

ВПЛИВ СОРБЕНТІВ НА ЯКІСНІ ПОКАЗНИКИ ТА РІВЕНЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ СПЕРМИ БУГАЇВ-ПЛІДНИКІВ

О.Б. Сушко, О.В. Соклакова, М.С. Савельєва

Інститут тваринництва УААН

М.Є. Романько, Л.В. Коваленко

Інститут експериментальної та клінічної ветеринарної медицини

Встановлено, що введення в інгредієнтний склад розріджувача сперми препаратів-сорбентів (атоксу і сорбоверу) інгібує розвиток процесу перекисного окислення ліпідів і підвищує рівень якісних показників спермій після їх кріо- та деконсервації.

сперма бугаїв, сорбенти, перекисне окиснення ліпідів

На даний час, при використанні всіх існуючих технологій кріоконсервації сперми втрати спермопродукції становлять 10-20% [3]. Крім того, під впливом процесу заморожування-відтавання гине 40–60 % статевих клітин внаслідок руйнування і виникнення аномалій їх мембранних структур, що призводить до порушення функціональної повноцінності і зниження запліднювальної здатності кріоконсервованої сперми.

Ефективність штучного осіменіння, як засобу підвищення племінних і продуктивних якостей поголів'я за рахунок використання сперми високоцінних бугаїв-плідників, нерозривно пов'язана з рівнем життєздатності клітин після процесів кріо- та деконсервації, протягом яких сперма підлягає негативному впливу низьких температур і великих температурних та концентраційних градієнтів, а також появи токсичних продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Інтенсифікацію ПОЛ можна інгібувати та стабілізувати введенням до інгредієнтного складу розріджувачів сорбентів, здатних гальмувати утворення структурно змінених сполук, які можуть індукувати виникнення токсичних для спермій вільних радикалів, атомарного кисню, перекисів різного походження, виконуючи роль активного антиоксиданта [3-6].

Метою досліджень було вивчення ефективності введення в розбавлювачі сперми плідників біологічно-активних добавок біогенно-стимулюючої та антиоксидантної дії.

Методика досліджень. У дослідах була використана нативна сперма бугаїв української червоно-рябої та чорно-рябої датської порід, розбавлена після отримання, візуальної та мікроскопічної оцінки лактозо-гліцеринно-жовтковим (11% розчин лактози – 63 мл., жовток курячих яєць – 30 мл, гліцерин – 7 мл) середовищем № 1 у співвідношенні 1:1 згідно з Харківською технологією (1). Остаточне розрідження до концентрації спермій 15 млн/мл сперми проводили лактозо-цитрато-гліцеринним розріджувачем №2 наступного складу: лактоза - 6,0 г, натрій

лимоннокислий тризаміщений п'ятиводний - 1,4 г, гліцерин - 5,0 г, вода бідистильована - 100 мл з вмістом дослідних біодобавок-сорбентів: синтетичного препарату - атоксу марки А-300, що являє собою високодисперсний окис кремнію, та природного препарату – сорбоверу, який є алюмосилікатом і має розвинуту пористу структуру, яка сприяє активному поглинанню токсичних продуктів, що виникають при заморожуванні та відтаванні сперми. Концентрація дослідних препаратів-сорбентів: атоксу і сорбоверу в середовищі №2 становила 0,06; 0,125; 0,25; 0,5; 1%. Контролем були зразки сперми, розбавлені звичайними середовищами №1 і №2 без вмісту сорбентів. Усі досліди проведені на розділених еякулятах. Розфасовку сперми в облицьовані гранули, її адаптацію, еквілібрацію, кріо – та деконсервацію проводили згідно з рекомендаціями Харківської технології асептичного одержання і кріоконсервації сперми бугаїв-плідників [1]. Якісні показники деконсервованої сперми (n=110) визначали за загальноприйнятою методикою та відповідності отриманих даних згідно з діючим ДОСТУ [7]. Антиокисну активність ліпідів, екстрагованих із середовища для розрідження сперми, яке складалося із середовищ №1 та №2 з'єднаних у середньому співвідношенні 1:5 і розрідженої сперми до і після її кріо- та деконсервації визначали за ступенем здатності гальмувати накопичення продуктів 2-тіабарбітурової кислоти (ТБК) відносно контрольних зразків, що не містили дослідні сорбенти і визначали у відсотках (%) інгібування окиснення жовткових ліпопротеїдів сперми [2]. Спектр поглинання ТБК-активних продуктів реєстрували за допомогою двопроменевого спектрофотометра Specord UV VIS в лабораторії біохімії Інституту експериментальної та клінічної ветеринарної медицини УААН.

