

## ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ ГОМЕОСТАЗ У ПЛАЗМІ ТА СПЕРМІ КНУРЦІВ ЧЕРВОНОЇ БІЛОПОЯСОЇ ПОРОДИ

**А. М. Шостя**, кандидат біологічних наук

*Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН, Україна*

*Досліджено особливості формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в плазмі і спермі кнурців червоної білопоясої породи у період становлення статеві функції. Встановлено, що рівень спермопродукції в молодих кнурців від 5-го до 7-го місяця життя суттєво зростає. Одержання по два еякуляти на тиждень від кнурців 9...10-місячного віку, в основному, не викликає зниження якості спермопродукції. В період становлення статеві функції в плазмі та спермі молодих кнурців процеси ВРПО прискорюються, рівень антиоксидантних ензимів (СОД і КТ) зростає, а неензимних антиоксидантів (ГТ) знижується. Перебіг процесів ВРПО в плазмі сперми кнурців порівняно зі спермою відбувається менш інтенсивно, але в першій тканині рівень активності КТ вищий.*

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

**Постановка проблеми.** У підвищенні ефективності використання високопродуктивних кнурів, суттєве значення має додаткове отримання повноцінних спермодоз з відібраного еякуляту, що має суттєве економічне значення. При цьому комерційне використання кнурів для штучного осіменіння свиней вимагає більш раннього віку їх використання та забезпечення отримання максимальної кількості еякулятів. Це потребує розробки ефективних методів раннього прогнозування якості спермопродукції у кнурців, особливо в напрямку розвитку окислювального стресу, ролі неферментних та ферментних антиоксидантів.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Спермії є дуже чутливими до зміни прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в організмі тварин. Джерелами реактивних форм кисню у цього виду гамет є мітохондрії і плазматичні мембрани. Функцію антиоксидантного захисту в спермі виконує її плазма, що вміщує антиоксиданти – супероксиддисмутазу (СОД), глутатіонпероксидазу, каталазу (КТ), що продукуються простатою і додатковими залозами [1], а також неферментні антиоксиданти: глутатіон (ГТ), метіонін, вітаміни С і Е [2, 3, 4].

За рівнем реактивного кисню у плазмі сперми можна прогнозувати фертильність у тварин. Висока запліднююча здатність сперміїв потребує фізіологічно високого рівня активних форм кисню та системи антиоксидантного захисту, що забезпечує нормальне запліднення, а

виснаження антиоксидантного захисту може викликати безпліддя [5, 6].

Фізіологічний рівень вільних радикалів і аніонів пероксидів, які продукуються сперміями, є необхідним для їх капацитації, реакції прилипання до зони пелюциди ооциту, стимуляції процесів гіперактивації та злиття з ооцитом. Проте, надмірний рівень активних форм кисню може спричинити зниження рухливості сперміїв та порушення процесів злиття їх з ооцитами.

Встановлення закономірностей формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у плазмі та спермі кнурів стане основою для розробки різних способів і методів корекції якості спермопродукції з подальшим отриманням повноцінного потомства.

**Метою досліджень** було з'ясувати закономірності і особливості прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в плазмі та спермі кнурців червоної білопоясої породи у період становлення статевої функції.

**Матеріали і методи дослідження.** В експериментах використовували кнурців свиней червоної білопоясої породи, яких утримували 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.

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-го по 10-го місяці – 8 садок. Якість спермопродукції визначали за такими показниками: об'єм еякуляту, концентрація, рухливість і виживаність сперміїв.

Для оцінки прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу відбирали щомісячно зразки сперми від 5-го до 10-го місяця життя. Оцінювали рівень перебігу вільнорадикального окислення (ВРПО) у плазмі і спермі за концентрацією первинних продуктів пероксидації – дієнових кон'югатів (ДК) [7] та вторинних продуктів – малонового діальдегіду (МДА) [8].

Рівень антиоксидантного захисту в спермі та її плазмі оцінювали за активністю СОД [9] і КТ [10], а також концентрацією ГТ [11]. Активність ферментних і вміст неферментних антиоксидантів та метаболітів у спермі кнурців розраховували на 0,2 мільярди сперміїв у 1 мл.

