

АКТИВНІСТЬ ЕНЗИМІВ МАЛАТ-АСПАРТАТНОГО ШУНТА РЕПРОДУКТИВНИХ ОРГАНІВ І ЕПІДІМАЛЬНИХ СПЕРМІЇВ БУГАЇВ ТА КНУРІВ

Н. В. Кузьміна¹, канд. біол. наук,
Д. Д. Остапів¹, д-р с.-г. наук,
О. І. Чайковська², канд. біол. наук,
Р. Д. Остапів², канд. біол. наук,
О. П. Панич², канд. вет. наук

¹Інститут біології тварин НААН
вул. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна
oddost@ukr.net

²Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна
alexandra.dndki@gmail.com

Вивчали активність ензимів малат-аспартатного шунта в репродуктивних органах і епідімальних сперміях бугаїв і кнурів.

Дослідження проведені на бугаях української чорно-рябої молочної породи (n = 5; віком 14 – 16 місяців) і кнурів породи велика біла (n = 3; віком 10 – 12 місяців). Після забою тварин відбирали сім'яники і придатки сім'яників, з яких вимивали спермії 0,9 % розчином натрію хлориду. Тканини сім'яника і придатка гомогенізували та центрифугували. У супернатанті і епідімальних сперміях визначали активність аспаратамінотрансферази (АСТ), малатдегідрогенази (МДГ) і концентрацію протеїну.

Встановлена видова і тканинна специфічність активності АСТ і МДГ. Зокрема, у бугаїв активність АСТ в тканинах сім'яника, голівки і тіла придатка сім'яника бугаїв майже однакова (116,5 – 118,3 нмоль/хв×мг протеїну) і на 18,5 – 19,7 % (p < 0,05) вища в хвості придатка. При цьому, активність МДГ в репродуктивних органах проявляє хвилеподібні зміни: у тканині сім'яника висока (1,96±0,15 нмоль/хв×мг протеїну), а у придатку сім'яника: в голівці знижується (у 3,5 рази; p < 0,001), у тілі збільшується (p < 0,05) і знову знижується в хвості. У сперміях бугаїв активність АСТ з голівки придатка – 69,3±8,06 нмоль/хв×мг протеїну, з тіла – зростає (p < 0,05) і знову (p < 0,001) знижується з хвоста придатка. Активність МДГ у сперміях з голівки придатка сім'яника – 0,50±0,04 нмоль/хв×мг протеїну, нижче на 38,0 % (p < 0,05) з тіла і на 50,0 % (p < 0,001) вище з хвоста.

У кнурів активність АСТ в тканині сім'яника – 20,3±5,22 нмоль/хв×мг протеїну і вища в придатку: на 45,6 % – в голівці, на 59,0 % – в тілі і на 64,0 % – у хвості. Аналогічно, активність МДГ в тканині сім'яника – 0,22±0,02 нмоль/хв×мг протеїну, збільшується на 40,6% в голівці і залишається на тому ж рівні в тілі придатка, а у тканині хвоста вище в 2,5 – 2,7 рази (p < 0,001). У статевих клітин кнурів активність АСТ і МДГ з тіла придатка, відповідно, 102,3 ± 6,1 і 13,20±0,15 нмоль /хв×мг протеїну, нижче в два рази (p < 0,001) і на 10,7 % з голівки та більше, ніж в чотири рази (p < 0,001) і на 61,2 % (p < 0,001) – з хвоста придатка.

Ключові слова: МАЛАТДЕГІДРОГЕНАЗА, АСПАРТАТАМІНОТРАНСФЕРАЗА, МАЛАТ-АСПАРТАТНИЙ ШУНТ, РЕПРОДУКТИВНІ ОРГАНИ, САМЦІ.

ACTIVITY OF MALATE-ASPARTATE SHUTTLE ENZYMES OF BULLS AND BOARS REPRODUCTIVE ORGANS AND EPIDIDIMAL SPERMATOZOA

N. V. Kuzmina¹, D. D. Ostapiv¹, O. I. Chajkovska², R. D. Ostapiv², O. P. Panych²

¹Institute of Animal Biology of NAAS
Stus street, 38, Lviv, 79043, Ukraine
oddost@ukr.net

²State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives
Donetska street, 11, Lviv, 79019, Ukraine
alexandra.dndki@gmail.com

The activity of malate-aspartate shuttle enzymes in the reproductive organs and epididimal sperm of bulls and boars was studied.

The research was conducted on bulls of the Ukrainian black-spotted dairy breed (n = 5; aged 14 - 16 months) and boars of the Great White breed (n = 3; aged 10 - 12 months). After slaughter, the testes and testicular appendages were removed and the spermatozoa were washed with 0.9% sodium chloride solution. Testicular and epididimal tissues were homogenized and centrifuged. Aspartate aminotransferase (AST), malate dehydrogenase (MDG) and protein concentration were determined in the supernatant and epididimal sperm.

