
Научная статья

УДК 636.1.084.453.52:612.1

EDN DQLQUR

**Взаимосвязь между активностью глутатионпероксидазы
в спермоплазме и прогрессивной подвижностью
сперматозоидов у жеребцов**

Алина Игоревна Романова¹, председатель совета молодых ученых и специалистов, младший научный сотрудник, аспирант

Научный руководитель – Михаил Михайлович Атрощенко², кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией криобиологии

^{1,2}Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства

¹alinasiniakina@rambler.ru

Аннотация. Проведены исследования по изучению активности глутатионпероксидазы в спермоплазме у жеребцов с высокой и низкой прогрессивной подвижностью сперматозоидов. Установили, что у жеребцов 2-ой группы (с высокой прогрессивной подвижностью сперматозоидов) активность глутатионпероксидазы в спермоплазме была выше и достоверно отличалась от жеребцов 1-ой группы (с низкой прогрессивной подвижностью сперматозоидов) ($p < 0,05$)

Ключевые слова: жеребцы, сперма, спермоплазма, антиоксиданты, глутатионпероксидаза

Благодарности: Исследования проводились при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 20-16-00101-П).

Для цитирования: Романова А. И. Взаимосвязь между активностью глутатионпероксидазы в спермоплазме и прогрессивной подвижностью сперматозоидов у жеребцов // Приоритетные вызовы для молодых ученых агропромышленного комплекса : материалы XX междунар. молодёж. форума, (Благовещенск, 17–20 июня 2024 г.). Благовещенск : Дальневосточный ГАУ, 2024. С. 61–67.

Original article

**The relationship between superoxide dismutase activity in spermoplasm
and progressive sperm motility in stallions**

Alina I. Romanova¹, chairman of the council of young scientists and specialists, junior researcher and graduate student

Scientific supervisor – Mikhail M. Atroshchenko², candidate of biological sciences, leading researcher, head of the laboratory of cryobiology

^{1,2}All-Russian Scientific Research Institute of Horse Breeding

¹alinasiniakina@rambler.ru

Abstract. Studies have been conducted to study the activity of glutathione peroxidase in the spermoplasm of stallions with high and low progressive motility of spermatozoa. It was found that in stallions of the 2nd group (with high progressive sperm motility), the activity of glutathione peroxidase in the spermoplasm was higher and significantly differed from stallions of the 1st group (with low progressive sperm motility) ($p < 0.05$)

Keywords: stallions, sperm, seminal plasma, antioxidants, glutathione peroxidase

For Citation: Romanova A. I. Vzaimosvyaz' mezhdu aktivnost'yu glutationperoksidazy v spermoplazme i progressivnoy podvizhnost'yu spermatozoidov u zherebtsov [The relationship between superoxide dismutase activity in spermoplasm and progressive sperm motility in stallions]. *Prioritetnye vyzovy dlya molodykh uchenykh agropromyshlennogo kompleksa : materialy XX mezhdunar. molodezh. foruma*, (Blagoveshchensk, 17–20 iyunya 2024 g.). Blagoveshchensk, Dal'nevostochnyj gosudarstvennyj agrarnyj universitet, 2024. pp. 61–67. (in Russ.).

В современном отечественном коневодстве большое значение уделяется устойчивости половых клеток к криоконсервации, так как искусственное осеменение обеспечивает высокие результаты только тогда, когда в работе используют здоровых жеребцов-производителей с высоким качеством и криоустойчивостью спермы [1]. Одним из факторов, влияющих на качество и криоустойчивость спермы, является антиоксидантный статус. Общий антиоксидантный статус (TAS) – это показатель, который отражает уровень антиоксидантной активности в организме, его исследование определяет возможность ферментов, белков и витаминов подавлять негативное действие свободных радикалов на клеточном уровне [2].

