



УДК 636.2.082.453.5:591.463.1

## ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ЕМОКСИПІНУ У ЗАХИСНИХ СЕРЕДОВИЩАХ ДЛЯ КРІОКОНСЕРВУВАННЯ СПЕРМИ БУГАЇВ

Савельєва М. С., Сушко О. Б.  
Інститут тваринництва НААН

Щербак О. В.

Харківська державна зооветеринарна академія

*Вивчено вплив препарату антиоксидантної дії Емоксипін на рівень накопичення продуктів перекисного окислення ліпідів при кріоконсервуванні у розбавленій спермі бугаїв. Доведено позитивний ефект від застосування Емоксипіну, що виражається у підвищенні виживаності сперми після заморожування-відтавання. Також встановлено підвищення запліднюючої здатності на 14,4-15,8%.*

Ключові слова: **сперма, перекисне окислення ліпідів, антиоксидантний препарат, рухливість, виживаність.**

Процеси вільнорадикального окислення відіграють не останню роль в урегулюванні нормального функціонування сперміїв. Це пов'язано з тим, що ці реакції являються невід'ємною частиною різних метаболічних процесів, причиною морфологічних та функціональних змін у сперміях. Рівень накопичення продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) може бути охарактеризовано на підставі визначення концентрації дієнових кон'югатів, що утворюються на першому етапі, та концентрації малонового діальдегіду, який є кінцевим продуктом окислювальної дегідратації ліпідів [1-4]. Активація процесів ПОЛ призводить до утворення довгих ланцюгів альдегідів, полімерів та інших речовин здатних негативно вплинути на біологічні показники репродуктивних клітин.

Останнім часом з'явилася зацікавленість щодо застосування ефективних препаратів антиоксидантної дії у середовищах, які застосовуються у біотехнологічних операціях, включаючи розбавники сперми [5-7].

Метою нашого дослідження було вивчення ефективності застосування антиоксидантного засобу Емоксипін в якості компонента середовищ, що використовуються при розбавленні та кріоконсервуванні сперми. Цей препарат широко використовується як антиоксидант у ряді фармакологічних засобів, однак, не вивчався як компонент захисних середовищ при заморожуванні сперми бугаїв.

**Матеріали та методи досліджень.** Дослідження проводили на спермі бугаїв-плідниках чорно-рябої голштинської та сментальської порід, що належали племінному підприємству ІТ НААН та Харківському обласному підприємству з племінної справи у тваринництві. При отриманні, кріоконсервуванні та використанні сперми плідників застосовувався регламент та обладнання Харківської технології [8]. Використовували середовища виготовлені за рецептурою СДС-1, СДС-2 [8]. У досліді до середовищ додавали препарат Емоксипін, у контролі застосовували аналогічні середовища без додавання цього засобу. В усіх дослідженнях на спермі використовувався принцип „розділених еякулятів”. В досліді по штучному осіменінню використовували групи тварин –аналогів.

Статистичну обробку отриманих результатів життєздатності сперми у дослідних та контрольних групах проводили з застосуванням методів варіаційної статистики розроблених Плохінським Н. А. [9], та програмне забезпечення Excel.



**Результати досліджень.** На першому етапі було вивчено Емоксипін як фактор гальмування процесів ПОЛ. У досліді препарат вводили у концентрації 0,1 % в кожен із розріджувачів, що використовувався шляхом послідовного додавання до нативної сперми. Результати проведеного експерименту наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

**Рівень продуктів перекисного окислення ліпідів у в свіжорозбавленій та заморожено-відтаненій спермі бугаїв при використанні в середовищі для розбавлення препарату Емоксипін (n=10)**

Продукти ПОЛ	Лактозо-жовтково-цитратний розріджувач (контроль)			Деконсервована сперма	Лактозо-цитратний розбавлювач з Емоксипіном (дослід)			Деконсервована сперма
	свіжорозбавлена сперма				свіжорозбавлена сперма			
	0 хв	30 хв	240 хв		0 хв	30 хв	240 хв	
ДК, Мкмоль/мл	9,36 ±1,50	10,02 ±1,31	11,53 ±1,00	17,98 ±1,80	8,15 ±1,33	9,09 ±0,20	13,04 ±1,40	14,53 ±2,17
МДА, мкмоль/л	1,92 ±0,54	2,75 ±0,20	2,87 ±0,33	5,98 ±0,57*	1,90 ±0,51	2,01 ±0,21	2,19 ±0,28	4,01 ±0,50*

Примітка. \* -  $P > 0,95$ .

