 ±0,059	0,37 ±0,076	0,31 ±0,052	0,35 ±0,063
КТ, мкмоль Н ₂ О ₂ /хв.мл	35,81 ±8,54	22,09 ±4,29	41,63 ±4,72	27,43 ±4,46	42,22 ±4,70	33,92 ±2,46	40,84 ±7,40	39,21 ±3,80	43,77 ±4,82	44,61 ±3,86	40,80 ±5,61	49,18 ±6,19
ГТ, мкмоль/л	0,605 ±0,075	0,471 ±0,095	0,567 ±0,077	0,473 ±0,103	0,473 ±0,076	0,302 ±0,086	0,457 ±0,068	0,319 ±0,058	0,425 ±0,051	0,341 ±0,061	0,415 ±0,117	0,312 ±0,06
АК, мкмоль/л	68,74 ±4,38	53,37 ±12,73	51,74 ±3,01	25,81 ±3,51	63,42 ±4,48	21,58 ±1,97	41,00 ±5,94	26,67 ±3,10	36,01 ±2,80	25,84 ±1,44	36,61 ±5,06	20,72 ±2,74
ДАК, мкмоль/л	55,23 ±5,37	27,78 ±3,54	50,71 ±4,91	27,82 ±2,42	33,22 ±3,45	30,20 ±3,04	46,25 ±4,10	33,78 ±2,74	48,56 ±4,29	19,03 ±1,23	45,53 ±5,52	16,75 ±1,40
ДК, мкмоль/л	0,44 ±0,05	0,84 ±0,06	0,61 ±0,08	1,02 ±0,14	0,79 ±0,06	1,02 ±0,10	1,32 ±0,10	1,83 ±0,17	1,72 ±0,18	2,23 ±0,18	1,7 ±0,16	3,04 ±0,19
МДА, мкмоль/л	1,32 ±0,4	4,09 ±0,59	4,68 ±0,8	8,77 ±0,73	7,21 ±0,68	19,23 ±1,60	11,54 ±0,9	22,72 ±1,40	17,79 ±0,94	25,48 ±1,22	25,84 ±2,56	42,91 ±2,98

Примітка: 1 – до інкубації; 2 – після інкубації

Рівень СОД у спермі кнурців після її інкубування знижувався, але цей вплив зменшувався із збільшенням їх віку. Так, у 150-ти денних кнурів активність зазначеного ензиму у проінкубованій даній тканині знижувалась на 34%, а по досягненні ними 250-ти денного віку зменшення її рівня становило лише 12,5%. По закінченні 9-го і 10-го місяців розвитку в проінкубованій спермі активність цього ензиму зростала відповідно на 5,7 і 12,9 %.

Отримані дані свідчать про лабільність рівня КТ у спермі кнурців, який змінювався з 35,81 по 43,77 мкмоль H_2O_2 /хв.мл, де перша величина зареєстрована на 150 – й, а друга 270 – й день розвитку. У цілому загальною динамікою даного ензиму було зростання активності від 5-ти до 6-ти місячного віку на 14%, з подальшим його плато до завершення експерименту. Істотний спад активності КТ у цій тканині відбувався після інкубування зменшуючись на 37,6 (150-та) ($p<0,01$), 34,1 (180-та) ($p<0,05$) і 19,6% (210-та доба розвитку). У більш дорослому віці кнурців на 300-у добу життя, спостерігалось підвищення рівня досліджуваного ензиму після інкубації на 17%.

Вміст ГТ у спермі кнурців знаходиться у межах 0,415 – 0,605 мкмоль/л. Насиченість цим метаболітом досліджуваної тканини протягом експерименту зменшувалась у 1,5 рази. Процес інкубування сперми суттєво знижував концентрацію ГТ у спермі кнурців 5-ти, 6-ти і 7-ми місячного віку відповідно на 22,1; 16,5 та 36,1%. В цілому у подальші періоди вплив температурного фактора на кількість даного метаболіту зменшувався.

У спермі молодих кнурців концентрація АК коливались з 36,01 по 68,74 мкмоль/л, а ДАК від 33,22 до 55,23 мкмоль/л, залежачи від віку. Мінімальним вмістом АК у досліджуваній тканині впродовж експериментального періоду характеризувались тварини у віці 9-ти місяців, а максимальним 5-ти місяців.

Отримані дані вказують на те, що з збільшенням віку кнурців насиченість сперми аскорбіновими кислотами зменшується. Так, встановлено, що найбільш істотний спад концентрації АК на 35,3% відбувся протягом 8-го місяця життя. Проте вже впродовж останніх двох місяців експерименту спостерігалось подальше зменшення її концентрації в межах 12%.

