

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН

КОБЕРСЬКА ВІКТОРІЯ АЛЬДМИЛІВНА

УДК 57.017.7:577.164.1:636.2:591.463.1

**БІОХІМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ L-КАРНІТИНУ
ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ЕНЕРГЕТИЧНОГО ТА ЛІПІДНОГО ОБМІНУ В
СПЕРМІ БУГАЇВ**

03.00.04 – біохімія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата сільськогосподарських наук

Львів – 2015

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Білоцерківському національному аграрному університеті Міністерства освіти і науки України.

Науковий керівник – доктор сільськогосподарських наук, професор
Цехмістренко Світлана Іванівна,
Білоцерківський національний аграрний університет
МОН України,
завідувач кафедри органічної та біологічної хімії

Офіційні опоненти: доктор сільськогосподарських наук, професор
Шаран Микола Михайлович,
Інститут біології тварин НААН,
завідувач лабораторії біотехнології відтворення;

доктор сільськогосподарських наук, професор
Данченко Олена Олександрівна,
Мелітопольський державний педагогічний університет
імені Богдана Хмельницького МОН України,
професор кафедри органічної та біологічної хімії

Захист відбудеться «3» листопада 2015 р. о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35.368.01 Інституту біології тварин НААН за адресою: 79034, м. Львів, вул. Стуса, 38.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту біології тварин НААН за адресою: 79034, м. Львів, вул. Стуса, 38.

Автореферат розісланий «1» жовтня 2015 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

О.І. Віщур

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Енергетичний обмін – основна ланка функціонування всіх живих організмів (Мельничук С. Д., 2005; Левченко В. І. зі співавт., 2002). Джерелом енергії є метаболіти вуглеводного, ліпідного та білкового походження. Шляхи їх перетворення енергетично нерівноцінні (Янович В. Г., 2000; Кононський О. І., 2006).

Збереженість статевих клітин під час розрідження, кріоконсервування, розмороження сперми та якість еякулятів залежать від інтенсивності окиснювально-відновних процесів, активності ензимів, що метаболізують субстрати в ланцюзі дихання мітохондрій і антиоксидантному захисті, а також балансу між ними (Цебржинський О. І., 2008; Яблонський В. А., 2009; Цехмістренко С. І., 2012; Данченко О. О., 2012; Кузьміна Н. В., 2013).

Роль різноманітних метаболічних шляхів у забезпеченні енергетичних потреб сперміїв давно й активно вивчається, проте дотепер немає абсолютної єдності щодо цього питання. Важливість визначення біохімічних параметрів сперми та сперміїв для оцінки їх функціональних властивостей очевидна, що відзначено в низці праць (Miki K., 2004; Остапів Д. Д., 2008; Vlizlo V. et al., 2010; Мельник В. О., 2013). Однією з найактуальніших проблем є дослідження інтенсивності окиснювальних процесів енергетичного метаболізму та вільнорадикального пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у спермі, які характеризують якість еякулятів і запліднювальну здатність сперміїв. Із огляду на це, щораз більше науковців приділяють увагу пошуку засобів, які б підвищували життєздатність сперміїв, а також коригували негативний вплив на них ендо- та екзогенних чинників як у процесі сперміогенезу, так і під час технологічної обробки сперми (Буркат В. П. зі співавт., 2004; Шостя А. М., 2009; Кава С. Й. зі співавт., 2010; Шаран М. М. зі співавт., 2011).

Оскільки інтенсивне використання високопродуктивних тварин вимагає значних енерговитрат організму, забезпечення яких залежить від швидкості ресинтезу аденозинтрифосфатної кислоти (АТФ) за рахунок окиснення енергетичних субстратів, цілком логічно використовувати енерготропні препарати, що являють собою різні ензимні компоненти дихального ланцюга, а також проміжні метаболіти циклу Кребса. Активним метаболітом широкого спектра дії є L-карнітин (β -гідрокси- γ -триметил-бутиробетаїн), вітаміноподібна речовина, джерело ацильних груп, які залежно від потреб клітин переносяться через мітохондріальну мембрану, регулюючи таким чином синтез АТФ, бере участь у процесах трансметилування, стимулює біосинтез білка (Jones L. L., 2010). Проте в організмі тварин за інтенсивного обміну речовин не може синтезуватись відповідна кількість L-карнітину, в результаті чого лімітується використання жирних кислот як джерела ресинтезу АТФ.

У літературі ще недостатньо висвітлені закономірності змін показників енергетичного та ліпідного обміну й антиоксидантної системи (АОС). Вивчення механізмів взаємовпливу енергетичних, пероксидних і електрон-транспортувальних процесів, а також їх корекція дасть змогу розкрити досі невідомі особливості метаболізму в спермі бугаїв за дії L-карнітину. Пізнання

механізмів регуляції окиснювально-відновних процесів у спермі може стати одним із ключових моментів у розробці нових методів підвищення якості спермопродукції. Тому проведення досліджень у такому аспекті є актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана на кафедрі органічної та біологічної хімії Білоцерківського національного аграрного університету за темою науково-дослідної роботи «Вплив продуктів пероксидного окиснення ліпідів і антиоксидантної системи на відтворювальну функцію тварин» (державний реєстраційний номер 0111U002912), в якій автор досліджувала особливості впливу L-карнітину на енергетичний і ліпідний обмін у спермі бугаїв.

Мета і завдання дослідження. Мета дисертаційної роботи полягала у з'ясуванні стану енергетичного, ліпідного обміну та активності системи антиоксидантного захисту в спермі бугаїв за дії L-карнітину, а також розробці способів корекції метаболізму статевих клітин для поліпшення фізіологічних показників якості сперми.

Для досягнення мети в дисертаційній роботі визначено такі завдання:

- дослідити особливості ліпідного складу, вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів, активність ензимів антиоксидантного захисту в спермі та крові бугаїв;
- з'ясувати інтенсивність споживання кисню та активність ключових ензимів дихального ланцюга в еякулятах бугаїв;
- вивчити вплив L-карнітину на ліпідний склад, вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів, активність ензимів антиоксидантного захисту та дихального ланцюга й інтенсивність споживання кисню в спермі бугаїв;
- дослідити вплив L-карнітину на концентрацію тестостерону в сироватці крові та гематологічні показники бугаїв;
- провести оцінювання впливу L-карнітину на фізіологічні показники сперми бугаїв;
- розробити способи нормалізації метаболізму сперміїв для поліпшення фізіологічних показників якості сперми;
- проаналізувати економічну ефективність використання L-карнітину на якість сперми бугаїв.

Об'єкт дослідження – стан енергетичного та ліпідного обміну в спермі бугаїв за дії L-карнітину.

Предмет дослідження – ліпідний склад, вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів, активність ензимів системи антиоксидантного захисту, вміст гормонів у крові та спермі, гематологічні показники, дихальна активність сперми бугаїв.

Методи дослідження – біохімічні, фізіологічні, цитоморфологічні та статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше з'ясовано вплив L-карнітину на ліпідний склад, активність антиоксидантних ензимів, вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та фізіологічні показники сперми бугаїв. Вивчено вплив L-карнітину на еритропоез, білковий та енергетичний обмін та синтез тестостерону в бугаїв. З'ясовано, що L-карнітин як у вигляді

добавки до раціону, так і в складі розріджувача сперми нормалізує енергетичний обмін, підвищує активність ензимів антиоксидантного захисту, зменшує вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та покращує якість сперми.

Визначена залежність між показниками ліпідного та енергетичного обміну, функціонуванням системи антиоксидантного захисту й показниками якості сперми.

Наукова новизна одержаних результатів підтверджена деклараційними патентами України на корисну модель «Спосіб підвищення виживання сперміїв» та «Спосіб покращення якості спермопродукції бугаїв».

Практичне значення одержаних результатів. Проведені дослідження обґрунтували й забезпечили можливість ефективного використання L-карнітину для поліпшення якісних характеристик сперми бугаїв.

З'ясовано, що L-карнітин впливає на інтенсивність процесів енергетичного обміну, виявляє дезінтоксикаційну та антиоксидантну дію, внаслідок чого його можна рекомендувати для використання в практичному тваринництві.