The specie and tissue specificity of aspartate aminotransferase and malate dehydrogenase activity have been established. In particular, in bulls, the activity of AST in the tissues of the testis, head and body of the epididymis of bulls is almost the same (116.5 - 118.3 nmol/min×mg of protein) and on 18.5 - 19.7% (p<0,05) higher in the tail of the appendix. In this case, MDG activity in the reproductive organs shows wavy changes: in the testicular tissue is high (1.96 ± 0.15 nmol / min × mg of protein), and in the epididymis: in the head is reduced (3.5 times ; p <0,001), increased in the body (p <0,05) and decreased again in the tail. In the sperm of bulls, the activity of AST from the head of the appendix - 69.3 ± 8.06 nmol / min × mg of protein, from the body - increased (p <0.05) and again (p <0.001) decreased from the tail of the appendix. MDG activity in sperm from the head of the epididymis was 0.50 ± 0.04 nmol/min×mg of protein, lower by 38.0% (p <0.05) from the body and 50.0% (p <0.001) higher in the tail.

In boars, the activity of AST in testicular tissue - 20.3 ± 5.22 nmol / min × mg of protein and higher in the appendix: 45.6% - in the head, 59.0% - in the body and 64.0 % - in the tail. Similarly, the activity of MDG in testicular tissue was 0.22 ± 0.02 nmol / min × mg of protein, increases by 40.6% in the head and remained at the same level in the body of the appendix, and in the tail tissue above 2, 5 - 2.7 times (p <0.001). In bovine germ cells, the activity of AST and MDG from the body of the appendix was, respectively, 102.3 ± 6.1 and 13.20 ± 0.15 nmol / min × mg of protein, lowered twice (p <0,001) and 10.7 % in the head and more than four times (p <0,001) and 61,2% (p <0,001) in the tail of the appendix.

Keywords: MALATDEHYDROGENASE, ASPARTATAMINOTRANSFERASE, MALATE-ASPARTATE SHUTTLE, REPRODUCTIVE ORGANS, MALES.

Фізіологічні характеристики еякулятів самців визначаються біохімічними процесами, які протікають в сім'янику, його придатку і статевих клітинах, зокрема, енергогенеруючими процесами, пов'язаними з функціонуванням малат-аспартатного шунта (Cordoba et al. (2007)). Цим човниковим механізмом, утвореним цитозольними і мітохондріальними ізозимами малатдегідрогенази (МДГ) і аспартатамінотрансферази (АСТ), регулюється співвідношення між НАД⁺ / НАДН в цитоплазмі і мітохондріях, а також транспорт субстратів в цикл трикарбонових кислот (ЦТК) (Rhee et al. 2005).

Однак механізми енергетичного забезпечення спермій в окремих анатомічних ділянках репродуктивних органів і їх видова специфічність залишаються не з'ясованими. У зв'язку з цим, вивчено активність ензимів малат-аспартатного шунта в репродуктивних органах і сперміях бугаїв і кнурів.

Матеріали і методи. Дослідження проведені на бугаях української чорно-рябої молочної породи (n = 5; віком 14 - 16 місяців) і кнурах породи велика біла (n = 3; віком 10 - 12 місяців). Після забою тварин відбирали сім'яники і придатки сім'яників, з яких вимивали спермії 0,9 % розчином натрію хлориду. Тканини сім'яника і придатка гомогенізували і центрифугували. У супернатанті і епідідимальних сперміях визначали активність АСТ (Reitmann & Frankel, 1957), МДГ (Kochetov, 1980) і концентрацію протеїну (Lowry et al., 1951). Статистичний аналіз отриманих результатів проведено за М. О. Плохінським (Plokhinskiy, 1970).

Результати й обговорення. Встановлено, що активність АСТ в тканинах сім'яника, голівки і тіла придатка сім'яника бугаїв майже однакова (116,5 - 118,3 нмоль/хв×мг протеїну) і на 18,5 - 19,7 % (p < 0,05) вище в хвості придатка (табл.).