**Виклад основного матеріалу дослідження.** Отримані експериментальні дані свідчать, що в кнурців об'єм еякуляту протягом досліджуваного періоду підвищувався в 6,3 рази ( $P < 0,001$ ), при цьому найбільш інтенсивно зростав впродовж 6-го місяця в 2,2 рази ( $P < 0,001$ ) (табл. 1). Протягом 7-го і 8-го місяців життя встановлено суттєве зростання об'єму еякуляту в – 2 рази ( $P < 0,001$ ), а в послідуочий період від 8-го до 10-го місяця – продовжувалось зростання на 38,7% ( $P < 0,01$ ).

**Динаміка показників якості спермопродукції  
у кнурців червоної білопоясої породи,  $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$**

Показники	Вік тварин, місяці							
	<i>n</i>	5	6	7	8	<i>n</i>	9	10
Об'єм еякуляту, мл	20	33,65 ±3,29	74,35 ±4,35	106,65 ±6,92	146,55 ±5,54	40	175,3 ±5,52	211,45 ±5,37
Концентрація спермійв, млрд/мл	20	0,163 ±0,01	0,234 ±0,014	0,289 ±0,021	0,246 ±0,021	40	0,212 ±0,012	0,215 ±0,013
Загальна кількість живих спермійв, млрд	20	3,40 ±0,74	12,52 ±1,56	25,48 ±4,37	26,09 ±2,80	40	28,62 ±1,48	33,92 ±1,75

**Примітка:** *n* – кількість дослідних зразків сперми

Концентрація спермійв в еякуляті кнурців з 150-ї по 210-у доби життя суттєво зростала в 1,8 рази ( $P < 0,01$ ) до максимальних значень. Протягом 9-го і 10-го місяців цей показник знижувався порівняно із 8 місяцем розвитку відповідно на 13,8 та 12,6%.

Із збільшенням віку тварин кількість живих спермії в еякуляті істотно зростала протягом експериментального періоду з 3,4 до 33,92 млрд в еякуляті. Істотне зростання кількості цих гамет відбувалось від 150-ї до 210-ї доби життя в 7,5 рази ( $P < 0,001$ ). Підвищення статевого навантаження на кнурців 9-ти та 10-ти місячного віку сприяло незначному зростанню цього показника відповідно на 8,2 та 23%.

Рухливість спермійв у кнурців 5...10-місячного віку показало коливання в межах від 58,5 до 81,6% (табл. 2).

**Показники рухливості і виживаємості спермійв у кнурів (%),  $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$**

Вік тварин, місяців											
5		6		7		8		9		10	
Д	П	Д	П	Д	П	Д	П	Д	П	Д	П
58,5 ±2,55	19,5 ±3,43	70,00 ±1,95	51,5 ±2,02	74,00 ±1,93	64,75 ±1,66	74,5 ±1,54	66,75 ±1,85	80,5 ±0,99	69,63 ±1,02	81,63 ±0,93	68,5 ±1,38

**Примітка:** Д – рухливість спермійв у свіжій спермі; П – переживаємість спермійв

Із збільшенням віку кнурців спостерігалось зростання активності гамет. Впродовж 6-го місяця життя відбувалось підвищення активності спермійв у кнурців на 16,4%, у той час як їх переживаємість зросла відповідно в 1,2 рази. Рівень досліджуваних показників продовжував підвищуватись до досягнення тваринами 300-денного віку.

Визначення рівня СОД у плазмі сперми кнурців показало, що її активність була лабільною, знаходячись в межах 0,05...0,25 у.о./мл (табл. 3), де мінімальний показник встановлено на 150-у, а максимальний на 240-ту доби життя. Особливістю динаміки цього ферменту було підвищення рівня протягом 6-, 7- і 8-го місяця розвитку в 5 разів ( $P < 0,001$ ), з послідовним зниженням до закінчення експерименту на 12%.