Результати досліджень, викладені в дисертаційній роботі, увійшли до „Рекомендацій щодо застосування вітаміноподібного препарату для підвищення показників якості сперми бугаїв-плідників”, які можуть бути застосовані в науково-дослідних роботах та в практиці промислового скотарства. Матеріали наукової роботи використовуються в науковому та навчальному процесі кафедр Національного університету біоресурсів і природокористування України, Таврійського державного агротехнологічного університету, Вінницького національного аграрного університету.

Особистий внесок здобувача. Автор самостійно провела аналіз літературних даних за темою дисертаційної роботи, експериментальні дослідження, їх статистичну обробку, написала та оформила дисертаційну роботу. Планування експериментальних досліджень, інтерпретація результатів досліджень, формулювання висновків здійснені за участі наукового керівника.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень дисертаційної роботи доповідались: на XI Українському біохімічному конгресі (Київ, 2014); міжнародних науково-практичних конференціях: „Сучасні проблеми підвищення якості, безпеки виробництва та переробки продукції тваринництва” (Вінниця, 2013, 2014), «Аграрная наука – сельскому хозяйству» (Барнаул, 2014), «Стратегічні напрями розвитку тваринництва в Україні у контексті національної продовольчої безпеки» (Біла Церква, 2014), «Проблеми ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва» (Київ, 2014); державній науково-практичній конференції «Сучасні технології виробництва та переробки продукції тваринництва» (Біла Церква, 2012); всеукраїнській науково-практичній конференції «Фізіолого-біохімічні і технологічні аспекти охорони навколишнього середовища» (Мелітополь, 2013).

Публікації. За результатами дисертаційного дослідження опубліковано 16 наукових праць, із них 6 – у фахових виданнях, які включено до міжнародних

наукометричних баз даних (1 – у науковому журналі, 5 – у збірниках наукових праць), 1 – у збірнику статей іншої держави, 6 тез доповідей у матеріалах конференцій, 1 науково-практичні рекомендації та 2 патенти на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається зі вступу, огляду наукової літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел літератури та 4 додатків. Робота викладена на 162 сторінках комп'ютерного тексту (основна частина 121 сторінка), ілюстрована 20 таблицями та 15 рисунками (18 сторінок). Список використаних джерел включає 280 найменувань, з яких 113 – латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал і методи досліджень. Дослідження з теми дисертаційної роботи проведені на кафедрі органічної та біологічної хімії Білоцерківського національного аграрного університету. Експериментальну частину роботи проведено на бугаях-плідниках голштинської породи, яких утримували в умовах ПрАТ «Українська генетична компанія». Параметри мікроклімату приміщення, де утримували тварин, були ідентичними для всіх груп і відповідали зоогігієнічним нормам. Для виконання поставлених завдань проведено два досліди.

У першому досліді вивчали вплив добавки «Карніпас» (виробництво Loman animal health, Німеччина), що містить у захищеній формі L-карнітин, на показники енергетичного та ліпідного обміну, систему антиоксидантного захисту в спермі й крові та фізіологічні показники еякулятів бугаїв. З цією метою за принципом аналогів сформовано три групи бугаїв по 4 тварини в кожній. Бугаї 1-ї групи слугували контролем, а бугаям 2-ї і 3-ї груп додавали до раціону добавку «Карніпас» – 20 і 40 г/гол. відповідно, яку згодовували щоденно протягом 75 днів дослідного періоду.

Матеріалом для лабораторних досліджень слугували сперма та кров. Сперму отримували на штучну вагіну згідно з режимом використання бугаїв на підприємстві – дуплетна садка двічі на тиждень. У свіжоотриманій спермі визначали об'єм еякуляту (мл), рухливість статевих клітин (бали), концентрацію за допомогою фотоелектроколориметра (10^9 /мл), а також виживання спермій за температури 2–4 °С до припинення прямолінійно-поступального руху.

Біохімічні дослідження сперми проводили в чотири етапи: до введення досліджуваної добавки, через 27 й 75 днів її введення та через 22 доби після завершення згодовування для виявлення пролонгованого ефекту. Для цього свіжоотриману сперму змішували з середовищем для розбавлення еякулятів Віоexcell (IMV, Франція) у співвідношенні 1:1.

Кров брали з яремної вени двічі за період досліді: до введення добавки та через 75 днів її згодовування. Взяття крові проводили зранку (через 4 год

після годівлі) у всіх бугаїв. Для стабілізації крові або одержання плазми в пробірки попередньо вносили гепарин.

У другому досліді вивчали вплив L-карнітину на окиснювально-відновні та процеси ПОЛ у еякулятах за його додавання до розріджувача сперми. Для цього десять зразків розбавленої 1:1 сперми ділили на частини – контрольну і три дослідні. Попередньо готували досліджувані розчини, додаючи до розріджувача сперми (Bioexcell) L-карнітин із розрахунку 10, 30 і 60 мг на 100 мл для розрідження сперми 2-, 3- і 4-ї частин відповідно. Розріджувач із L-карнітином додавали до попередньо розбавленого еякуляту у співвідношенні 3:1, а до контрольних зразків сперми додавали розріджувач.

У розбавленій спермі досліджували інтенсивність споживання кисню, вміст ТБК-активних продуктів, активність ензимів дихального ланцюга та антиоксидантного захисту, а також виживання спермій (за температури 2–4 °С).

З метою вивчення особливостей ліпідного обміну в спермі та сироватці крові визначали вміст загальних ліпідів екстрагуванням (Folch J., 1957) та співвідношення їх окремих класів та фракцій методом висхідної тонкошарової хроматографії (Влізло В. В. зі співавт., 2012). Інтенсивність процесів ПОЛ у спермі та крові вивчали за вмістом дієнових кон'югатів (ДК; Стальная И. Д., 1997), гідропероксидів ліпідів (ГПЛ; Романова Л. А., Стальная И. Д., 1977) і ТБК-активних продуктів (Влізло В. В. зі співавт., 2012). Функціонування антиоксидантної системи оцінювали за активністю супероксиддисмутази (СОД, KE 1.15.1.1; Чевари С. Н. с соавт., 1991), каталази (КАТ, KE 1.11.1.6; Королюк М. А. с соавт., 1991), глутатіонпероксидази (ГПО, KE 1.11.1.9; Моин В. М., 1986) на спектрофотометрі СФ-2000 (Росія).

Для дослідження інтенсивності енергетичного обміну в спермі визначали активність сукцинатдегідрогенази (СДГ, KE 1.3.99.1), цитохромоксидази (ЦХО, KE 1.9.3.1) та дихальну активність сперми (Влізло В. В. зі співавт., 2012).

У крові визначали гематологічні (кількість еритроцитів, лейкоцитів, концентрація і вміст гемоглобіну в одному еритроциті) та біохімічні показники (концентрація глюкози, загального білка, креатиніну, сечовини, вміст Кальцію, Фосфору) загальноприйнятими методиками (Влізло В. В. зі співавт., 2012). Концентрацію тестостерону в крові визначали методом імуноферментного аналізу з використанням набору реактивів «Testosterone ELISA» (Влізло В. В. зі співавт., 2012). Активність аспартатамінотрансферази (АСТ, KE 2.6.1.1) визначали за допомогою стандартного набору реактивів фірми Felisit (Дніпропетровськ).

Статистичну обробку експериментальних даних проводили з використанням t-критерію Стьюдента (Плохинский Н. А., 1970) та програми Microsoft Excel. Зміни показників вважали вірогідними, якщо $p < 0,05$. Визначали коефіцієнт кореляції між показниками.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Особливості ліпідного складу, вмісту продуктів ПОЛ, активності ензимів АОС у спермі та крові бугаїв за згодовування L-карнітину. Розлади відтворювальної здатності бугаїв значною мірою спричиняються неповноцінною та незбалансованою годівлею, тривалою адаптацією тварин до технологічних умов експлуатації. Ці причини супроводжуються змінами метаболізму, зокрема виникненням оксидативного стресу, який відіграє ключову роль у розвитку неплідності самців (Шостя А. М., 2014). Первинною відповіддю організму на дію стрес-фактора є модифікація фізико-хімічного стану клітинних мембран, до складу яких входять структурні ліпіди (Супрун І. О., 2012).

