

17. Bukarov N.G. Sokhranenie i ratsionalnoe ispolzovanie lokalnykh porod krupnogo rogatogo skota Rossii / N.G. Bukarov, Yu.P. Fomichev, N.I. Strekozov, E.G. Fedo-

tova, Yu.V. Samorukov, G.M. Aleksandrova, G.G. Bogdanova // Agrarnaya Rossiya. – 1999. – № 2. – S. 48-63.



УДК 636.082.612.616.2

**Б.С. Иолчиев, С.М. Борунова, О.Э. Бадмаев,
Р.Б. Иолчиев, А.В. Таджикиева**
B.S. Iolchiyev, S.M. Borunova, O.E. Badmayev,
R.B. Iolchiyev, A.V. Tadzhiyeva

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ И АКТИВНОСТЬ СПЕРМАТОЗОИДОВ БЫКОВ

MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION AND SPERM ACTIVITY IN BULLS

Ключевые слова: хроматин, сперматозоид, митохондрия, ядерная ДНК, яДНК, митохондриальная ДНК, мтДНК, индекс фрагментации, активность сперматозоидов, морфология сперматозоидов.

Одним из важнейших индикаторов эффективности ведения отрасли скотоводства, особенно молочного, является уровень воспроизводства стада. В молочном скотоводстве широко используется искусственное осеменение, семенем одного быка осеменяют тысячи, иногда даже десятки тысяч коров и телок. Использование вспомогательной репродуктивной технологии позволяет ускорить генетический прогресс, улучшить продуктивные показатели. Крупномасштабная селекция требует достоверной оценки качества быков-производителей, в том числе и по репродуктивным показателям. Фертильность самцов зависит от многочисленных биотических и абиотических показателей, их изучение, оценка и корректировка имеют большое фундаментальное и прикладное значение. Основная цель исследований заключается в изучении взаимосвязи ультраструктурных элементов сперматозоидов с фертильностью. В задачи исследований входило: провести расширенную спермограмму замороженно-оттаянной спермы быков-производителей; изучить митохондриальную дисфункцию в сперматозоидах, взаимосвязь митохондриальной дисфункции сперматозоидов с их активностью и морфологией. Исследованиями установлено, что существует отрицательная корреляция активности сперматозоидов с митохондриальной дисфункцией. Коэффициент корреляции между этими показателями составил $r = -0,24$. Имеется высокая взаимосвязь встречаемости аномальных сперматозоидов с дисфункцией митохондрии, корреляционная зависимость составляет $r = 0,77$. Индекс фрагментации яДНК в зависимости от индивидуальной особенности особей и

технологических процедур, используемых при криоконсервации и разделении по полу, варьировал 0 до 25%.

Keywords: chromatin, sperm cell, mitochondria, nuclear DNA, mitochondrial DNA, DNA fragmentation index, sperm activity, sperm morphology.

One of the most important indicators of management efficiency of cattle breeding industry, particularly dairy cattle breeding, is the level of herd reproduction. Artificial insemination is widely used in dairy cattle breeding; one bull's semen may be used to inseminate thousands, and sometimes tens of thousands of cows and heifers. The use of an assisted reproductive technology enables to accelerate genetic progress and improve performance indices. Large-scale breeding requires reliable evaluation of bull quality including reproductive performance indices. Male fertility depends on numerous biotic and abiotic indices; their study, evaluation and adjustment are of great fundamental and applied importance. The research goal was to study the relationship between the ultra-structural elements of sperm and fertility. The research objectives were as following: to make advanced analysis of the frozen-melted semen of servicing bulls; to study mitochondrial dysfunction in sperm cells; to examine the relationship of mitochondrial dysfunction with sperm activity and morphology. It has been found that there is a negative correlation of sperm activity and mitochondrial dysfunction. The correlation coefficient between these indices amounted to $r = -0.24$. There is a high correlation of occurrence of abnormal sperm cells with dysfunction of mitochondria; the correlation amounts to $r = 0.77$. The sperm nDNA fragmentation index, depending on the individual characteristics of individuals and on the technological procedures used for cryopreservation and the division by sex, ranged from 0 to 25%.