Таблиця

Активність ензимів малат-аспартатного шунта в репродуктивних органах і сперміях, М±m

Досліджений матеріал	АСТ, нмоль/хв×мг протеїну		МДГ, нмоль/хв×мг протеїну		
	бугаї	кнурі	бугаї	кнурі	
Тканини сім'яника	117,0±6,42	20,3±5,22	1,96±0,15	0,22±0,02	
Тканини придатка	голівка	116,5±7,52	0,56±0,10***	0,37±0,05*	
	тіло	118,3±6,69	49,5±3,31***	1,25±0,26	
	хвіст	145,0±4,59*	56,3±4,11***	0,92±0,06	0,92±0,05***
Спермії епідідімісу	голівки	69,3±8,06	49,2±6,60	0,50±0,04***	11,80±0,12
	тіла	69,3±8,06	49,2±6,60	0,50±0,04***	11,80±0,12
	хвоста	90,1±2,14	102,3±6,1###	0,31±0,05	13,20±0,15###
		59,9±5,88***	22,4±3,7#	0,62±0,02	4,59±0,72###

Примітка: різниця статистично вірогідна порівняно до тканини сім'яника * - p < 0,05; *** - p < 0,001; # - до спермій голівки придатка # - p < 0,05; ## - p < 0,01; ### - p < 0,001

У сперміях голівки придатка активність ензиму, в порівнянні з тканинами, нижче (69,3±8,06 нмоль/хв×мг протеїну), в отриманих з тіла – зростає на 23,1 % (p < 0,05) і знову на 33,6 % (p < 0,001) знижується в статевих клітинах з хвоста. Активність МДГ висока (1,96±0,15 нмоль/хв×мг протеїну) в тканині сім'яника і знижується в 3,5 рази (p < 0,001) – в тканині голівки придатка. У тілі придатка активність ензиму збільшується на 65,2 % (p < 0,05), у порівнянні з голівкою, і на 26,4 % знижується в хвості. У сперміях отриманих з голівки придатка сім'яника 0,50±0,04 нмоль/хв×мг протеїну МДГ, нижче на 38,0 % (p < 0,05) в статевих клітинах тіла і на 50,0 % (p < 0,001) вище з хвоста.

У кнурів в тканині сім'яника 20,3±5,22 нмоль/хв×мг протеїну АСТ, активність якої зростає в придатку: на 45,6 % – в голівці, на 59,0 % – в тілі і на 64,0 % – в хвості. У статевих клітин з тіла 102,3±6,1 нмоль/хв×мг протеїну АСТ, нижче в два рази (p < 0,001) з голівки і більше, ніж в чотири рази (p < 0,001) – з хвоста придатка.

Активність МДГ в тканині сім'яника – 0,22±0,02 нмоль/хв×мг протеїну, збільшується на 40,6 % в голівці і залишається на одному рівні в тілі придатка. У тканині хвоста придатка активність МДГ зростає до 0,92±0,05 нмоль/хв×мг протеїну, що вище в 2,5 – 2,7 рази (p < 0,001) в порівнянні, відповідно, з голівкою і тілом. У сперміях з тіла придатка 13,20±0,15 нмоль/хв×мг протеїну МДГ, на 10,7 % нижче з голівки і ще на 61,2 % (p < 0,001) менше з хвоста.

ВИСНОВКИ

1. Встановлені видові і тканинні відмінності активності ензимів зумовлені інтенсивністю окисних процесів в репродуктивних органах самців і фізіологічними потребами статевих клітин за дозрівання в придатку сім'яника та існування в еякуляті.

2. У сім'янику більш висока активність АСТ, порівняно до МДГ, свідчить про інтенсивне використання аспартату в процесах анаболізму і катаболізму тканини.

3. Підвищення активності АСТ за зміни ділянок тканини придатка: голівка → тіло → хвіст у бугаїв і кнурів, а також найвища активність МДГ, відповідно, в тілі і хвості епідімісу, свідчать про формування фізіологічних характеристик сперміїв ще до еякуляції і визначальним в цьому процесі є забезпечення енергетичними і синтетичними субстратами дозріваючих статевих клітин.

Перспективи досліджень. Вивчити вміст ізозимів ензимів малат-аспартатного шунта у репродуктивних органах і сперміях бугаїв та кнурів.

References

Cordoba, M., Pintos, L.N., Beconi, M.T. (2007). Heparin and quercetin generate differential metabolic pathways that in vivo aminotransferases and LDH-X dehydrogenase in cryopreserved bovine spermatozoa. *Theriogenology*. 67: 3. 648–654.

Kochetov, H.A. (1980). *Prakticheskoe rukovodstvo po enzimologii*. Moskva. Vysshaya shkola. 380. [in Ukrainian].

Lowry, O.H., Rosebrough, N. J., Fair, A. L., Randall, R. J. (1951). Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193. 1. 264–275.

Plokhinskiy, N.A. (1970). *Biometriya*. Moskva. MGU. 53-60. [in Russian].

Reitmann, S. & Frankel, S.A. (1957). Colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic puruvic transaminases. *Amer. J. Clin. Path.* 28: 1. 56–63.

Rhee, S.G., Chae, H.Z, Kim, K. (2005). Peroxiredoxins: a historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling. *Free Radic Biol Med.* 38. 1543–1552.