Результати досліджень показали, що за дії L-карнітину змінюється кількісний та якісний склад ліпідів сперми. За згодовування 20 і 40 г/гол. L-карнітину реєстрували збільшення у спермі бугаїв абсолютного вмісту фосфоліпідів через 75 діб – на 14,3 і 12,1 %, а через 22 доби після закінчення його введення – на 16,4 % ($p < 0,05$) і 17,8 % ($p < 0,05$) відповідно проти контрольних показників.

За дії згодовуваної добавки зазнає змін вміст вільного та естерифікованого холестеролу в спермі бугаїв, хоча вірогідністю ці результати не відзначаються. З'ясовано, що після 75-добового введення L-карнітину вміст холестеролу зменшується на 14,5 % у спермі бугаїв, що отримували 20 г/гол. досліджуваної добавки та на 14,7 % – у спермі бугаїв, що отримували 40 г/гол., а вміст естерів холестеролу набуває, навпаки, більших значень на 8 і 10 % відповідно порівняно з даними контролю. Подібна тенденція зберігалась до завершення дослідження. Вміст неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК) у 2-й і 3-й групах через 75 діб введення L-карнітину має вірогідно нижчі значення на 21,8 і 20,1 % проти показників у контрольній групі й на такому ж рівні утримується через 22 доби після закінчення згодовування добавки, що вказує на її пролонгований ефект. Суттєвої різниці в розподілі інших ліпідних фракцій залежно від згодовуваної добавки в спермі плідників не виявлено.

Досліджувані дози L-карнітину виявляють подібний ефект на ліпідний склад сперми та сироватки крові й спричиняють вірогідне збільшення частки фосфоліпідів на тлі зменшення вмісту холестеролу та неестерифікованих жирних кислот. Імовірно, зменшення вмісту НЕЖК може свідчити про інтенсивне використання їх як додаткового джерела енергії, що стимулюється L-карнітином, та витрату їх на біосинтез ендогенних фосфоліпідів. Оскільки головною мішенню в реакціях ПОЛ є ненасичені жирні кислоти мембранних фосфоліпідів, тому збільшення вмісту фосфоліпідів і зниження частки НЕЖК можна пов'язувати саме зі зменшенням вільнорадикального окиснення за дії L-карнітину.

Застосування L-карнітину спричинило зміни не тільки у співвідношенні між окремими класами загальних ліпідів у спермі та крові бугаїв, а й у фракційному складі фосфоліпідів. Констатовано вірогідне збільшення вмісту фракцій фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну та кардіоліпіну на тлі зменшення частки лізофосфатидилхоліну в спермі та крові бугаїв. Так, через 75 діб від початку введення досліджуваної добавки у спермі бугаїв 2-ї та 3-ї груп збільшився абсолютний вміст фосфатидилхоліну на 43,2 і 39,5 %, фосфатидилетаноламіну –

на 24 і 18,2 %, а також кардіоліпіну – на 19,3 і 17 % відповідно, у порівнянні з контрольною групою. Вірогідно вищими вказані фосфоліпідні фракції були й через 22 доби після завершення згодовування L-карнітину. У спермі тварин дослідних груп достовірно знизився відносний вміст кінцевого продукту ферментативного гідролізу фосфатидилхоліну – лізофосфатидилхоліну.

Вміст фосфатидилхоліну може зростати за рахунок активації біосинтезу холіну, в процесі якого карнітин виступає донором метильних груп (Копелевич В. М., 2005). Зменшення кількості лізофосфатидилхоліну при збільшенні вмісту найбільш ненасичених фосфоліпідів – фосфатидилхоліну та фосфатидилетаноламіну, які можуть легко окиснюватись активними формами Оксигену, свідчить про зниження в організмі вільнорадикальних процесів ПОЛ. Зменшення вмісту лізофосфатидилхоліну може бути також результатом зниження рівня активності фосфоліпази А, яка здійснює гідроліз фосфоліпідів з утворенням неестерифікованих жирних кислот (Копица Н. П., 2012).

Зміну кількісного вмісту окремих класів і фракцій ліпідів у спермі та крові дослідних тварин, очевидно, можна пояснити підвищенням активності карнітин-ацетилтрансферази та кращою доступністю жирних кислот для енергетичного обміну й синтезу різних класів фосфоліпідів, а також збільшенням мембранного потенціалу, що оптимізує структуру та покращує функції мембран (Климов А. Н., 1999; Маргітіч В. М., 2001; Хьшиктуев Б. С., 2010).

З метою оцінки інтенсивності процесів ПОЛ і стану АОС вивчено вплив різних доз L-карнітину на концентрацію гідропероксидів ліпідів, дієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів, а також активність ензимів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, каталази) у спермі та крові бугаїв. За згодовування L-карнітину інтенсивність вільнорадикальних процесів знижується, про що свідчить зменшення кількості первинних і вторинних продуктів ПОЛ у спермі бугаїв (рис. 1).

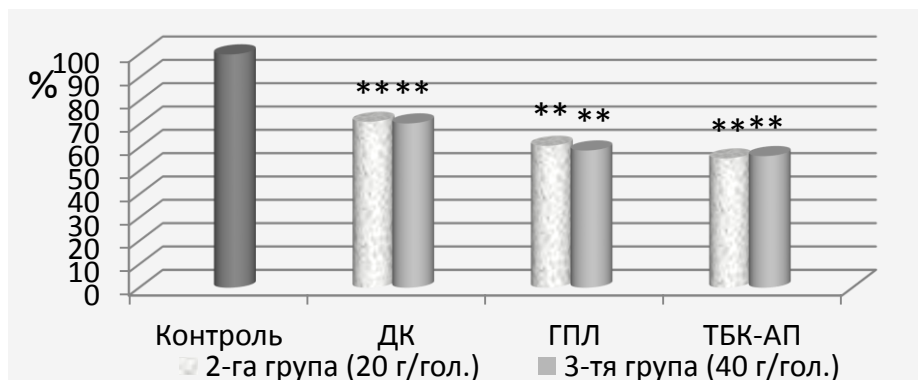


Рис. 1. Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у спермі бугаїв-плідників за 75-добового згодовування L-карнітину ($M \pm m$; $n = 4$).

Примітка. Тут і далі * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$, результати вірогідні порівняно зі значеннями показників у контрольній групі.

За згодовування бугаям 20 і 40 г/гол. L-карнітину протягом 75 діб вірогідно зменшувався у спермі вміст дієнових кон'югатів, гідропероксидів ліпідів і ТБК-активних продуктів, причому ефект дії не посилювався зі збільшенням дози досліджуваної речовини і був рівнозначним для обох груп. Зменшення вмісту продуктів пероксидації зафіксовано і в крові бугаїв дослідних груп, що свідчить про зниження генерації активних форм Оксигену та нормалізацію роботи ферментативної і неферментативної ланок у системі антиоксидантного захисту, що відбувається за участі L-карнітину (Лушак В. І. зі співавт., 2006).

Між ліпопероксидацією і функціонуванням антиоксидантної системи існує тісний динамічний зв'язок. Особлива роль у функціонуванні АОС належить ферментам-антиоксидантам, до яких належать супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза. Результатами встановлено, що згодовування L-карнітину змінює активність досліджуваних ензимів АОС у спермі та крові бугаїв. 75-добове застосування добавки забезпечує вірогідне зростання активності каталази в спермі тварин обох дослідних груп у 1,4 разу на тлі тенденції до зниження активності СОД при порівнянні з контрольною групою (табл. 1).

