

2. Veterinary Reproduction & Obstetrics / G. H. Arthur, D. E. Noakes, H. Pearson, T. J. Parkinson. – Seventh Edition. – W.B. : Saunders Company Ltd, 1996. – 726 p.
3. Валюшкин, К. Д. Акушерство, гинекология и биотехника размножения животных / К. Д. Валюшкин, Г. Ф. Медведев. – Мн. : Ураджай, 2001. – 869 с.

REFERENCES

1. Mitchell, J., H. Herman, and G. Doak. 1994. *The artificial insemination and Embryo transfer of dairy and beef cattle (including information pertaining to goats, sheep, horses, swine, and other animals): A handbook and laboratory manual*. Interstate publishers, INC, 352.
2. Arthur, G. H., D. E. Noakes, H. Pearson, and T. J. Parkinson. 1996. *Veterinary Reproduction & Obstetrics*. Seventh Edition. W.B., Saunders Company Ltd, 726.
3. Valyushkin, K. D. and G. F. Medvedev. 2001. *Akusherstvo, ginekologiya i biotekhnika razmnozheniya zhyvotnykh – Obstetrics, gynecology and reproductive animals biotechnics*. Minsk, Uradzhay, 869 (in Russian)

УДК 620.3:591.16:611.013.1:611.013.2

ВПЛИВ РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА В СЕРЕДОВИЩІ ДЛЯ РОЗРІДЖЕННЯ СПЕРМИ БУГАЇВ НА РУХЛИВІСТЬ ТА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ СПЕРМІЇВ

I. I. GEVKAN

*Інститут біології тварин НААН (Львів, Україна)
gevkan.iv@gmail.com*

Вивчено вплив наночастинок срібла на життєздатність та активність спермійв бугаїв. Різні концентрації наночастинок срібла у розріджувачі для сперми були одержані в магнітному полі в зоні електродів. У всіх груп із наночастинками срібла життєздатність спермійв підвищилась. Однак найбільше число життєздатних спермійв впродовж культивування було виявлено в другій експериментальній групі при додаванні наночастинок срібла в концентрації 0,005 мг/мл. В цій групі рухливість спермійв зростала після 1-ї години культивування. Більше того, наночастинки срібла в концентрації 0,005 мг/мл збільшували життєздатність спермійв впродовж двох годин зберігання та співвідношення живих до мертвих спермійв на 25 % в порівнянні із контрольною групою.

Ключові слова: наночастинки срібла, активність та виживання спермійв бугаїв, середовище для розрідження сперми

THE EFFECT OF SILVER NANOPARTICLES AT DIFFERENT CONCENTRATIONS IN SEMEN EXTENDER ON VIABILITY AND MOTILITY OF BULL SPERMATIDS

I. I. Gevkan

Institute of Animal Biology NAAN (Lviv, Ukraine)

The effect of silver nanoparticles in semen extender on viability and activity of bull spermatids was study. The different concentrations of silver nanoparticles in semen extender were obtained via electrochemical method in magnetic field between silver electrodes. In all groups with silver nanoparticles sperm viability was increased. However, the largest number of viable

© I. I. Gevkan, 2014

spermatids during cultivation was found in second experimental group by adding of silver nanoparticles at concentration 0.005 mg/ml. In this group, sperm motility was increased after 1 hour of cultivation. Furthermore, silver nanoparticles at concentration 0.005 were increased sperm viability during two hours of storage and live-dead sperm ratio at 25% compares to control group.

Keywords: silver nanoparticles, the activity and viability bull sperm, semen extender

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В СРЕДЕ ДЛЯ РАЗЖИЖЕНИЯ СПЕРМЫ БЫКОВ НА ПОДВИЖНОСТЬ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ СПЕРМИИВ

И. И. Гевкан

Институт биологии животных НААН (Львов, Украина)

Изучено влияние наночастиц серебра на жизнеспособность и активность спермиев быков. Различные концентрации наночастиц серебра в разбавителе для спермы были получены в магнитном поле в зоне электродов. Во всех группах с наночастицами серебра жизнеспособность спермиев повысилась. Однако наибольшее число жизнеспособных сперматозоидов в течение культивирования было обнаружено во второй экспериментальной группе при добавлении наночастиц серебра в концентрации 0,005 мг/мл. В этой группе подвижность спермиев возросла после 1-го часа культивирования. Более того, наночастицы серебра в концентрации 0,005 мг/мл увеличивали жизнеспособность спермиев в течение двух часов хранения и соотношение живых к мертвым спермиев на 25 % по сравнению с контрольной группой.