Известно, что действие на организм неблагоприятных факторов химической и физической природы избыточно усиливает процессы свободнорадикального окисления (СРО) [3]. Антиоксидантная система организма регулирует уровень СРО и защищает клетки и ткани от накопления

токсичных продуктов окисления и включает в себя: ферменты, неферментные белки и низкомолекулярные соединения [4, 5]. Активные формы кислорода (АФК) уравниваются антиоксидантной системой защиты, которая не допускает возникновения окислительного стресса (ОС) [6]. Антиоксиданты нейтрализуют цепную реакцию, ведущую к образованию ОС, тем самым защищая организм от негативного воздействия токсических соединений [6, 7].

Необходимо отметить, что при криоконсервации спермы жеребцов значительно возрастают показатели ОС и повреждения плазматических мембран сперматозоидов, которые в дальнейшем активируют несколько путей разрушения клеток, что в конечном итоге приводит к фрагментации их ДНК [8]. В исследовании Nguyen, D.N. и др. (2023), предполагается, что качество сперматозоидов будет зависеть от наличия антиоксидантов в семенной плазме [9].

Исходя из вышесказанного, целью нашего исследования стало изучение активности глутатионпероксидазы (ГТП, антиоксидантного фермента) в спермоплазме у жеребцов с высокой и низкой прогрессивной подвижностью сперматозоидов.

Материалы и методы исследования. Исследования проводили в 2021 году на базе АО «Терский племенной конный завод № 169» (Ставропольский край) на 14 жеребцах арабской чистокровной породы в возрасте от 4 до 18 лет. Сперму, предназначенную для исследований, получали в период случного сезона (март–апрель) согласно «Рекомендации по взятию, разбавлению и замораживанию спермы жеребцов» (2006). После получения спермы в каждом эякуляте определяли объем и концентрацию сперматозоидов (фотометр SDM1 Minitube GmbH, Tiefenbach, Германия). Далее эякулят делили на две части, одну часть разбавляли лактозо-хелато-цитратно-желточной средой (ЛХЦЖ), в соотношении 1:3. С использованием системы Argus CASA (ООО "АргусСофт", Россия) и микроскопа Motic BA 410 (Motic, Гонконг) проводили оценку прогрессивной подвижности (ПП) сперматозоидов в камере Маклера

(Sefi-Medical Instruments Ltd., Израиль) при 37 °С. Для оценки выживаемости сперматозоидов (в часах) определяли их прогрессивную подвижность с интервалом 24 часа вплоть до снижения ПП до 5 %.

Другую часть эякулята сразу после получения центрифугировали при 3000 об/мин в течение 20 мин. После микроскопии супернатанта аликвоты семенной плазмы, свободные от сперматозоидов, замораживали в пробирках типа Эппендорф (2,0 мл) и хранили при температуре -18 °С до проведения исследований. Исследование активности глутатионпероксидазы в спермоплазме проводили на полуавтоматическом планшетном фотометре Stat Fax 4200 (Awareness Technology, США) с использованием набора для определения глутатионпероксидазы (GSHPx) методом ИФА (BLUE GENE, КНР).

Все лабораторные исследования проводили в лаборатории криобиологии «ВНИИ коневодства» (Рязанская область).

Статистическую обработку проводили с использованием программы Statistica 13.3 (StatSoft, Россия) и «Microsoft Office Exsel 2016». Достоверность различий оценивали при помощи критерия Манна-Уитни. Отличия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты исследований. Семенная плазма обеспечивает для спермы оптимальную среду и является важнейшим источником антиоксидантов, защищая сперматозоиды от окислительного стресса. Глутатионпероксидаза катализирует перекись водорода и органические гидропероксиды липидов с использованием глутатиона [10].

Для изучения взаимосвязи между активностью ГТП в спермоплазме и качеством спермы жеребцов, всех исследуемых животных разделили на две группы в зависимости от показателя прогрессивной подвижности сперматозоидов в нативной сперме (ГОСТ-23681-79). В первую группу включили 6 жеребцов с ПП сперматозоидов в нативной сперме ниже 50 %. Во вторую группу включили 8 жеребцов с ПП сперматозоидов в нативной сперме

50 % и выше (табл.). По результатам исследования установили, что у жеребцов 2-ой группы (с высокой ПП сперматозоидов) активность ГТП в спермоплазме была выше, чем у жеребцов 1-ой группы ($p < 0,05$).