Рівень ДАК протягом експерименту поступово знижувався. Кількість окисленої форми аскорбінової кислоти порівняно з відновленою в окремі періоди розвитку кнурців була вищою, суттєва різниця між ними становила – 12,8 на 240-у, 34,9 ($p<0,05$) на 270-ту та 24,4% на 300-ту добу розвитку.

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 22,3 і 49,7% ($p<0,001$). По закінченню 6-го місяця розвитку вплив 3-х годинного інкубування полягав у зменшенні кількості аскорбінових кислот, відновленої форми на 50,1 ($p<0,001$), а окисленої – 45,1% ($p<0,01$). Однак, вже у посліуючі місяці знову спостерігалось суттєве зниження АК і ДАК після дії цього температурного фактора відповідно на 35,0 та 26,9 (8-й місяць), 28,2 і 61,0 (9-й місяць), 43,5 ($p<0,01$) та 63,2% (10-й місяць життя) ($p<0,001$).

Вміст ДК у спермі кнурців протягом досліджуваного періоду був лабільним коливаючись у діапазоні 0,44 – 1,72 мкмоль/л. Перший показник встановлено на 150-ту добу, другий – 270-та доба життя, що свідчить про зростання концентрації цих речовин у 3,9 рази ($p<0,001$). Особливістю динаміки ДК під час дослідження було зростання кількості цих речовин відносно початку досліджень на 27,8 (180-а доба) і 64,9% ($p<0,001$) (210-а доба життя). Упродовж 8-го і 9-го місяців концентрація вивчаемого метаболіту у тварин суттєво зростала відповідно на 40,1 (240-ва доба) та 23,2% (270-та доба), але протягом 10-го місяця вона була сталою. Процес інкубування сперми суттєво впливав на збільшення вмісту ДК у 5-ти – 47,6 ($p<0,001$), 6-ти – 40,2 ($p<0,05$), 7-ти – 22,5, 8-ми – 27,8, 9-ти 22,8 та 10-ти місячних кнурців – 44% ($p<0,001$).

Встановлено, що у спермі кнурців у залежності від віку кількість МДА змінювалась в межах від 1,32 до 25,84 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 3,5 рази ($p < 0,001$) впродовж 6-го місяця, з подальшим істотним її підвищенням протягом 7-го місяця життя в 1,5 рази ($p < 0,05$). Така закономірність спостерігалась упродовж 8-го, 9-го і 10-го місяців розвитку до максимальних значень.

Дані експерименту свідчать, що 3-х годинне інкубування сперми кнурців протягом досліджуваного періоду призводить до прискорення перебігу процесів ВРПО. 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 – 67,7% ($p < 0,001$). Однак, вже по закінченні 6-го і 7-го місяця розвитку відбувалось зниження показників приросту МДА під дією температурного фактора відповідно на 46,6 ($p < 0,01$) та 62,5% ($p < 0,001$). Менш вразливою до інкубування була сперма 9-ми та 10-ти місячних кнурців, де вміст цієї речовини підвищувався відповідно на 39,7 – 40,1%.

Висновки.

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

У спермі та її плазмі молодих кнурців у період становлення статевої функції процеси ВРПО прискорюються, рівень антиоксидантних ензимів (СОД і КТ) зростає, а неензимних антиоксидантів (ГТ, АК і ДАК) знижується.

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-ми місячних кнурців.

Перебіг процесів ВРПО у спермі кнурців порівняно із її плазмою відбувається більш інтенсивно.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть спрямовані на з'ясування особливостей формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у спермі кнурців різних напрямів продуктивності та розробку засобів із регуляції їх репродуктивної здатності.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Yeung CH, Cooper TG, 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., Twigg 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. Aitkena 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., Арчков 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.123-128.

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.Королюк, 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. Biochem. -1959.- №82.-P.70-77.

Шостя А.М. *Прооксидантно-антиоксидантный гомеостаз в плазме и сперме хрячков крупной черной породы*

В статье представлены отдельные особенности прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза в плазме и сперме хрячков крупной черной породы 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 КТ) возрастает, а низкомолекулярных антиоксидантов (ГТ, АК и ДАК) снижается. Инкубирование плазмы и спермы приводит к существенной интенсификации протекания процессов СРПО и истощению системы АОЗ, наиболее 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 относительно спермы происходит менее интенсивно.

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

A.M. Shostia. *Prooxidant and antioxidant homeostasis in plasma and sperm of boars of the large black breed*

In the article it is lit up some peculiarities of prooxidant and antioxidant homeostasis in plasma and sperm of boars of the large black breed 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 low molecular antioxidants (CT, AA and DC) lowering. The incubation of plasma and sperm causes to the essential