Ключевые слова: наночастицы серебра, активность и выживание спермиев быков, среда для разжижения спермы

Вступ. Застосування біотехнологічних методів при відтворенні тварин не можливе без пошуку нових джерел ростових факторів, біологічно активних речовин та інших фізико-хімічних чинників, які стимулюють дозрівання та активність гамет, сприяють взаємодії між ембріоном та материнським організмом та забезпечують підвищення запліднення тварин. Було доведено, що додатковим чинником для стимуляції проліферативної активності клітинних культур яйцепроводів овець і корів може бути електромагнітне поле надвисоких частот (ЕМП НВЧ) [1]. Чисельними дослідженнями показано, що електромагнітні хвилі міліметрового діапазону взаємодіючи з клітинними мембранами, викликають утворення тривалоіснуючих білкових підструктур в клітинах, які генерують надвисокочастотні коливання і можуть передаватися наступним популяціям клітин. [2]. В результаті відбуваються зміни активності ряду ферментів, реакцій вільно-радикального окислення, , що широко використовується в регенеративній медицині [3].

В попередніх дослідженнях вивчено безпосередній та опосередкований вплив ЕМП НВЧ на проліферативну активність культури клітин різних типів, (отримано *Деклараційний патент на корисну модель № 51687*) [4] який розглядається, як альтернативний екзогенний фактор, що здатний підвищувати проліферативний ріст культур клітин. В подальших дослідженнях з метою впливу на гамети була застосована обробка ЕМП НВЧ для підвищення активності сперми після розморожування та збільшення кількості дозрілих ооцит-кумуляосних комплексів до метафази-2.

Широке застосування антибіотиків у ветеринарії і, зокрема, в репродуктивній біотехнології при розрідженні сперми, маніпуляціях з ембріонами при трансплантації за останні роки призвело до зростання частоти поширення вірусних інфекцій, які проникають в зародки і клітини репродуктивного тракту ссавців і призводять до зниження відсотка імплантації ембріонів та значних труднощів при лікуванні та профілактиці захворювань репродуктивних органів.

Відомо, що наночастишки срібла володіють цитотоксичною активністю відносно багатьох видів бактерій, найпростіших і вірусів [5, 6, 7], а також є важливим мікроелементом, який необхідний для підвищення інтенсивності окисно-відновних процесів в організмі [8], активності ряду ферментів,

функціонування залоз внутрішньої секреції, мозку та печінки. Встановлено, що при інкубації клітин кісткового мозку в розчині срібла морфологія їх не змінюється, тоді як мікроорганізми повністю гинуть. Доведено, що штами лактобактерій, які присутні в піхві при кислому рН середовища є більш стійкими до дії срібла ніж патогенні мікроорганізми, які гинуть в присутності мінімальної кількості наночастинок срібла. Наночастинки срібла – це один з кращих універсальних природних антибіотиків і антисептиків, що дає можливість використовувати даний препарат для внутрішнього та зовнішнього застосування. Спектр впливу наночастинок срібла розповсюджується на 650 видів бактерій. Виходячи з цього нами проведено дослідження з вивчення впливу наночастинок срібла на культуру клітин ендометрія корів та фібробластів плодів[9] та застосування його в ембріональній біотехнології при дозріванні ОКК, розрідженні сперміїв, при штучному заплідненні та у ранній ембріональний період у кролематок.

В доступній літературі нами не виявлено досліджень з впливу наночастинок срібла на сперму бугаїв після її розмороження та розбавлення хоча це питання потребує подальшого вивчення, з метою заміни наночастинок срібла антибіотиків і перенесення одержаних результатів у досліди *in vivo* для підвищення виживання та активності сперматозоїдів при штучному осіменінні.

Тому з метою поєднання дії електроманітного поля надвисоких частот та наносполук срібла і встановлення його оптимальних доз у середовищі для розрідження сперми на підвищення активності сперміїв для нами було використано прилад «Dr. Silver» фірми «Volcano» виробник GM Pharma Ltd (Болгарія). Прилад забезпечує отримання стандартизованої концентрації наночастинок срібла, а магнітне поле в зоні електродів потужністю 450 ± 40 Gs, структурує воду з утворенням кластерів, так званих стійких просторових структур, що змінюючи поверхневий натяг води сприяє більш легкому проникненню наночастинок срібла через біологічні мембрани та посилює його бактерицидний ефект, який встановлений для більшості мікроорганізмів у концентрації 0,05 мкг/мл впродовж 5 хвилинного контакту.