Таблиця 1

Активність ензимів антиоксидантного захисту в спермі бугаїв-плідників за дії L-карнітину ($M \pm m$; $n = 4$)

Група бугаїв	СОД, МО/мг білка	КАТ, мкМ/хв.× мг білка	ГПО, мкМ/хв.× мг білка
До введення			
1 – контрольна	5,57±0,46	0,20±0,01	0,27±0,02
2 – дослідна (20 г/гол.)	5,48±0,50	0,21±0,01	0,29±0,02
3 – дослідна (40 г/гол.)	5,54±0,37	0,19±0,01	0,25±0,02
Через 27 діб від початку введення			
1 – контрольна	6,07±0,19	0,22±0,02	0,30±0,02
2 – дослідна (20 г/гол.)	5,96±0,18	0,28±0,02	0,38±0,03
3 – дослідна (40 г/гол.)	5,87±0,22	0,34±0,01**	0,42±0,03*
Через 75 діб від початку введення			
1 – контрольна	6,06±0,11	0,20±0,02	0,30±0,01
2 – дослідна (20 г/гол.)	5,67±0,13	0,28±0,01*	0,36±0,01**
3 – дослідна (40 г/гол.)	5,74±0,18	0,28±0,01*	0,38±0,01**
Через 22 доби після закінчення введення			
1 – контрольна	7,94±0,15	0,25±0,02	0,27±0,01
2 – дослідна (20 г/гол.)	6,97±0,20**	0,34±0,01**	0,35±0,01**
3 – дослідна (40 г/гол.)	6,01±0,22***	0,38±0,02**	0,37±0,01***

За дії L-карнітину виявлено дозозалежне вірогідне підвищення активності ГПО у спермі, яке зберігалось і після закінчення застосування добавки. Так, активність досліджуваного ензиму підвищувалась у спермі тварин 2-ї групи через 27 і 75 діб згодовування L-карнітину на 26,7 і 20 %, а через 22 доби після закінчення його введення – на 29,6 %; у спермі бугаїв 3-ї групи – на 40, 27 і 37 % відповідно порівняно із контролем.

Активність ГПО в спермі перебуває в оберненій корелятивній залежності із вмістом гідропероксидів ліпідів ($r = -0,79$), дієнових кон'югатів ($r = -0,80$) та

кількістю ТБК-активних продуктів ($r = -0,82$) й у прямій – із каталазною активністю ($r = 0,83$) та вмістом фосфоліпідів ($r = 0,55$).

Результатами вивчення стану ліпідного обміну й активності АОС підтверджується гіпотеза про антиоксидантні властивості L-карнітину, про що свідчить вірогідне зменшення кількості продуктів ПОЛ, підвищення активності глутатіонпероксидази, каталази й зниження супероксиддисмутази в спермі та крові бугаїв. З'ясовано, що за дії L-карнітину зростає вміст структурних і знижується вміст резервних ліпідів у спермі та крові бугаїв.

Вплив L-карнітину на активність ензимів дихального ланцюга мітохондрій, інтенсивність споживання кисню, фізіологічні показники сперми та біохімічні показники крові бугаїв. Визначено, що на тлі згодовування досліджуваної добавки вірогідно підвищується в спермі бугаїв активність ензимів дихального ланцюга (табл. 2). Активність СДГ у спермі плідників за дії L-карнітину вірогідно підвищується після 75 діб його застосування в 1,68 разу (2-га група) та в 1,75 разу (3-тя група), утримуючи вищі значення і після завершення згодовування добавки. Активність ЦХО виявляє подібну динаміку, але виражену меншою мірою відносно контрольних значень. Високий показник корелятивної залежності між активністю СДГ та активністю ЦХО ($r = 0,87$) підтверджує позитивний зв'язок між ферментами дихального ланцюга сперміїв.

Таблиця 2

Активність ензимів енергетичного обміну в спермі бугаїв-плідників за дії L-карнітину, мкМ/хв×л ($M \pm m$; $n = 4$)

Показники	Група бугаїв		
	1 – контрольна	2 – дослідна (20 г/гол.)	3 – дослідна (40 г/гол.)
До введення			
СДГ	8,76±0,62	8,46±0,26	9,03±0,43
ЦХО	21,40±1,84	19,55±0,62	20,35±0,62
Через 27 діб від початку введення			
СДГ	8,35±0,33	10,69±0,32**	9,93±0,21**
ЦХО	21,30±0,71	21,70±0,46	21,20 ±0,63
Через 75 діб від початку введення			
СДГ	8,51±0,56	14,33±0,73***	14,90±0,57***
ЦХО	21,30±0,63	26,85±0,62***	27,45±0,57***
Через 22 доби після закінчення введення			
СДГ	8,22±0,48	12,70±0,71**	12,92±0,60***
ЦХО	20,20±0,87	24,57±0,68**	24,50±0,50**

Аналіз змін показників активності окиснювально-відновних процесів у еякулятах після 75-добового згодовування L-карнітину показав вищу інтенсивність споживання кисню у спермі 2-ї і 3-ї груп бугаїв, яка становить відповідно 23,6±1,02 та 24,1±1,16 нг-атом О/хв×10⁹ сперміїв, що на 35,6 % ($p < 0,01$) і 38,5 % ($p < 0,01$) більше від дихальної активності тварин контрольної групи (табл. 3). Споживання кисню мітохондріями за дії L-карнітину збільшується і становить 53,0 і 53,5 % загального його використання в 2-й і 3-й

групах. Зафіксовано незначне зниження азидрезистентного (немітохондріального) дихання у спермі плідників дослідних груп, причому більш виражене у бугаїв, які отримували добавку 40 г/гол. Виявлено, що споживання кисню спермою збільшується (в тому числі мітохондріальне та азидрезистентне) зі зростанням об'єму еякуляту та концентрації сперміїв.

Таблиця 3

Споживання кисню в еякулятах бугаїв за дії L-карнітину ($M \pm m$; $n = 4$)

Група бугаїв	Споживання кисню, нг-атом O/хв $\times 10^9$ сперміїв		
	у спермі	у тому числі:	
		мітохондріальне	азидрезистентне
До введення			
1 – контрольна	15,5 \pm 0,76	8,9 \pm 0,90	7,6 \pm 0,87
2 – дослідна (20 г/гол.)	14,3 \pm 0,81	6,8 \pm 0,48	7,7 \pm 0,46
3 – дослідна (40 г/гол.)	15,8 \pm 0,55	7,4 \pm 0,39	8,5 \pm 0,56
Через 75 діб від початку введення			
1 – контрольна	17,4 \pm 0,95	8,4 \pm 0,69	8,9 \pm 0,86
2 – дослідна (20 г/гол.)	23,6 \pm 1,02**	12,5 \pm 0,86**	11,1 \pm 0,99
3 – дослідна (40 г/гол.)	24,1 \pm 1,16**	12,9 \pm 0,76**	11,2 \pm 1,02

Таким чином, за згодовування L-карнітину відбувається корекція окиснювально-відновних процесів у спермі за рахунок збільшення інтенсивності перебігу процесів енергетичного метаболізму: підвищується активність ензимів дихального ланцюга, а в загальній кількості спожитого кисню сперміями бугаїв відбувається його перерозподіл у бік зростання мітохондріального компонента дихання. Очевидно, що такі зміни забезпечують підвищення синтезу АТФ, нормалізацію обмінних процесів у еякулятах і зумовлюють стабільну якість спермопродукції.

Проведені дослідження щодо визначення впливу L-карнітину на гематологічні показники бугаїв показали в 2-й і 3-й групах тенденцію до збільшення концентрації гемоглобіну та вірогідне збільшення кількості еритроцитів на 11,7 та 13,8 % відповідно порівняно з даними контрольної групи. Такі зміни можуть свідчити про раціональне використання кисню периферійними тканинами бугаїв на тлі зменшення інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів за впливу досліджуваної добавки, що за принципом зворотного зв'язку зумовлює активацію еритропоезу зі збільшеним вмістом гемоглобіну в еритроцитах.

Виявлено вірогідне збільшення вмісту глюкози, загального білка й альбумінів та зниження активності аспартатамінотрансферази у сироватці крові бугаїв за дії L-карнітину, при цьому всі показники перебували у межах фізіологічної норми. Зниження у сироватці крові активності ферменту переамінування АСТ дає змогу зробити припущення про гепатопротекторний вплив L-карнітину. Оскільки цей ензим у крові представлений головним чином мітохондріальною ізоформою (Єфімов В. Г., 2010), такі зміни можна вважати наслідком нормалізації структури мембран мітохондрій і підвищенням функціональної активності печінки, в якій відбувається активація метаболічних шляхів за участі L-карнітину. Цю гіпотезу підтверджує виявлений позитивний кореляційний зв'язок кількості загального білка крові з концентрацією та

рухливістю сперміїв, а також кількості альбумінів крові з об'ємом еякуляту й концентрацією сперміїв бугаїв.