Не зважаючи на введення в розбавлювачі препарату Емоксипін, тенденція щодо накопичення продуктів ПОЛ у системі середовище-сперма в процесі еквілібрації-адаптації зберігалась. Хоча відмічено дещо нижчий рівень кінцевого продукту ПОЛ – малонового діальдегіду 2,19 проти 2,87 мкмоль/л перед заморожуванням, але ця різниця не була статистично достовірною ( $P < 0,90$ ). Щодо концентрації первинного продукту перекисного окислення – дієнового кон'югату, то на етапі витримки сперми при позитивних та субнульових температурах, взагалі не відмічено будь-якого суттєвого впливу засобу, що випробовувався.

В той же час встановлено, що після заморожування і деконсервації рівень МДА був нижчий на 49,0 %, 4,01 проти 5,98 мкмоль/л. І в цьому випадку зниження концентрації МДА є достовірним ( $P > 0,95$ ). Тобто, при застосуванні препарату Емоксипін антиоксидантний ефект відмічається саме на етапі заморожування-відтанення статевих клітин.

У наступному етапі досліджень, що до Емоксипіну було проведено визначення показників біологічної якості сперми після використання антиоксидантного засобу в захисних середовищах. Результати проведеного дослідження представлені в таблиці 2.

Додавання до розріджувача сперми бугаїв-плідників препарату Емоксипін антиоксидантної дії забезпечує деяке підвищення основних фізіологічних показників заморожено-відтаненої сперми. Так, рухливість сперми в дослідній групі в середньому становила –  $4,66 \pm 0,14$  бали, виживаність (t) –  $6,33 \pm 0,23$  години, показник абсолютної виживаності (Sa) –  $23,25 \pm 0,35$  ум.од. В контрольних зразках деконсервованої сперми показники складають активність –  $4,25 \pm 0,10$  бали, виживаність –  $5,25 \pm 0,08$  годин, показник абсолютної виживаності (Sa) –  $22,6 \pm 0,34$  ум.од. Таким чином, у процентному відношенні рівень такого важливого показника як виживаність зріс на 20,5 % ( $P > 0,95$ ).



Таблиця 2

**Якісні показники сперми після деконсервації з використанням антиоксиданту Емоксипін та без нього (n=11)**

Групи	Показники деконсервованої сперми		
	рухливість після деконсервації, бали (%)	виживаність, годин (t)	показник абсолютної виживаності (sa), ум.од.
Сперма з додаванням Емоксипіну (дослід)	4,66±0,14	6,33±0,23*	23,25±0,35
Сперма без додавання Емоксипіну (контроль)	4,25±0,10	5,25±0,08	22,6±0,34

Примітка. \* - P > 0,95.

Було проведено дослід по використанню вищезазначеного препарату антиоксидантної дії для визначення його впливу на запліднювальну здатність корів і телиць після осіменіння заморожено-відтаяною спермою бугаїв-плідників (табл. 3).

Таблиця 3

**Запліднююча здатність сперми, кріоконсервованої у середовищах з додаванням препарату антиоксидантної дії Емоксипін**

Група	Дослід			Контроль		
	всього, гол	запліднилося від 1 осіменіння, гол.	процент корів, що запліднилися від 1 осіменіння	всього, гол	запліднилося від 1 осіменіння, гол.	процент корів, що запліднилися від 1 осіменіння
Корови	77	47	68,00±2,92*	30	16	53,58±2,43
Телиці	163	98	74,41±4,58**	65	39	58,61±4,40
Корів і телиць всього	240	145	72,23±5,42**	95	55	57,27±3,71

Примітка. \* - P > 0,95, \*\* P > 0,99.