Матеріал і методи досліджень. Дослід проведений на спермі бугая «Якір» м'ясного напрямку продуктивності, що зберігалася у селекційно-генетичному центрі НВЦ «Західплемресурси» с. Грядя Жовківського району Львівської області. Після розмороження 1 гранули сперми на водяній бані при 37°C її розріджували 1 мл 2,9 %- ним цитратом натрію з отриманням наночастинок срібла в концентраціях: 0,001 0,005 0,01, 0,05 0,1мкг/мл в середовищі та оцінювали вплив наночастинок срібла на життєздатність та активність сперміїв через кожну годину впродовж 6 годин культивування в термостаті при 37°C . Виявлені зміни активності виражали у відсотках(балах). В цьому дослідженні проведено дві серії експериментів в стерильному боксі лабораторії ембріональної біотехнології з використанням 12 спермодоз.

Результати досліджень. Одержані результати показали, що після розморожування та розрідження сперми у розчині 2,9 % цитрату натрію активність сперми становить 4 бали. Через годину культивування в термостаті при 37°C спостерігається поступове зниження активності сперми в контрольній групі до 1 бала, на другу годину вона становить 0,5 бала, а на третю годину культивування більшість сперміїв були мертвими і лише у поодиноких сперміїв спостерігались коливальні рухи (табл. 1.).

При додаванні після розморожування до сперми наночастинок срібла у середовищі для розрідження спостерігається зростання активності сперми в другій, третій, четвертій та п'ятій групі на першу годину культивування в термостаті, і вона становила 4, 3, 2 і 3 бали відповідно у порівнянні з контрольною групою, де вона була на рівні 1 бала. На другу годину культивування теж відмічається зростання активності сперми в другій, третій, четвертій та п'ятій дослідних групах у порівнянні з контрольною групою. Активність сперми була найвищою у другій дослідній групі на другу годину культивування після додавання наночастинок срібла в концентрації 0,005 мкг/мл і становила 3 бали. В третій та п'ятій групі на другу годину культивування вона становила 2 бали. На третю годину культивування активність сперміїв в дослідних групах ще знижувалась, але в деяких групах, зокрема в другій групі мала 2 бали, а в третій та п'ятій групі була на рівні 1 бала і значна кількість сперматозоїдів мала прямолінійно-поступальні рухи. В цей час у контрольній групі сперма була вже мертвою і лише окремі сперматозоїди проявляли коливальні рухи.

1. Вживання та активність сперми після розморожування за умов розрідження її у розчині 2,9 % цитрату натрію з додаванням наночастинок срібла

Групи	Термін культивування, год						
	0	1	2	3	4	5	6
Контрольна ОС – 2,9% розчину цитрату натрію+1 гранула сперми	4 б	1 б	0,5 б	поодинокі коливальні рухи	поодинокі коливальні рухи	мертва	мертва
Д1 ОС +0,001 мкг/мл наночастинок срібла в 2,9 % розчину цитрату натрію +1 гр. сперми	4 б	2 б	0,5 б	поодинокі коливальні рухи	поодинокі коливальні рухи	мертва	мертва
Д2 ОС +0,005 мкг/мл наночастинок срібла в 2,9 % розчину цитрату натрію +1 гр. сперми	4 б	4 б шв. руху ↑	3 б активна	2 б поодинокі коливальні рухи	1 б поодинокі прямо-лінійно-поступальні рухи	поодинокі прямо-лінійно-поступальні рухи	поодинокі коливальні рухи
Д3 ОС +0,01 мкг/мл наночастинок срібла в 2,9 % розчину цитрату натрію +1 гр. сперми	4б	3 б	2 б шв. руху ↑	1 б поодинокі прямолінійні рухи, решта коливальні	поодинокі прямо-лінійно-поступальні рухи шв. руху ↓	поодинокі коли-вальні рухи	мертва
Д4 ОС +0,05 мкг/мл наночастинок срібла в 2,9 % розчину цитрату натрію +1 гр. сперми	4б	2 б	2 б шв. руху ↑	0,5 б поодинокі прямолінійні рухи, решта коливальні	поодинокі прямо-лінійно-поступальні рухи шв. руху ↓	поодинокі коли-вальні рухи	мертва
Д5 ОС +0,1 мкг/мл наночастинок срібла в 2,9 % розчину цитрату натрію +1 гр. сперми	4б	3 б	2 б шв. руху ↑	1 б поодинокі прямолінійні рухи, решта коливальні	поодинокі прямо-лінійно-поступальні рухи шв. руху ↓	поодинокі коли-вальні рухи	мертва

Примітка. ОС – основне середовище

Таким чином отримані результати показали, що наночастинок срібла в досліджуваних концентраціях позитивно впливають на активність спермій та збереження у них прямолінійно-поступальних рухів. Найвищою була активність сперми у другій дослідній групі після додавання наночастинок срібла в концентрації 0,005 мкг/мл впродовж всього періоду культивування. В цій групі відбувається підвищення швидкості руху сперматозоїдів в першу годину культивування, збільшення терміну виживання сперми на дві години та підвищення на 25 % співвідношення активних сперматозоїдів та мертвих в порівнянні з контрольною групою.