Таблиця 3

**Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у плазмі та спермі кнурців червоної білопоясої породи, ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ),  $n=10$**

Показники ВРПО	Вік тварин, місяці					
	5	6	7	8	9	10
Плазма сперми						
СОД, у.о./мл	0,05 ±0,013	0,17 ±0,038	0,18 ±0,018	0,25 ±0,059	0,21 ±0,037	0,22 ±0,053
КТ, мкмоль Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /хв.мл	20,32 ±3,26	26,35 ±7,22	36,34 ±3,43	35,37 ±4,56	37,30 ±4,26	37,34 ±4,72
ГТ, мкмоль/л	0,645 ±0,095	0,418 ±0,072	0,253 ±0,052	0,219 ±0,062	0,227 ±0,058	0,163 ±0,032
ДК, мкмоль/л	0,72 ±0,08	0,77 ±0,116	0,91 ±0,113	1,34 ±0,101	1,31 ±0,257	1,36 ±0,201
МДА, кмоль/л	1,92 ±0,53	2,76 ±0,67	6,37 ±0,76	8,89 ±1,47	17,19 ±2,07	18,87 ±2,18
Сперма						
СОД, у.о./мл	0,08 ±0,064	0,21 ±0,053	0,25 ±0,084	0,27 ±0,061	0,31 ±0,053	0,28 ±0,057
КТ, мкмоль Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /хв.мл	18,61 ±3,99	22,33 ±3,45	30,70 ±3,40	32,02 ±4,11	33,67 ±3,70	34,85 ±4,78
ГТ, мкмоль/л	0,58 ±0,078	0,408 ±0,074	0,354 ±0,069	0,343 ±0,054	0,302 ±0,06	0,291 ±0,05
ДК, мкмоль/л	0,89 ±0,13	1,06 ±0,17	1,15 ±0,16	1,44 ±0,22	1,46 ±0,28	1,48 ±0,25
МДА, кмоль/л	2,16 ±0,42	4,21 ±0,64	9,74 ±0,77	10,82 ±1,12	24,52 ±2,28	24,28 ±2,26

Дослідження рівня КТ в плазмі сперми кнурців показало постійну зміну її активності від 20,32 до 37,3 мкмоль Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/хв.мл, де перший показник встановлено в 5-ти, а другий 10-ти місячному віці, з різницею між ними 45,5% ( $P < 0,001$ ), що вказує на стрімку динаміку зростання активності впродовж зазначеного періоду. Протягом останнього місяця експерименту рівень цього ензиму суттєво не змінювався.

Вміст ГТ у плазмі сперми кнурців впродовж експериментального періоду був у межах від 0,163 до 0,645 мкмоль/л. У зазначеній тканині спостерігалось зменшення кількості цієї речовини з 5-го по 10-й місяць розвитку майже в 4 рази ( $P < 0,001$ ).

Кількість ДК у плазмі сперми кнурців коливалась в межах від 0,72 до 1,36 мкмоль/л, де перший показник зареєстровано у 5-місячних тварин, а другий – 10-місячному віці, з різницею між ними в 1,9 рази ( $P < 0,01$ ), що вказує на насичення первинними метаболітами пероксидації ліпідів цієї тканини зі збільшенням віку. Необхідно зазначити, що суттєве підвищення концентрації ДК відбувалось протягом 8-го місяця розвитку на 32,1% з наступним плато до закінчення експерименту.

У плазмі сперми кнурців різних генотипів впродовж досліджуваного періоду вміст МДА був у широких межах 1,92...18,87 мкмоль/л, зростаючи із збільшенням віку. Кількість цього метаболіту найбільш інтенсивно збільшувалась впродовж 6-, 7- і 9-го місяців розвитку в кнурців відповідно в 1,4; 2,3 ( $P < 0,01$ ); 1,9 ( $P < 0,001$ ) рази.

Виявлено, що в спермі кнурців активність СОД була лабільною будучи в діапазоні від 0,08 до 0,31 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. Однак, впродовж 10-го місяця розвитку кнурців у цій тканині спостерігався спад активності даного ферменту на 9,7%. В цілому за період експерименту в цій тканині кнурів встановлено збільшення рівня СОД – 3,5 рази.

Дані експерименту свідчать про лабільність рівня КТ у спермі кнурців, в діапазоні 18,61...34,85 мкмоль  $H_2O_2$ /хв.мл, де перша величина встановлена на 150-й, а друга 300-й день розвитку. В цілому загальною закономірністю зміни цього ензиму було істотне зростання активності від 5-го до 7-ми місячного віку на 39,4% ( $P < 0,05$ ), з подальшим її підвищенням до завершення дослідження.

У спермі кнурців концентрація ГТ знаходилась в межах від 0,291 до 0,58 мкмоль/л. Насиченість ГТ у досліджуваній тканині протягом експерименту зменшилась майже вдвічі. Особливістю динаміки цієї речовини було зниження її кількості протягом 6-го і 7-го місяців відповідно на 29,7 та 38%, з послідуєчим плато впродовж 8-го місяця та подальшим незначним зменшенням до закінчення дослідження.