Иолчиев Байлар Садрадинович, д.б.н., вед. н.с., лаб. репродуктивной криобиологии, Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста. E-mail: baylar2@mail.ru.

Iolchiyev Baylar Sadraddinovich, Dr. Bio. Sci., Leading Staff Scientist, Reproductive Cryobiology Lab., Federal Scientific Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, Moscow Region. E-mail: baylar2@mail.ru.

Борунова Сеидфатима Мировна, к.б.н., зав. отделом, ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов», г. Москва. E-mail: fatima.borunova@mail.ru.

Бадмаев Очир Эрдниевич, м.н.с., ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов», г. Москва. E-mail: ochir-badmaev@mail.ru.

Иолчиев Рустам Байларович, студент, Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова. E-mail: rust1906@yandex.ru.

Таджиева Анна Валиевна, к.с.-х.н., доцент, каф. общественного здоровья, здравоохранения и гигиены, Российский университет дружбы народов, г. Москва. E-mail: anna74@list.ru.

Borunova Seidfatima Mirovna, Cand. Bio. Sci., Head of Division, All-Russian State Center for Quality and Standardization of Veterinary Drugs and Feed, Moscow. E-mail: fatima.borunova@mail.ru.

Badmayev Ochir Erdniyevich, Junior Staff Scientist, All-Russian State Center for Quality and Standardization of Veterinary Drugs and Feed, Moscow. E-mail: ochir-badmaev@mail.ru.

Iolchiyev Rustam Baylarovich, student, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov. E-mail: rust1906@yandex.ru.

Tadzhieva Anna Valiyevna, Cand. Agr. Sci., Assoc. Prof., Peoples' Friendship University of Russia, Moscow. E-mail: anna74@list.ru.

Введение

Репродуктивные показатели являются одним из важнейших индикаторов воспроизводства. Для получения потомства необходимо слияние родительских гамет, нормальное развитие и рождение плода. Слияние гамет зависит от многочисленных факторов, в том числе от биологической полноценности родительских гамет. Следовательно, причиной бесплодия может быть как женский, так и мужской фактор (доля влияния каждого из них составляет 50%). Для решения вопросов, связанных с репродуктивной биологией, требуется глубокое изучение генеративных клеток, в том числе и их ультраструктурных элементов: строение, физиология, патология, генетика и другие биологические показатели.

Использование вспомогательной репродуктивной технологии находит широкое применение не только в медицине, но и в других отраслях. Отдельные элементы вспомогательной репродуктивной технологии являются важнейшим составляющим для животноводства и сохранения биоресурсов. В скотоводстве, особенно в молочном, широко используется вспомогательная репродуктивная технология: криоконсервация семени, искусственное осеменение, разделение семени по полу. Внедрение данных технологий позволяет семенем одного производителя осеменять тысячи коров и телок. Использование низкокачественного семени может привести к экономической потере [1-3].

В репродуктивной биологии достигнуты большие успехи, несмотря на это существует много нерешенных проблем. С использованием существующих методов и протоколов не всегда удается диагностировать мужское бесплодие, это называется идиопатическим бесплодием [3-5].

Исследования по изучению влияния различных факторов на фертильность самцов свидетельствуют о взаимосвязи функционального состояния митохондрии сперматозоидов с репродуктивными показателями.

Значение митохондрии и ее генома в репродуктивном процессе до недавнего времени игнорировалось, а исследования последних лет подтверждают ее значительную роль в фертильности [6].

Движение сперматозоидов требует большого количества энергии, а ее вырабатывают митохондрии в виде АТФ, следовательно, биоэнергетическая функция митохондрий имеет решающее значение для двигательной активности сперматозоидов, которая является одним из основных показателей, характеризующих фертильность самцов [7, 8].