За згодовування L-карнітину підвищується концентрація тестостерону, хоча достовірна різниця, порівняно з контрольним показником, виявилась у 3-й групі бугаїв, які отримували 40 г/гол (табл. 4).

Таблиця 4

Концентрація тестостерону в крові бугаїв-плідників за дії L-карнітину, нМ/л ($M \pm m$; n = 4)

Група бугаїв	До введення	Через 75 діб введення
1– контрольна	49,92±4,97	46,42±3,36
2 – дослідна (20 г/гол.)	45,05±1,90	55,60±3,26
3 – дослідна (40 г/гол.)	45,02±3,61	58,50±2,82*

Імовірно, що збільшення синтезу тестостерону може бути одним із наслідків зниження вмісту АФО за електронно-транспортних реакцій та нормалізації мембранного потенціалу мітохондрій. Отже, проведені дослідження свідчать про стимулювальний вплив L-карнітину на еритропоез, білковий та енергетичний обмін і на синтез тестостерону в бугаїв.

Репродуктивна здатність бугаїв-плідників оцінюється за якістю сперми, яка зумовлена комплексом чинників, зокрема, станом мембранного апарату сперміїв та рівнем окиснювально-відновних процесів (Чухрий Б. Н. с соавт., 1992).

Згодовування L-карнітину забезпечує покращення фізіологічних показників якості еякулятів бугаїв у всіх дослідних групах, порівняно з контрольною, проте всі вони перебувають у межах нормативних величин. Так, за дії вітаміноподібної добавки відбувається дозозалежне збільшення об'єму еякуляту протягом досліді (рис. 2).

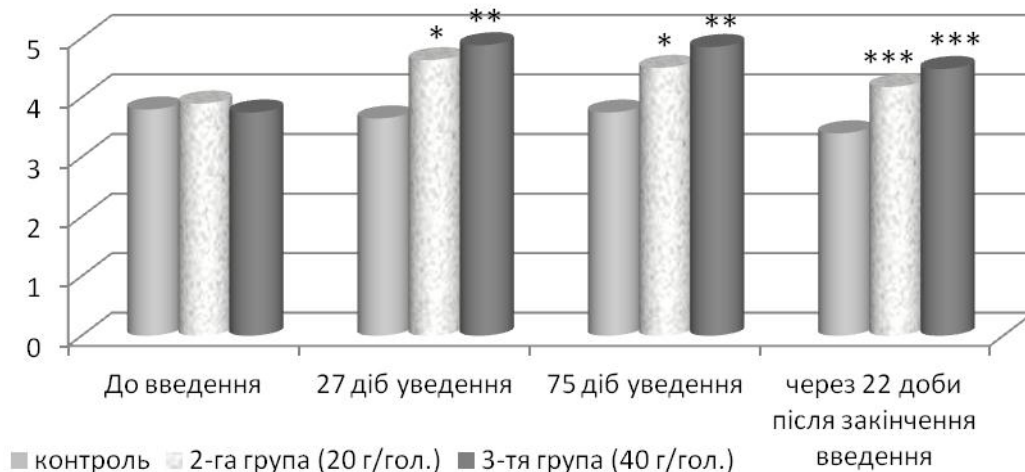


Рис. 2. Об'єм еякуляту бугаїв-плідників за дії L-карнітину, мл ($M \pm m$; n = 4).

Подібна тенденція простежується й за значенням показників виживання сперміїв, від яких більшою мірою залежить їх запліднювальна здатність (рис. 3).

Виявлено, що виживання сперміїв бугаїв через 27 і 75 діб перорального застосування 20 г/гол. досліджуваної добавки збільшується на 25,9 % ($p < 0,05$) і

28,6 % ($p < 0,05$), а за згодовування 40 г/гол. – на 27,9 % ($p < 0,05$) і 24,3 % ($p < 0,05$) відповідно порівняно з аналогічними показниками контрольної групи.

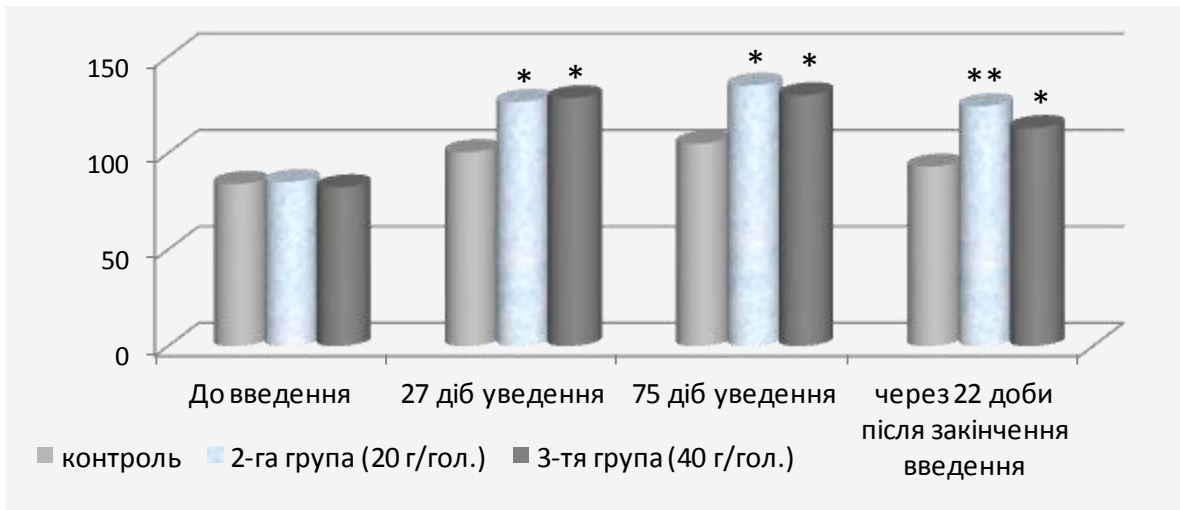


Рис. 3. Вживання спермійів за дії L-карнітину, год ($M \pm m$; $n = 4$).

За згодовування L-карнітину вірогідно збільшується концентрація та активність спермійів. Наприкінці досліду, після закінчення введення досліджуваної добавки, зафіксовано пролонгований ефект її дії у вигляді вищих фізіологічних показників якості сперми у тварин дослідних груп.

Отже, наведені вище дані свідчать, що процес сперміогенезу та якість сперми істотно взаємозв'язані з енергозабезпеченістю і станом системи антиоксидантного захисту організму, а розлад механізмів регуляції процесів окиснення ліпідів може бути одним із патогенетичних чинників порушення репродуктивної функції плідників. Оцінка біохімічних показників якості сперми дасть змогу з високою ймовірністю визначати непридатні до запліднення еякуляти, встановлювати фізіологічні межі коливань значень окремих показників у кожного бугая, а отже, вчасно діагностувати й усувати причини погіршення якості сперми та зниження її запліднювальної здатності.

Вплив додавання L-карнітину до розріджувача сперми на її фізіолого-біохімічні показники. Оскільки під час технологічної обробки сперми антиоксидантний захист послаблюється, а деякі його ланки втрачаються, то дефіцит сполук із антиоксидантними властивостями можна компенсувати додаванням їх до розріджувачів еякулятів (Кава С. Й. зі співавт., 2010). У зв'язку з одержаними результатами перорального застосування L-карнітину, досліджували також його вплив як добавки до розріджувача еякулятів.

Дослідження показало, що різні концентрації L-карнітину в складі розріджувача сперми Віоexcell забезпечують зростання активності КАТ і ГПО, порівняно з контролем, а в активності СОД спостерігали тенденцію до зниження. Так, введення 10 і 30 мг L-карнітину на 100 мл розріджувача сприяло зниженню активності СОД на 36,5 % ($p < 0,001$) і 30,6 % ($p < 0,001$) відповідно при співставленні з показником у контролі. При цьому активність КАТ та ГПО у розбавленій спермі із концентрацією карнітину 10 мг/100 мл підвищилась на 25,4 % ($p < 0,05$) і 42,7 % ($p < 0,001$), а при 30 мг/100 мл – на 22,4 і 38,7 % ($p < 0,001$) відповідно проти показників у контролі.