Перспективи подальших досліджень: Застосування наночастинок срібла є актуальними при розробці препаратів для лікування ендометритів та відновлення оптимального імунного статусу матки для імплантації ембріонів.

Висновки. Встановлено, що додавання наночастинок срібла в середовищі при розрідженні сперми в концентрації від 0,005 до 0,05 мкг/мл є оптимальною для збереження високої активності сперми після розморожування впродовж 3-х годин в порівнянні з контролем.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Електромагнітні поля надвисокої частоти як стимулятори активності проліферативного росту культури клітин яйцепроводів корів / І. І. Гевкан, Ю. І. Сливчук, І. І. Розгоні, О. В. Штапенко, А. М. Нікітенко, В. Я. Сирватка, Г. О. Мілованова // Вісник Білоцерківського Державного аграрного університету. – Біла Церква, 2008. – Вип. 58, № 3. – С. 78–83.
2. Чирский Н. В. Физиологические механизмы биологических эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ / Н. В. Чирский, Н. П. Верко. – Симферополь : ЧП Эльминьо, 2003. – 447 с.
3. ДП № 36042 Україна. Спосіб вибору довжини хвилі електромагнітного випромінювання ЕМВ міліметрового діапазону при лікуванні / В. М. Запорожан, В. В. Беспоясна, В. В. Бубнов, О. В. Грушецька. – № 99105857; опубл. 16.04.2001, Бюл. № 3 – 6 с.
4. Деклараційний патент на корисну модель № 51687. Спосіб активації проліферативних процесів в культурі клітин епітелію яйцепроводів / І. І. Гевкан, А. М. Нікітенко, О. В. Штапенко, Ю. І. Сливчук, С. В. Федорова. – № u 201001506; опубл. 26.07.2010, Бюл. № 14. – 6 с.
5. Некоторые экспериментальные и клинические результаты применения катионов серебра в борьбе с лекарственно-устойчивыми микроорганизмами. Серебро в медицине, биологии и технике / В. Н. Иванов, Г. М. Ларионов, Н. И. Кулиш, М. А. Лутцева. – Сиб. отд. РАМН, Новосибирск, 1995. – С. 53–62.
6. Uliyanov Y. P. Acute rhinitis and silver people among us. Abstract of the report in MidWinter Meeting of ARO. 2000: <http://www.aro.org>.
7. Савадян Э. Ш. Современные тенденции использования серебросодержащих антисептиков. Антибиотики и Химиотерапия / Э. Ш. Савадян. – 1989. – № 11. – С. 874–878.
8. Ji J. H. Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats / J. H. Ji // *Inhalation Toxicology*. – 2007. – Vol. 19, Iss. 10. – P. 857–871.
9. Проліферативна активність культур клітин фібробластів плодів щурів та ендометрія корів під впливом колоїдного срібла / В. Я. Сирватка, І. І. Розгоні, І. І. Гевкан, Ю. І. Сливчук // НТ Бюлетень Інституту біології тварин УААН. – Вип. 11, № 1. – Львів, 2010. – С. 286–289.