Митохондриальная ДНК отличается выраженной нестабильностью и мутабельностью. Мутации мтДНК возможны на разных стадиях сперматогенеза. Отличительной особенностью мтДНК является отсутствие интронных последовательностей во всех генах. Митохондриальная ДНК в отличие от ядерной ДНК быстро реплицируется, при этом отсутствуют эффективное проверочное считывание и механизм репарации. Высокое содержание оксидантов в ее окружении приводит к мутациям в мтДНК с частотой в 10-20 раз большей, чем в ядерной ДНК.

При репликации образуется трехнитчатая мтДНК (промежуточное звено), которая очень восприимчива к делециям [9, 10]. Точечные мутации и делеция фрагментов мтДНК приводят к патологии митохондриальной дыхательной дисфункции, что является одной из причин пато-

спермий [11-13]. Исследования ультраструктур сперматозоидов показывают, что мутация мтДНК, а также другие повреждения митохондрий сперматозоидов сопровождаются снижением их активности [14, 15]. В сперматозоидах с нарушенной моторикой содержание копий мтДНК на клетку больше, чем в сперматозоидах с прямолинейным прогрессивным поступательным движением.

Целью исследования явилось изучение взаимосвязи функционального состояния митохондрии сперматозоидов с репродуктивными показателями.

В соответствии с поставленной целью были определены следующие **задачи**:

- провести расширенную спермограмму замороженно-оттаянной спермы быков-производителей;
- изучить митохондриальную дисфункцию в сперматозоидах;
- изучить взаимосвязь митохондриальной дисфункции сперматозоидов с их активностью и морфологией.

Материалы и методы

Исследования проводили в лаборатории отдела по контролю качества и стандартизации генетического материала и препаратов, применяемых при воспроизводстве животных ФГБУ «ВГНКИ» и в лаборатории репродуктивной криобиологии ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста». Материалом для исследования служили замороженно-оттаянные образцы спермопродукции быков-производителей разной породы (n=57), в том числе и сексированное семя. Для изучения биологической полноценности сперматозоидов в исследуемых образцах проводили расширенную спермограмму. Подвижность, концентрацию и морфологию определяли с помощью пакета программы «Зоосперм» и «Andro Vision®».

Состояние ДНК в сперматозоидах изучали методом акридин-оранжевого теста (АО-тест) с использованием флуоресцентного микроскопа, оснащенного кубом флуоресцентных фильтров GFP-LEX460-500 DM 505BA510 с окуляром 15x и объективом 20x, 40x, 100x [15, 16].

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ MSOffice Excel.

Результаты

Активность сперматозоидов считается косвенным показателем их фертильности. Одним из биотических факторов, влияющих на подвижность сперматозоидов, является функциональный статус митохондрий. Результаты анализа корреляционной взаимосвязи показывает, что существует отрицательная корреляция активности сперматозоидов и митохондриальной дисфункции. Коэффициент корреляции между этими показателями составил $r=-0,24$. Имеется высокая взаимосвязь встречаемости аномальных сперматозоидов с дисфункцией митохондрий, корреляционная зависимость составляет $r=0,77$. В исследуемых образцах с высокой частотой встречаемости митохондриальной дисфункции доля сперматозоидов с аномальной морфологией также была выше, чем в среднем в исследуемых образцах. Аномальная морфология особенно часто встречалась в строении жгутика и средней части сперматозоидов (рис. 1). Изучали состояние ядерного ДНК в хроматине. Индекс фрагментации яДНК в хроматине варьировал от 0 до 25% в зависимости от индивидуальной особенности особей и технологических процедур при криоконсервации и разделении по полу.