Результатами проведених досліджень доведено, що L-карнітин у складі розріджувача впливає на вміст ТБК-активних продуктів у розбавленій спермі та на виживання спермійів бугаїв. L-карнітин (10 і 30 мг/100 мл) сприяє вірогідному зменшенню вмісту вказаного кінцевого продукту ПОЛ на 18,3 та 34,7 % відповідно на відміну з показником у контролі.

Дослідженнями впливу середовища з різною концентрацією L-карнітину на дихальну активність сперми бугаїв виявлено вірогідне зменшення споживання кисню, значення якого коливається в межах 10,17–13,88 нг-атом O/хв $\times 10^9$ спермійів.

При розбавленні еякулятів розріджувачем із L-карнітином (10 мг/100 мл) величина спожитого кисню аеробним гліколізом становила 23,2 % загальної кількості використаного спермою кисню, у кількості 30 мг/100 мл – 29,2 %, 60 мг/100 мл – 27,4 %, тоді як у контрольній частині еякуляту дихальна активність цієї ланки становила 17,3 %. Такі результати, ймовірно, пов'язані з активацією L-карнітином метаболізму між сперміями і середовищем, що містить екзогенні енергетичні субстрати, які можуть бути використані гаметами для ресинтезу АТФ. Водночас можна припустити, що реалізуються як гідратаційні властивості молекул L-карнітину, так і їх взаємодія з компонентами середовища та мембран спермійів.

Середовище з різними дозами L-карнітину забезпечує високу активність НАД-залежної ланки ланцюга дихання мітохондрій спермійів і відповідно використання альтернативних субстратів у циклі трикарбонових кислот, причому найбільше споживання кисню спермою за рахунок цієї ланки зафіксовано в III (30 мг карнітину/100 мл) частині еякуляту.

Виявлено гальмування вільнорадикального окиснення в спермі, розрідженій із додаванням L-карнітину, оскільки в контрольній частині еякуляту витрати Оксигену на цей процес були найвищі й становили 16,8 % спожитого, тоді як у II, III і IV частинах це співвідношення становило 11,2; 5,4 та 6,1 % відповідно. Таким чином, у розріджених із додаванням L-карнітину еякулятах бугаїв, поряд із нормалізацією активності ланок ланцюга дихання спермійів, гальмується вільнорадикальне окиснення ненасичених жирних кислот. Виявлені зміни дихальної активності сперми бугаїв за додавання L-карнітину до середовища для її інкубації певною мірою узгоджуються з активністю окиснювальних ензимів (табл. 5).

Таблиця 5

Активність ензимів енергетичного обміну в спермі бугаїв, розбавленій з додаванням L-карнітину, мкМ/хв. \times л (M \pm m, n = 10)

Частини еякуляту	Цитохромоксидаза	Сукцинатдегідрогеназа
I – контрольна	29,56 \pm 1,17	17,84 \pm 1,50
II – карнітину 10 мг/100 мл	24,50 \pm 1,89***	13,50 \pm 1,07**
III – карнітину 30 мг/100 мл	18,01 \pm 1,11**	9,50 \pm 1,17*
IV – карнітину 60 мг/100 мл	19,90 \pm 1,22**	10,50 \pm 1,11**

Так, активність ЦХО в спермі, розрідженій із додаванням L-карнітину в кількості 10, 30 і 60 мг/100 мл знижується на 17,1 % (p < 0,001), 39,1 % (p < 0,01) і

32,7 % ($p < 0,01$) відповідно у порівнянні з контролем. Аналогічних змін зазнає й активність СДГ, яка в II, III та IV дослідних частинах еякуляту мала нижчі, порівняно з контролем показники активності на 24,3 % ($p < 0,01$), 46,7 % ($p < 0,05$) і 41,1 % ($p < 0,01$) відповідно.

Нормалізація активності ланок ланцюга дихання мітохондрій сперміїв у розріджених L-карнітином еякулятах у концентрації 10 і 30 мг/100 мл підвищує виживання сперміїв на 12,7 % ($p < 0,001$) і 20,8 % ($p < 0,001$) відповідно, проти аналогічного показника в контрольній частині еякуляту. Оптимальною щодо впливу на фізіолого-біохімічні показники якості сперми є концентрація L-карнітину 30 мг на 100 мл розріджувача.

Таким чином, зазначене вище свідчить про зв'язок фізіологічних властивостей сперміїв з інтенсивністю окиснювально-відновних процесів у спермі. Дослідження об'єктивно вказують на перспективність додавання L-карнітину як у складі раціону, так і до розріджувачів еякулятів з метою корекції енергетичного обміну та прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу сперміїв бугаїв-плідників.

ВИСНОВКИ

У дисертації відповідно до поставленої мети та завдань отримані нові дані щодо впливу L-карнітину на вміст загальних ліпідів, їх класів, активність ензиматичної системи антиоксидантного захисту, вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у спермі та крові бугаїв, гематологічні показники, активність окремих оксидоредуктаз і дихальну активність сперми.

1. Додавання до раціону бугаїв-плідників 20 і 40 г/гол. L-карнітину щоденно впродовж 75 діб сприяє збільшенню вмісту загальних ліпідів і зміні співвідношення окремих їх класів у спермі та крові. У спермі бугаїв за 75-добового згодовування L-карнітину збільшується абсолютний вміст фосfolіпідів на 14,3 і 12,1 %, естерів холестеролу – на 8 і 10 %, зменшується вміст холестеролу на 14,5 і 14,7 % і вміст неестерифікованих жирних кислот – на 21,8 % ($p < 0,05$) і 20,1 % ($p < 0,05$) відповідно. Водночас збільшується ($p < 0,05–0,01$) відносний вміст фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну, кардіоліпіну при паралельному вірогідному зменшенні лізофосфатидилхоліну.

2. Із застосуванням L-карнітину знижується інтенсивність вільнорадикальних процесів, про що свідчить зменшення кількості первинних і вторинних продуктів ПОЛ у спермі та крові тварин. Включення до раціону L-карнітину дозами 20 і 40 г/гол. зумовлює вірогідне зменшення у спермі бугаїв вмісту дієнових кон'югатів на 29 і 29,6 %, гідропероксидів ліпідів на 39,2 і 41,2 %, ТБК-активних продуктів – на 44,6 і 42,6 % відповідно. У спермі та крові бугаїв обох дослідних груп вірогідно підвищується активність каталази і глутатіонпероксидази за незначного зниження активності супероксиддисмутази.

3. За згодовування 20 і 40 г/гол. L-карнітину в спермі бугаїв підвищується активність ферментів дихального ланцюга – сукцинатдегідрогенази в 1,68 разу ($p < 0,001$) та 1,75 разу ($p < 0,001$) й цитохромоксидази – на 26,1 % ($p < 0,001$) і на 28,9 % ($p < 0,001$); активується споживання кисню на 35,6 % ($p < 0,01$) і 38,5 % ($p < 0,01$) зі зростанням мітохондріального компонента дихання на 4,7 та 5,2 %.

4. За включення до раціону L-карнітину дозами 20 і 40 г/гол. у крові збільшується кількість еритроцитів на 11,7 % ($p < 0,05$) і 13,8 % ($p < 0,05$), вміст гемоглобіну – на 8,7 і 10,1 %, вміст глюкози – на 22,7 % ($p < 0,01$) і 12,8 % ($p < 0,05$), загального білку – на 12,6 % ($p < 0,01$) і 13,1 % ($p < 0,01$), концентрація тестостерону на 19,8 і 26 % ($p < 0,05$) та знижується активність АСТ на 10 і 12,5 % ($p < 0,05$) відповідно, що свідчить про стимулювальний вплив досліджуваної добавки на еритропоез, білковий, енергетичний обмін і синтез тестостерону.