Таблица Показатели спермы и активности ГТП в спермоплазме у жеребцов с высокой и низкой ПП сперматозоидов в нативной сперме, $M \pm m$, (n=14).

Показатель	Прогрессивная подвижность сперматозоидов в нативной сперме, %	
	ниже 50	выше 50
Объем эякулята, мл	27,0 \pm 6,1	42,9 \pm 5,2
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	237,9 \pm 35,7	223,2 \pm 19,5
Выживаемость сперматозоидов при температуре 2–4 °С	222,7 \pm 23,2	229,1 \pm 30,8
Активность глутатионпероксидазы в спермоплазме, нг/мл	0,8 \pm 0,1	1,4 \pm 0,1*

Примечание: * отмечены значения $p < 0,05$

Заключение. Установили, что у жеребцов 2-ой группы (с высокой прогрессивной подвижностью сперматозоидов) активность глутатионпероксидазы в спермоплазме была выше и достоверно отличалась от жеребцов 1-ой группы (с низкой прогрессивной подвижностью сперматозоидов) ($p < 0,05$).

Предполагаем, что активность глутатионпероксидазы в спермоплазме можно использовать в качестве биохимического маркера при отборе жеребцов с лучшими показателями качества спермы.

Список источников

1. Atroshchenko M. M., Arkhangelskaya E., Isaev D. A., Stavitsky S. B., Zaitsev A. M., Kalaschnikov V. V. [et al.] Reproductive characteristics of thawed stallion sperm // Animals. 2019. Vol. 9. No. 12. P. 1099. <https://doi.org/10.3390/ani9121099>
2. Карбышев М. С., Абдуллаев Ш. П. Биохимия оксидативного стресса. Москва : Изд-во ХХ, 2017. 53 с.
3. Плосконос М. В. Биохимические изменения в мембране сперматозоидов фертильных мужчин под воздействием индуктора

оксидативного стресса и коррекция этих изменений // Проблемы репродукции. 2015. № 5. С. 102–108.

4. Чанчаева Е. А., Айзман Р. И., Герасев А. Д. Современное представление об антиоксидантной системе организма человека // Экология человека. 2013. № 7. С. 50–58. <https://doi.org/10.17816/humeco17333>

5. Янковский О. Ю., Кузнецов С. И. Антиоксидантный статус организма человека и его коррекции // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 3. Биология. 2005. № 4. С. 40–52. EDN [RTSYDD](#)

6. Никулин В. Н., Герасименко В. В., Коткова Т. В., Мустафин Р. З., Милованова Е. А., Шмаль М. Г. Влияние комплекса пробиотика на основе лактобактерий и селенита натрия на некоторые показатели антиоксидантной защиты макроорганизма // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2013. Т. 41. № 3. С. 254–257. EDN [QJCHEL](#)

7. Жамсаранова С. Д., Чукаев С. А., Дымшеева Л. Д., Лебедева С. Н. Влияние характера питания на антиоксидантный статус организма обучающейся молодежи // Science for Education Today. 2019. Т. 9. № 2. С. 226–248. <https://doi.org/10.15293/2658-6762.1901.14>

8. Pagl R. C., Aurich M., Kankofer M. Anti-oxidative status and semen quality during cooled storage in stallions // Journal of Veterinary Internal Medicine. 2006. Vol. 53. P. 486–489. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2006.00879.x>

9. Nguyen N. D., Le M. T., Tran N. Q. T., Nguyen Q. H. V., Cao T. N. Micronutrient supplements as antioxidants in improving sperm quality and reducing DNA fragmentation // Basic and Clinical Andrology. 2023. Vol. 33. No. 1. P. 23. <https://doi.org/10.1186/s12610-023-00197-9>