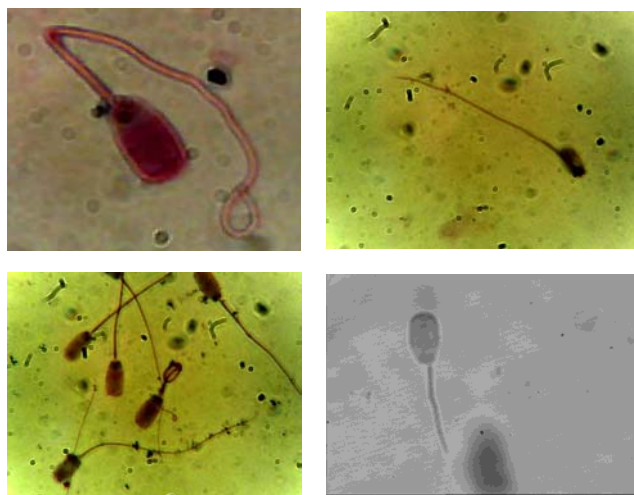


Рис. 1. Сперматозоиды с аномальной морфологией

Частота встречаемости сперматозоидов с аномальной морфологией варьировала от 4,34 до 100% (рис. 2).

Коэффициент вариации в исследуемых биопробах составил 77%, что свидетельствует о высокой изменчивости этого показателя в зависимости от различных факторов (рис. 2).

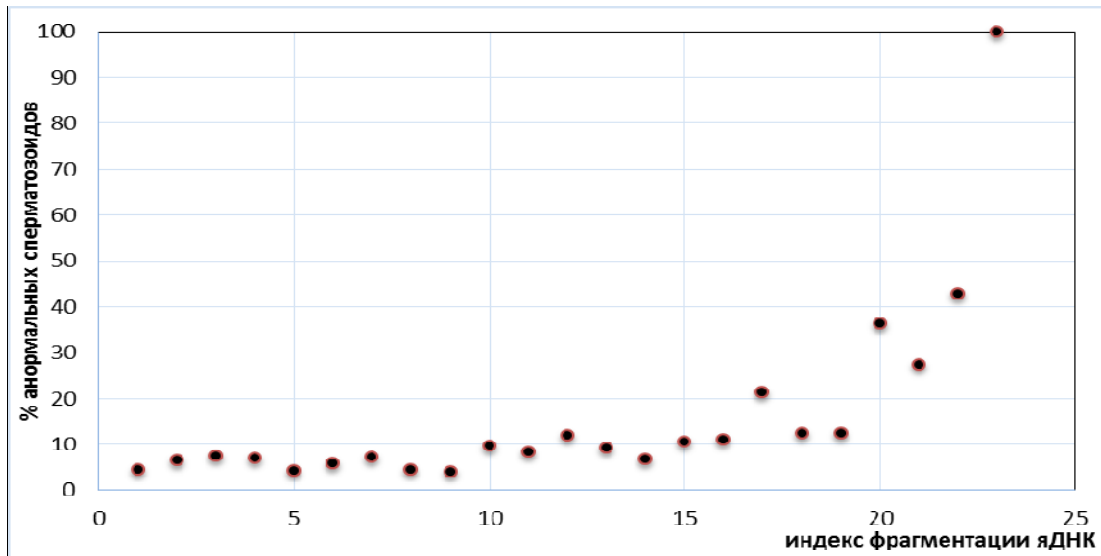


Рис. 2. Частота встречаемости сперматозоидов с аномальной морфологией

Заключение

Таким образом, расширенная спермограмма образцов замороженно-оттаяной спермы быков-производителей и анализ корреляционной зависимости между отдельными параметрами показали тесную взаимосвязь структуры митохондриальной и ядерной ДНК с биологической полноценностью сперматозоидов. Нарушения в структуре мтДНК отрицательно коррелирует с активностью сперматозоидов, коэффициент корреляции между этими показателями составил $r=-0,24$. Содержание сперматозоидов с аномальной морфологией, особенно с аномалией жгутика, имеет тесную взаимосвязь с нарушением мтДНК. Корреляционная зависимость между этими показателями составляет $r=0,77$.