**Висновки:**

1. Доведено, що застосування препарату з антиоксидантними властивостями Емоксипін у середовищах для розбавлення сперми сприяє підвищенню основних біологічних показників сперми: рухливості на 0,41 бали, виживаності 1,08 год., показника абсолютної виживаності 0,65 умов.од.,

2. Штучне осіменіння тварин спермою, що була кріоконсервована у середовищах з Емоксипіном, забезпечує підвищенню запліднювальної здатності тварин в середньому на 14,4-15,8 %.

**Бібліографічний список**

1. Свободные радикалы в живых системах // Итоги науки и техники. Сер.биофизика. Т. 29. – М. : Наука, 1991. – 120 с.
2. Биохимические показатели кислородной интоксикации / А. И. Лукш, В. В. Внуков, В. Н. Прокофьев и др. // Физиол. журн. – 1991. – Т. 37, № 4. – С. 108-115.



3. Изучение активности ферментов антиоксидантной защиты и уровня ПОЛ у интактных и обработанных мутагенных мышей // Т. Г. Сазонова, Н. В. Гусева, Т. А. Лисицына, Ю. В. Архипенко // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1997. – Т. 123, № 4. – С. 381-384.

4. Подуфалий В. В. Процессы перекисного окисления липидов в активно-подвижной фракции спермиев человека, выделенной до и после криоконсервирования / В. В. Подуфалий, И. В. Черкашина, И. Н. Кучков. – Х., Проблемы криобиологии. – ПКіК.: 2008, т. 18, № 4. – С. 520-523.

5. Шаран М. М., Яремчук І. М. Біологічні показники деконсервованої сперми бугаїв при інкубації з окремими біологічно активними речовинами / М. М. Шаран., І. М. Яремчук // НТБ інст-біол.твар. – 2008. –Т.9, №3. – С.113-120.

6. Романько М. Є., Стегній Б. Т., Соклакова О. В., Ушкалов В. О. Вплив низьких температур за умов криоконсервації на стан процесів пероксидації у зразках розрідженої сперми бугаїв-плідників / М. Є. Романько, Б. Т. Стегній, О. В. Соклакова, В. О. Ушкалов. – Л., НТЖ інст-біол.твар.: 2004, т. 6, №1-2. – С.378-384.

7. Кава С. Й. Ліпопротеїни сперми бугая за додавання антиоксидантів у розріджувач / С. Й. Кава, І. М. Яремчук, Д. Д. Остапів. – Л., НТЖ інст-біол.твар.: 2010., т. 12, № 1. – С. 76-81.

8. Харьковская технология асептического взятия и криоконсервации спермы быков производителей: Методические рекомендации (под ред. проф. Ф.И. Осташко). – Х., 1990. – 47 с.

9. Плохинский Н. А. Руководство по биометрии для зоотехников / Н.А. Плохинский. – М.: Колос, 1969. – 256 с.

### *ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЭМОКСИПИНА В ЗАЩИТНЫХ СРЕДАХ ДЛЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ СПЕРМЫ БЫКОВ*

*Савельева М.С., Сушко А.Б., ИЖ НААН*

*Щербак Е.В., Харьковская государственная зооветеринарная академия*

*Изучено влияние препарата антиоксидантного действия Эмоксипин на уровень накопления продуктов перекисного окисления липидов в разбавленной сперме быков при её криоконсервировании. Показан позитивный эффект от применения Эмоксипина, что выражается в повышении выживаемости спермы после замораживания-оттаивания. Так же установлено повышение оплодотворяющей способности на 14,4-15,8 %.*

*Ключевые слова: сперма, перекисное окисление липидов, антиоксидантный препарат, подвижность, выживаемость.*

### *EFFICACY OF EMOXIPINE ADDITION TO BULL SPERM CRYOPRESERVATION MEDIA*

*Savelieva M., Sushko O., Institute of Animal Science, NAAS*

*Shcherbak O.V., Kharkov State Zooveterinary Academy*

*The effect of an antioxidant drug emoxipine on accumulation of lipid peroxidation products in the diluted bull sperm during cryopreservation was studied. It was demonstrated that emoxipine had a positive effect resulting in increased sperm survival after freezing-thawing cycle. Additionally, an increase in the fertilizing capacity of sperm by 14,4-15,8 % was observed.*

*Key words: sperm, lipid peroxidation, antioxidant drug, motility, survivability.*