5. Згодовування L-карнітину забезпечує поліпшення фізіологічних показників еякулятів бугаїв. Через 75 днів згодовування L-карнітину виявлено вірогідне збільшення в 2-й і 3-й групах: об'єму – на 20 і 29,3 %, концентрації – на 16 і 17 %, активності – на 13,1 і 16,9 %, виживання сперміїв – на 28,6 і 24,3 %.

6. Виявлено позитивний кореляційний зв'язок між виживанням сперміїв і вмістом фосфатидилхоліну ($r = 0,83$), активністю сукцинатдегідрогенази ($r = 0,80$) та глутатіонпероксидази ($r = 0,63$), а також негативний – із вмістом ТБК-активних продуктів ($r = -0,71$) і гідропероксидів ліпідів ($r = -0,61$) у спермі бугаїв. Показник виживання сперміїв позитивно корелює з активністю глутатіонпероксидази ($r = 0,91$), вмістом фосфатидилхоліну ($r = 0,75$), концентрацією тестостерону ($r = 0,69$) та негативно – із вмістом ТБК-активних продуктів ($r = -0,77$) у крові бугаїв.

7. Додавання до розріджувача для сперми 10 і 30 мг/100 мл L-карнітину забезпечує вірогідне збільшення у ній активності каталази на 25,4 і 22,4 % та глутатіонпероксидази – на 42,7 і 38,7 %, зменшення вмісту ТБК-активних продуктів на 18,3 і 34,7 %. Водночас, знижується активність сукцинатдегідрогенази на 24,3 % ($p < 0,01$) і 46,7 % ($p < 0,05$), цитохромоксидази – на 17,1 % ($p < 0,001$) і 39,1 % ($p < 0,01$). L-карнітин, який додавали до розріджувача сперми 10 і 30 мг/100 мл, стимулює аеробний гліколіз на 5,9 і 11,9 % та знижує окиснювальні процеси, які не пов'язані з синтезом АТФ, на 5,6 і 11,4 % відповідно, що підвищує виживання сперміїв бугаїв.

8. За використання L-карнітину як добавки до раціону або у складі розріджувача сперми підвищуються антиоксидантні властивості сперми та виживання статевих клітин бугаїв. Додавання до раціону L-карнітину забезпечує підвищення об'єму еякуляту, концентрації та виживання сперміїв, за рахунок чого збільшується (на 20–40 %) кількість одержаних на одного бугая спермодоз. При цьому можна одержати додатковий прибуток від реалізації спермодоз еякуляту з розрахунку на одну тварину від 1075 до 1425 грн.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. З метою підвищення активності ферментів антиоксидантної системи та поліпшення якісних і кількісних показників спермопродуктивності бугаїв пропонується застосовувати L-карнітин (у вигляді добавки «Карніпас») дозою 20 г/гол. впродовж 75 днів.

2. Для поліпшення біохімічних показників і запліднювальної здатності сперміїв рекомендується додавати до розріджувача сперми L-карнітин у кількості 30 мг на 100 мл.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Цехмістренко С. І. Активність ферментів антиоксидантного захисту в еякулятах бугаїв за додавання L-карнітину до розріджувача сперми / С. І. Цехмістренко, **В. А. Коберська** // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: зб. наук. праць. – Біла Церква, 2012. – Вип. 8 (98). – С. 117–120. *(Дисертант провела дослідження активності ензимів антиоксидантного захисту, статистичний аналіз отриманих даних, написала основний текст статті).*
2. **Коберська В. А.** Біохімічні аспекти і перспективи використання карнітину для покращення метаболізму сперматозоїдів / В. А. Коберська, М. С. Мельник // Зб. наук. праць Він. нац. агр. унів. Серія: сільськогосподарські науки. – Вінниця, 2012. – Вип. 4 (62). – С. 85–89. *(Дисертант провела дослідження якості сперми, написала основний текст статті).*
3. Цехмістренко С. І. Вплив умісту малонового діальдегіду та рівня активності ферментів антиоксидантного захисту в еякулятах бугаїв на якість сперми / С. І. Цехмістренко, **В. А. Коберська** // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: зб. наук. праць. – Біла Церква, 2013. – Вип. 10 (105). – С. 5–8. *(Дисертант провела дослідження вмісту продуктів ПОЛ, активності ензимів антиоксидантного захисту, статистичний аналіз отриманих даних).*
4. Цехмістренко С. І. Влияние L-карнитина на активность антиоксидантных ферментов спермы быков / С. И. Цехмистренко, **В. А. Коберская** // Аграрная наука – сельскому хозяйству: сб. ст. – Барнаул, 2014. – Кн. 3. – С. 222–224. *(Дисертант провела дослідження активності ензимів антиоксидантного захисту, провела статистичний аналіз, написала основний текст статті).*
5. Цехмістренко С. І. Вплив продуктів пероксидного окиснення ліпідів в сироватці крові на виживання сперміїв бугаїв-плідників за додавання до їх раціону L-карнітину / С. І. Цехмістренко, **В. А. Коберська** // Зб. наук. праць Він. нац. агр. унів. Серія: сільськогосподарські науки. – Вінниця, 2014. – Вип. 1 (83). Т. 1. – С. 53–61. *(Дисертант провела дослідження вмісту продуктів ПОЛ, активності ензимів антиоксидантного захисту, статистичний аналіз отриманих даних).*
6. **Koberska V.** Phospholipids content in bull sperm under the influence of L-carnitine / V. Koberska, S. Tsekhmistrenko // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: зб. наук. праць. – Біла Церква, 2014. – № 2 (112). – С. 92–97. *(Дисертант провела дослідження вмісту ліпідів, статистичний аналіз отриманих даних, написала основний текст статті).*
7. **Коберська В. А.** Вплив L-карнітину у складі раціону бугаїв на ліпідний склад та якість сперми / В. А. Коберська // Біологія тварин. – 2015. – Т. 17, № 1. – С. 62–67.
8. Цехмістренко С. І. Рекомендації щодо застосування вітаміноподібного препарату для підвищення показників якості сперми бугаїв-плідників / С. І. Цехмістренко, **В. А. Коберська**, С. О. Голембівський. – Біла Церква, 2014. – 15 с. *(Дисертант провела дослідження активності ензимів енергетичного обміну й антиоксидантного захисту в спермі, сформуvala рекомендації).*
9. Пат. Україна, МПК А61D 19/02 (2006.01). Спосіб підвищення виживання сперміїв / С. І. Цехмістренко, **В. А. Коберська**. № u 2014 13151; заявл. 08.12.2014; опубл. 10.04.2015, Бюл. № 7. *(Дисертант провела патентний пошук, сформуvala та оформила патент).*
10. Пат. Україна, МПК (2015.01) А01К 21/00 А61D 19/02 (2006.01). Спосіб покращення якості спермопродукції бугаїв / С. І. Цехмістренко, **В. А. Коберська**.

№ у 2014 13148; заявл. 08.12.2014; опубл. 27.04.2015, Бюл. № 8. *(Дисертант провела патентний пошук, сформувала та оформила патент).*

11. **Коберська В. А.** Активність каталази та глутатіонпероксидази в еякулятах бугаїв за додавання антиоксидантів до розріджувача сперми / В. А. Коберська, С. І. Цехмістренко // Аграрна наука – виробництву: тези доп. держ. наук.-практ. конф. «Сучасні технології виробництва та переробки продукції тваринництва». – Біла Церква, 2012. – С. 41–42. *(Дисертант провела дослідження активності ензимів антиоксидантного захисту та статистичний аналіз отриманих даних).*

12. **Коберська В. А.** Вплив стану антиоксидантної системи в еякулятах бугаїв-плідників на якість сперми / В. А. Коберська // Сучасні проблеми підвищення якості, безпеки, виробництва та переробки продукції тваринництва: Матеріали Міжнар. наук.-практ. конф. – Вінниця, 2013. – С. 58–59.