10. Papas M., Catalán J., Fernandez-Fuertes B., Arroyo L., Bassols A., Miró J. [et al.] Specific activity of superoxide dismutase in stallion seminal plasma is related to sperm cryotolerance // Antioxidants. 2019. Vol. 8. No. 11. P. 539. <https://doi.org/10.3390/antiox8110539>

References

1. Atroshchenko M. M., Arkhangelskaya E., Isaev D. A., Stavitsky S. B., Zaitsev A. M., Kalaschnikov V. V. [et al.] Reproductive characteristics of thawed stallion sperm. *Animals*. 2019;9:12:1099. <https://doi.org/10.3390/ani9121099>

2. Karbyshev M. S., Abdullaev Sh. P. Biokhimiya oksidativnogo stressa [Biochemistry of oxidative stress]. Moscow, Izd-vo XX, 2017, 53 p.

3. Ploskonos M. V. Biokhimicheskie izmeneniya v membrane spermatozoidov fertil'nykh muzhchin pod vozdeystviem induktora oksidativnogo stressa i korrektsiya etikh izmeneniy [Biochemical changes in the membrane of spermatozoa of fertile men under the influence of an inducer of oxidative stress and correction of these changes]. *Problemy reproduksii*. 2015;5:102–108.

4. Chanchaeva E. A., Ayzman R. I., Gerashev A. D. Sovremennoe predstavlenie ob antioksidantnoy sisteme organizma cheloveka [Modern understanding of the

antioxidant system of the human body] *Ekologiya cheloveka*. 2013;7:50–58. <https://doi.org/10.17816/humeco17333>

5. Yankovskiy O. Yu., Kuznetsov S. I. Antioksidantnyy status organizma cheloveka i ego korrektsii [The antioxidant status of the human body and its correction]. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Seriya 3. Biologiya*. 2005;4:40–52. EDN [RTSYDD](#)

6. Nikulin V. N., Gerasimenko V. V., Kotkova T. V., Mustafin R. Z., Milovanova E. A., Shmal' M. G. Vliyanie kompleksa probiotika na osnove laktobakteriy i selenita natriya na nekotorye pokazateli antioksidantnoy zashchity makroorganizma [The effect of a probiotic complex based on lactobacilli and sodium selenite on some indicators of antioxidant protection of the microorganism]. *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2013;41:3:254–257. EDN [QJCHEL](#)

7. Zhamsaranova S. D., Chukaev S. A., Dymsheeva L. D., Lebedeva S. N. Vliyanie kharaktera pitaniya na antioksidantnyy status organizma obuchayushcheysya molodezhi [The influence of an analytical approach on the analytical management of learning youth]. *Science for Education Today*. 2019;9:2:226–248. <https://doi.org/10.15293/2658-6762.1901.14>

8. Pagl R. C., Aurich M., Kankofer M. Anti-oxidative status and semen quality during cooled storage in stallions. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2006;53:486–489. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2006.00879.x>

9. Nguyen N. D., Le M. T., Tran N. Q. T., Nguyen Q. H. V., Cao T. N. Micronutrient supplements as antioxidants in improving sperm quality and reducing DNA fragmentation. *Basic and Clinical Andrology*. 2023;33:1:23. <https://doi.org/10.1186/s12610-023-00197-9>

10. Papas M., Catalán J., Fernandez-Fuertes B., Arroyo L., Bassols A., Miró J. [et al.] Specific activity of superoxide dismutase in stallion seminal plasma is related to sperm cryotolerance. *Antioxidants*. 2019;8:11:539. <https://doi.org/10.3390/antiox8110539>

© Романова А. И., 2024

Статья поступила 02.05.2024; одобрена после рецензирования 12.08.2024; принята к публикации 27.09.2024.

The article was submitted 02.05.2024; approved after reviewing 12.08.2024; accepted for publication 27.09.2024.