Результати досліджень. Аналізуючи дослідні дані, надані в табл.1, слід зазначити, що найбільш ефективними концентраціями біологічно-активних препаратів є їх найменші концентрації - 0,06 і 0,125%.

1.Якісні показники сперми ,замороженої в розріджувачах з вмістом сорбентів атоксу та сорбоверу після відтавання при +40°С (n=110)

Назва сорбентів	Концентрація сорбентів, %	Активність спермійв після заморожування, бали	Абсолютний показник виживаності, ум.од.	Вихиваність, год
Атокс	0,06	4,5±0,21	34,3±2,13	10±0,81
Атокс	0,125	4,0±0,04	25,1±2,31	8,8±0,72
Атокс	0,25	3,8±0,11	18,8±1,98	8±0,95
Атокс	0,5	3,8±0,13	14,3±2,05	5,5±0,75
Атокс	1	3,2±0,17	11,3±1,41	5,5±0,68
Сорбовер	0,06	4,5±0,31	29,9±0,98	11±1,21
Сорбовер	0,125	3,9±0,12	27,1±1,16	9,3±0,56
Сорбовер	0,25	3,9±0,24	15,4±1,97	6,4±0,65
Сорбовер	0,5	3,8±0,14	15,5±2,01	6,6±0,89
Сорбовер	1	3,4±0,27	8,1±2,71	5,0±1,04
Контроль	—	4,1±0,12	14,8±2,06	6±0,91

При їх використанні дослідні зразки сперми мали найвищий рівень значень якісних показників у порівнянні з іншими використаними концентраціями і контролем. Введення в розріджувач дослідних сорбентів у концентраціях 0,25; 0,5 та 1% дещо пригнічувало життєздатність(активність) сперми в порівнянні з аналогічними показниками зразків з вмістом атоксу та сорбоверу 0,06 та 0,125%, що свідчить про чутливість статевих клітин до цих доз препаратів, що знаходить вираження в незначному зменшенні кількості деконсервованих спермій з поступово-прямолінійним рухом, не викликаючи, проте, зниження інших показників відносно ДОСТУ [7].

У табл.2 подано дані антиокислювальної активності ліпідів сперми після її розрідження, кріо- і деконсервації та використаного в досліді розріджувача.

2. Антиокислювальна активність сорбентів атоксу і сорбоверу, введених в розріджувачі сперми (n=15)

Назва та концентрація дослідних сорбентів	Інгібування ПОЛ розрідженої сперми, %	Інгібування ПОЛ сперми після її кріоконсервації, %	Інгібування ПОЛ розріджувача, %
Контроль	36,4	34,9	54,5
Атокс 0,06	62,8	69,8	70,3
Атокс 0,125	48,4	39,1	56,4
Сорбовер 0,06	84,0	41,8	61,4
Сорбовер 0,125	67,6	22,9	70,3

Із даних таблиці видно, що дослідні сорбенти мають активну антиоксиданту дію, що свідчить про гальмування та упередження розвитку процесу інтенсифікації окисних реакцій вільнорадикального характеру, найбільш поширеним субстратом для яких є ліпіди мембран і жовтка курячого яйця, який є невід'ємною складовою частиною розріджувача.

Якщо прийняти за 100% величину інгібування ПОЛ у контролі, то у спермі, розрідженій середовищем з вмістом атоксу 0,06 і 0,125 % рівень АОА збільшився на 200, 112%, а в замороженій спермі – на 172 та 132 % відповідно. При внесенні в розріджувач сперми препарату сорбоверу в аналогічних концентраціях рівень АОА підвищується на 119 і 112% – для розрідженої сперми, на 230 і 185% – для замороженої, відповідно. Слід зазначити, що отримані зазначені експериментальні дані найвищими показниками життєздатності сперми співпадають з найвищим рівнем АОА сперми при інгібуванні ПОЛ, що є ще одним доказом ефективності використання дослідних сорбентів у цих концентраціях, як інгредієнтів розріджувачів та стабілізаторів нормального метаболізму та функціонування спермій бугаїв.