Кількість ДК у спермі кнурців впродовж експериментального періоду була лабільною знаходячись в діапазоні 0,89...1,48 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 1,7 рази. Особливістю динаміки ДК під час

дослідного періоду було зростання кількості цих речовин відносно початку досліджень на 38,2 (240-а доба) із подальшим плато до 300-ї доби розвитку.

Виявлено, що концентрація МДА в спермі кнурців перебувала в залежності від віку, будучи в межах від 2,16 до 24,52 мкмоль/л. Мінімальний показник виявлено на 5-й місяць, а максимальний – на 9-й місяць життя. Кількість зазначеного метаболіту протягом експерименту змінювалась таким чином: стрімке збільшення концентрації на 48,7 впродовж 6-го місяця, з подальшим істотним її підвищенням протягом 7-го місяця життя на 43,2%. Така закономірність спостерігалась також упродовж 9-го місяця більш ніж двократне зростання вмісту цього метаболіту до максимальних значень.

**Висновки і перспективи досліджень.** Інтенсивність сперматогенезу в молодих кнурців від 5-го до 7-го місяця життя суттєво зростає. Отримання по два еякуляти на тиждень від кнурців 9...10-місячного віку, в цілому не знижує якість спермопродукції. 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) знижується. Найбільш інтенсивно ці процеси відбуваються протягом 6-го та 8-го місяців їх розвитку. Перебіг процесів ВРПО в плазмі сперми кнурців порівняно зі спермою відбувається менш інтенсивно.

Подальші дослідження з вивчення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у спермі кнурців червонобілопоясої породи будуть спрямовані на розробку засобів із регуляції їх репродуктивної здатності.

#### **Список використаних джерел:**

1. 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 [et al.] // *Molecular Human reproduction*. — Vol. 4. — P. 835—839.
2. 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. — No. 11. — P. 2801—2807.
3. Sikka S. C. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function / S. C. Sikka // *Front. Biosci.* — 1996. — No 1. — P. 78—86.
4. Formation of reactive oxygen species by spermatozoa from asthenospermic patients: response to treatment with pentoxifylline / H. Okada, N. Tatsumi, M. Kanzaki [et al.] // *J. Urol.* — 1997. — Vol. 157(6). — P. 2140—2146.
5. Total antioxidant capacity of human seminal plasma / [R. Smith, D. Vantman, J. Ponce, J. Escobar] // *Human Reproduction*. — Vol. 11. — P. 1655—1660.
6. Relative Impact of Oxidative Stress on the Functional Competence and Genomic Integrity of Human Spermatozoa / [R. J. Aitken, E. Gordon, D. Harkiss, J. P. Tvigg] // *Biology of Reproduction*. — 1998. — Vol. 59. — P. 1037—1046.
7. Стальная И. Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных

высших жирных кислот : в кн. Современные методы биохимии / И. Д. Стальная. — М. : Медицина, 1977. — С.63—64.

8. Посібник з експериментально-клінічних досліджень з біології та медицини / за ред. І. П. Кайдашева. — Полтава, 1996. — С.123—128.

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

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

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

**А. М. Шостя. Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз в плазме и сперме хрячков красной белопопсой породы в период становления половой функции.**

*Исследовано особенности формирования прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза в плазме и сперме хрячков красной белопопсой породы в период становления половой функции. Установлено, что уровень спермопродукции в молодых хрячков от 5-го до 7-го месяца жизни существенно увеличивается. Получение по два эякулята в неделю от хрячков 9-10-месячного возраста, в основном, не вызывает снижения качества спермопродукции.*

**Ключевые слова:** хрячки, сперма, прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз.

**A. Shostya. Prooxidant-antioxidant homeostasis in plasma and semen of boars of red white-belted breed during the formation of sexual function.**

*The forming of prooxidant-antioxidant homeostasis in plasma and semen of red white-belted breed during the formation of sexual functions had been examined. It was found that the level of semen of young boars from the 5th until the 7th month of life is increases significantly. Getting two of ejaculate per week from the boars of 9-10 months of age, mostly, does not cause a reduction in the quality of semen.*

**Key words:** boars, semen, prooxidant-antioxidant homeostasis.