13. **Коберська В. А.** Пероксидне окиснення ліпідів у спермі бугаїв-плідників за введення до їх раціону L-карнітину / В. А. Коберська, С. І. Цехмістренко // Фізіолого-біохімічні і технологічні аспекти охорони навколишнього середовища: зб. матеріалів Всеукр. наук.-практ. конф. – Мелітополь, 2013. – С. 36–38. *(Дисертант провела дослідження вмісту продуктів ПОЛ, написала основний зміст тез).*

14. **Коберська В. А.** Вміст малонового діальдегіду в еякулятах бугаїв за додавання L-карнітину до розріджувача сперми / В. А. Коберська // «Проблеми ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва»: зб. матеріалів Міжнар. наук.-практ. конф. – Київ, 2014. – С.140–142.

15. **Коберська В. А.** Вплив L-карнітину на процеси пероксидного окиснення ліпідів у спермі бугаїв-плідників / В. А. Коберська, С. І. Цехмістренко // «Стратегічні напрями розвитку тваринництва в Україні у контексті національної продовольчої безпеки»: Матеріали Міжнар. наук.-практ. конф. – Біла Церква, 2014. – С. 57–58. *(Дисертант провела дослідження вмісту продуктів ПОЛ, написала основний зміст тез).*

16. Поліщук С. А. Інтенсивність пероксидного окислення ліпідів та окисної модифікації протеїнів у спермі кнурів- і бугаїв-плідників: матеріали 11-го Укр. біохім. конгр. / С. А. Поліщук, С. І. Цехмістренко, **В. А. Коберська** // Український біохімічний журнал. – 2014. – Вип. 86, № 5 (2). – Р. 258. *(Дисертант провела дослідження вмісту продуктів ПОЛ).*

АНОТАЦІЇ

Коберська В. А. Біохімічне обґрунтування застосування L-карнітину для корекції енергетичного та ліпідного обміну в спермі бугаїв. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія. – Інститут біології тварин НААН, Львів, 2015.

Робота присвячена вивченню особливостей ліпідного складу, вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів, активності ензимів антиоксидантного захисту та ензимів дихального ланцюга мітохондрій, інтенсивності споживання кисню спермою бугаїв за дії L-карнітину.

З'ясовано, що додавання до раціону бугаїв L-карнітину сприяє збільшенню вмісту загальних ліпідів та зміні співвідношення окремих їх класів у спермі та

крові. При цьому зменшується вміст неестерифікованих жирних кислот і змінюється фракційний склад фосфоліпідів сперми та крові. Зокрема, збільшується вміст фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну, кардіоліпіну та зменшується концентрація лізофосфатидилхоліну і фосфатидилсерину. Виявлено регуляторний вплив L-карнітину на активність ключових антиоксидантних ензимів, інтенсивність перебігу процесів ПОЛ та взаємозв'язок між ліпідним складом, процесами пероксидного окиснення, дихальною активністю сперми та фізіологічними показниками сперміїв.

Застосування L-карнітину в складі розріджувача сперми сприяє зниженню вмісту продуктів ПОЛ, забезпечує регуляторний вплив на активність ензимів системи антиоксидантного захисту, дихального ланцюга мітохондрій, інтенсивність споживання кисню, унаслідок чого поліпшуються фізіологічні показники сперми.

Ключові слова: ліпіди, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, L-карнітин, сперма, бугаї.

Коберская В. А. Биохимическое обоснование использования L-карнитина для коррекции энергетического и липидного обмена в сперме быков. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.00.04 – биохимия. – Институт биологии животных НААН, Львов, 2015.

Работа посвящена изучению особенностей липидного состава, содержания продуктов перекисного окисления липидов, активности энзимов антиоксидантной защиты и дыхательной цепи митохондрий, интенсивности потребления кислорода спермы быков при воздействии L-карнитина.

Установлено, что при воздействии L-карнитина увеличивается количество общих липидов, в составе которых возрастает содержание фосфолипидов, эстеров холестерина, но уменьшается концентрация свободного холестерина и неэстерифицированных жирных кислот, что свидетельствует об интенсивности метаболических процессов и высокой потребности в энергии у опытных животных. Доминирующим классом липидов в сперме быков являются структурные липиды. При использовании L-карнитина изменяется и фракционный состав фосфолипидов спермы, в частности, увеличивается количество фосфатидилхолина, фосфатидилэаноламина и кардиолипина на фоне уменьшения содержания лизофосфатидилхолина. Липидный состав тесно связан с активностью энзимов АОС и интенсивностью процессов ПОЛ спермы, что подтверждается установленными корреляционными связями.

Адаптационные резервы и возможности организма адекватно функционировать при изменении условий внешней и внутренней среды определяются, главным образом, интенсивностью процессов свободнорадикального окисления и состоянием антиоксидантной системы. При скармливании L-карнитина отмечены снижение интенсивности процессов ПОЛ и нормализация активности энзимов АОС. Корректирующий эффект добавки на процессы липопероксидации в организме быков объясняется комплексным действием L-карнитина на

процессы клеточного метаболизма, в частности, его детоксикационными и трансмембранными свойствами.

L-карнитин способствует повышению адаптационных возможностей организма быков, в частности, в эякулятах животных регистрируется достоверное уменьшение содержания первичных продуктов ПОЛ (ГПЛ, ДК и ТБК-активных продуктов). На фоне применения добавки в сперме опытных животных достоверно повышается активность каталазы и глутатионпероксидазы, при этом активность супероксиддисмутазы проявляет тенденцию к снижению. Очевидно, что введение в организм L-карнитина, приводит к уменьшению свободных радикалов, образующихся в тканях.

Результаты исследований свидетельствуют, что на фоне скармливания L-карнитина происходит достоверное увеличение в сперме быков активности ферментов дыхательной цепи – сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы. При этом активность СДГ и ЦХО в сперме опытных быков имеет максимальные значения после 75 суток скармливания L-карнитина. Установлено, что при использовании исследуемой добавки в общем количестве потребленного кислорода сперматозоидами быков происходит его перераспределение в сторону увеличения митохондриальной составляющей дыхания, что связано с повышением синтеза АТФ и характеризует нормализацию обменных процессов в эякуляте, установление стабильного качества спермопродукции.

Проведенный анализ спермопродуктивности быков показал, что применение L-карнитина положительно влияет на физиологические показатели качества эякулятов производителей, способствуя активизации сперматогенеза, увеличению объема эякулята, концентрации, активности и выживанию сперматозоидов. Установлено, что добавка L-карнитина к рациону и в составе разбавителей спермы проявляет активирующее и антиоксидантное действие, обеспечивая метаболическую коррекцию, что соответствует мощности функционирующих систем и является оправданным для улучшения качественных и количественных показателей спермы.

Ключевые слова: липиды, пероксидное окисление липидов, антиоксидантная система, L-карнитин, сперма, быки.

Koberska V. A. Biochemical substantiation of the use of L-carnitine for the correction of energy and lipid metabolism in the semen of bulls. – Manuscript.

Dissertation for the degree of candidate of agricultural sciences in the specialty 03.00.04 – biochemistry. – Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, 2015.

The work is devoted to the study of peculiarities of the lipid composition, content of the products of lipid peroxidation, activity of enzymes of antioxidant protection and enzymes of the respiratory chain of mitochondria, intensity of oxygen consumption of bulls' sperm due to the action of L-carnitine.

It is established that the addition to the diet of bulls of L-carnitine helps to increase the content of total lipids and change the proportion of their individual classes in semen and blood. Due to this the content of fatty acids decreases and the

fractional composition of semen and blood phospholipids changes. In particular, the content of phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine, cardiolipin is increased and the concentration of lizofosfatydylholine and phosphatidylserine is decreased.

It is established a regulatory effect of L-carnitine to the activity of key antioxidant enzymes and intensity of the lipid peroxidation processes. It is determined the interrelation between lipid composition, process of lipid peroxidation, respiratory activity of sperm and physiological parameters of spermatozoa.

The use of L-carnitine as a part of diluent for sperm reduces the content of lipid peroxidation products, provides a regulatory effect to the activity of enzymes of the system of antioxidant protection, mitochondrial respiratory chain, the intensity of oxygen consumption, it leads to the improvement of physiological parameters of semen.

Key words: lipids, lipid peroxidation, antioxidant system, L-carnitine, semen, bulls.