Слід зауважити, що протягом досліджень ми не спостерігали пригнічення рухливості (окрім зразків з вмістом сорбентів 0,25;0,5;1,0%) або аглютинації спермій. Навпаки, ми реєстрували в досліді високий рівень життєздатності статевих клітин, що свідчить про позитивну біогенно-стимулюючу дію і відсутність токсичності досліджуваних

сорбентів. Необхідно відмітити, що кінцева концентрація дослідних сорбентів у спермі після її розрідження нижча початкової за рахунок первинного розрідження визначеного об'єму нативної сперми аналогічною кількістю лактозо-гліцеринового середовища №1, що використовується в Харківській технології. Таким чином, приведені експериментальні дані свідчать про високу біологічну та антиоксидантну активність дослідних сорбентів атоксу і сорбоверу і гальмування розвитку токсичних змін у статевих клітинах бугаїв. Внесення цих препаратів інгібує перекисне окиснення ліпідів розріджувача і мембран сперміїв, що має місце при кріо- і деконсервації сперми, нормалізує протікання метаболічних процесів, захищає і підвищує стійкість мембран цих клітин до негативної дії субнульових температур та високих температурних градієнтів, що виникають при заморожуванні та відтаванні сперми.

Для остаточного вирішення використання дослідних сорбентів у складі деконсервованої сперми був проведений науково-виробничий дослід по штучному осіменінню корів (272 голови) спермою замороженою з використанням розріджувача з вмістом препаратів антиоксидантної дії. Запліднюваність тварин після першого осіменіння спермою з додаванням сорбентів у концентраціях 0,06 та 0,125% становила при використанні атоксу 72 і 64, а сорбоверу - відповідно 67 і 67%. Рівень запліднюваності корів після осіменіння контрольною спермою (без сорбентів) становив 60%.

Висновки:

1. Введення препаратів атоксу і сорбоверу в концентраціях 0,06 і 0,125% в інгредієнтний склад розріджувачів сперми підвищує стійкість статевих клітин до негативної дії низьких температур та сприяє кращому збереженню життєздатності генетичного матеріалу.

2. Дослідні препарати атокс і сорбовер мають високу антиокислювальну активність, що свідчить про активне інгібування і стабілізацію процесів перекисного окиснення ліпідів, які спостерігаються при кріо- та деконсервації сперми.

Бібліографічний список

1. Харьковская технология асептического взятия и криоконсервации спермы быков-производителей. Методические рекомендации. – Х. 1990., - 47 с.
2. Клебанов Т.И., Бабенкова И.В., Тесемкин Ю.О., Комаров О.С., Владимиров Ю.Е. Оценка АОА плазмы крови с применением ТБК. //Лабораторное дело. – 1983. -№5. – С. 59-62.
3. Бегма Л.О Універсальна стабілізуюча добавка для середовищ заморожування сперми ..-1990.-Л.-1 Республіканська наукова конференція. Біотехнологічні дослідження і перспективи їх розвитку.
4. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах М.-Атомиздат.-1972.-245С
5. Бурлакова Э.Б., Храпова Н.Г. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты // Успехи химии.-1985.-Т.543.-№9.С.1540-1558.

6. Романько М.Є. Перекисне окислення ліпідів та його регуляція в організмі тварин за умов радіонуклідного впливу та при ентеросорбції. Автореферат на здобуття наук. ступеню к.б.н. -Х.-2002.-С.20.
7. ГОСТ СССР 26030-83. Сперма быков замороженная-технические условия.- Введ.01.01.84.-М.: Изд-во Колос, 1983.-3 с.

*ВЛИЯНИЕ СОРБЕНТОВ НА КАЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ И УРОВЕНЬ
ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ СПЕРМЫ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ*

А.Б.Сушко, О.В.Соклакова, М.С.Савельева

Институт животноводства УААН

М.Е. Романько, Л.В. Коваленко

Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины

Установлено, что введение в ингредиентный состав разбавителя спермы препаратов – сорбентов (атокса и сорбовера) ингибирует развитие перекисного окисления липидов и повышает уровень качественных показателей спермиев после их крио- и деконсервации.

*SORBENTS IMPACT ON THE QUALITY INDICES AND THE SIRES SPERM LIPIDS
SUPER-OXIDATION RATE*

O.B.Sushko., O.V Soklakova., M.S Savelyeva

The institute of animal science UAAS

M.E Romanko, L.V. Kovalenko

The institute of experimental and clinical veterinarian medicine

It was proved that the introduction of sorbents (atox and sorbover) into the sperm solvent ingredient structure inhibits the lipids superoxidation development. These sorbents flux increases spermatozooids qualitative indices grade after their cryopreservation and deconservation.