REFERENCES

1. Hevkan, I. I., Yu. I. Slyvchuk, I. I. Rozhoni, O. V. Shtapenko, A. M. Nikitenko, V. Ya. Syrvatka, and H. O. Milovanova. 2008. Elektromahnitni polya nadvysokoyi chastoty yak stymulyatory aktyvnosti proliferatyvnoho rostu kul'tury klityn yaytseprovodiv koriv – The electromagnetic field of ultrahigh frequency as stimulants proliferative activity of cell culture growth oviduct cows. *Visnyk Bilotserkivs'koho Derzhavnoho ahrarnoho univertsytetu – Bulletin of Bilotserkivskiy State Agrarian University*– 58 (3):78–83 (in Ukrainian).
2. Chirskiy, N. V., and N. P. Verko. 2003. *Fiziologicheskie mekhanizmy biologicheskikh effektov nizkointensivnogo EMI KVCh – Physiological mechanisms of the biological effects of low-intensity EHF EMR*. Simferopol', Jelmino, 447 (in Russian).
3. Zahorozhan, V. M., V. V. Bespoyasna, V. V. Bubnov, and O. V. Hrushetska. 2001. *Sposib vyboru dovzhyny khvyli elektromahnitnoho vypromiyuvannya EMV milimetrovoho diapazonu pry likuvanni – The method of selecting the wavelength of the electromagnetic millimeter radiation EMR in the treatment*. Patent UA, no. 36042:6 (in Ukrainian).
4. Hevkan, I. I., A. M. Nikitenko, O. V. Shtapenko, Yu. I. Slyvchuk, and S. V. Fedorova. 2010. *Sposib aktyvatsiyi proliferatyvnykh protsesiv v kul'turi klityn epiteliyu yaytseprovodiv – Method of*

activation of proliferative processes in the oviduct epithelial cell culture. Patent UA, № 51687, 6 (in Ukrainian).

5. Yvanov, V. N., H.M. Laryonov, N.Y. Kulysh, M.A. Luttseva. 1995. *Nekotorye eksperimental'nye i klinicheskie rezul'taty primeneniya kationov serebra v bor'be s lekarstvenno-ustoychivymi mikroorganizmami. Srebro v meditsine, biologii i tekhnike – Some experimental and clinical results using of silver cations in the fight against drug-resistant microorganisms. Silver in medicine, biology and engineering.* Sib. otd. RAMN, Novosibirsk, 53–62 (in Russian).

6. Uliyanov, Y. P. 2000. *Acute rhinitis and silver people among us. Abstract of the report in MidWinter Meeting of ARO:*<http://www.aro.org>.

7. Savadjan, Je. Sh. 1989. *Sovremennye tendentsii ispol'zovaniya serebrosoderzhashchikh antiseptikov – Modern trends in the use of silver-containing antiseptics* *Antibiotics and Chemotherapy.* 11:874–878 (in Russian).

8. Ji, J. H. 2007. Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhalation Toxicology.* 19(10):857–871.

9. Syrvatka V.Ya., I.I. Rozhoni, I.I. Hevkan, Yu.I. Slyvchuk. 2010. Proliferatyvna aktyvnist' kul'tur klityn fibroblastiv plodiv shchuriv ta endometriya koriv pid vplyvom koloyidnoho sribla — Proliferative activity of fibroblast cell cultures of rat fetuses and endometrium of cows under the influence of colloidal silver. *Naukovo-tekhnichnyy Byuleten' Instytutu biolohiyi tvaryn UAAN – Scientific and Technical Bulletin of Institute of Animal Biology UAAN.* L'viv. 11(1):286–289 (in Ukrainian).



УДК 36.082.11:575.1

К ВОПРОСУ О ВЗАИМОСВЯЗИ НЕКОТОРЫХ АМИНОКИСЛОТ С ПОКАЗАТЕЛЯМИ СПЕРМОПРОДУКЦИИ БЫКОВ-ПРИЗВОДИТЕЛЕЙ ПОРОДЫ АБЕРДИН-АНГУСС

В. С. КОНОВАЛОВ¹, В. А. КАДЫШ²

¹Институт разведения и генетики животных НААН (Чубинское, Украина)

²Подольский государственный аграрно-технологический университет (Каменец-Подольский, Украина)

konovalov_vs@ukr.net

Установленные обратно пропорциональные закономерности количественного содержания аминокислотных остатков свободного тирозина и цистина в плазме спермы на основании теоретического анализа результатов исследований по формированию воспроизводительной способности у быков-производителей породы абердин-ангус очевидно являются результатом сбалансированного метаболизма фермента тирозиназы со спермообразующей функцией быков-производителей.

Наблюдаемый феномен можно интерпретировать как единство функциональной связи в метаболизме тирозиназы и цистеин-декарбоксилазы, участвующих в образовании комплекса 3,4-диоксифенилаланина (ДОФА)-цистеин, обеспечивающих оптимальное спермообразование.

Установленные особенности метаболизма ароматических и серосодержащих аминокислот в плазме спермы быков-производителей открывают новые перспективы в технологиях долговременного хранения спермы.

Ключевые слова: быки-производители, половая зрелость, спермопродукция, свободные аминокислоты, тирозиназа

© В. С. Коновалов, В. А. Кадыш, 2014

Разведения і генетика тварин. 2014. № 48