Библиографический список

1. Некрасов А.А., Попов Н.А., Иолчиев Б.С. Влияние биологической полноценности спермы быков-производителей канадской селекции на репродуктивные показатели коров отдельного стада // *Аграрная Россия*. – 2017. – № 2. – С. 18-21.
2. Багиров В.А., Кононов В.П., Иолчиев Б.С., Кленовицкий П.М., Эрнст Л.К. Фертильность сперматозоидов и состояние хроматина: методы контроля (обзор) // *Сельскохозяйственная биология*. – 2012. – № 2. – С. 3-13.
3. Flowers W.L. Triennial Reproduction Symposium: sperm characteristics that limit success of fertilization // *J. Anim. Sci.* – 2013. – Vol. 91 (7). – P. 3022-3029.
4. Иолчиев Б.С., Кленовицкий П.М., Багиров В.А., Кононов В.П., Насибов Ш.Н., Воеводин В.А. Компьютерная технология для оценки семени животных // *Достижения науки и техники АПК*. – 2011. – № 9. – С. 54-56.
5. Benchaib M., Braun V., Lornage J., et al. Sperm DNA fragmentation decreases the pregnancy rate in an assisted reproductive technique // *Hum. Reprod.* – 2003. – Vol. 18 (5). – P. 1023-1028.
6. Alcivar A.A., Hake L.E., Millette C.F., Transler J.M., Hecht N.B. Human mtDNA haplogroups associated with high or reduced spermatozoa motility // *Am. J. Hum. Genet.* – 2000. – Vol. 67. – P. 682-696.
7. Scatena R., Bottoni P., Giardina B. *Advances in Mitochondrial Medicine*. – Springer Netherlands. – 2012. – 461 p.
8. Kumar D.P., Sangeetha N. Mitochondrial DNA mutations and male infertility // *Indian J. Hum. Genet.* – 2009. – Vol. 15 (3). – P. 93-97.
9. Shamsi M.B., et al. Mitochondrial DNA mutations in etiopathogenesis of male infertility // *Indian Journal of Urology*. – 2008. – Vol. 24 (2). – P. 150-154.
10. Shu-Huei Kao, Hsiang-Tai Chao, Yau-Huei Wei. Mitochondrial deoxyribonucleic acid 4977-bp deletion is associated with diminished fertility and motility of human sperm // *Biology of Reproduction*. – 1995. – Vol. 52 (4). – P. 729-736.
11. Кидун К.А., Угольник Т.С. Митохондриальная дисфункция сперматозоидов в патогенезе патоспермий при окислительном стрессе (обзор литературы) // *Проблемы здоровья и экологии*. – 2013. – № 2 (36). – С. 20-24.
12. Amaral A., Lourenço B., Marques M., João R.-S. Mitochondria functionality and sperm quality // *Reproduction*. – 2013. – Oct 1;146(5):R163-174.
13. St John J.C., Jokhi R.P. & Barratt C.L. The impact of mitochondrial genetics on male infertility // *International Journal of Andrology*. – 2005. – № 28. – P. 65-73.
14. Pelliccione F., Micillo A., Cordeschi G. et al. Altered ultrastructure of mitochondrial membranes is strongly associated with unexplained asthenozoospermia // *J. Fertility and Sterility*. – 2011. – № 2. – V. 95. – P. 641-646.

15. Борунова С.М., Иолчиев Б.С., Бадмаев О.Э., Тумилович Я.И., Иолчиев Р.Б., Рибченко А.С. Астенозооспермия у быков-производителей // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2017. – № 11. – С. 57-64.

16. Иолчиев Б.С., Багиров В.А., Кленовицкий П.М., Кононов В.П., Таджиева А.В. Индекс фрагментации ДНК хроматина в сперматозоидах при оценке качества семени у быков-производителей // Сельскохозяйственная биология. – 2012. – № 4. – С. 31-35.

References

1. Nekrasov A.A., Popov N.A., Iolchiev B.S. Vliyaniye biologicheskoy polnotsennosti spermy bykov-proizvoditeley kanadskoy seleksii na reproduktivnye pokazateli korov otdelogo stada // Agrarnaya Rossiya. – 2017. – № 2. – С. 18-21.

2. Bagirov V.A., Kononov V.P., Iolchiev B.S., Klenovitskiy P.M., Ernst L.K. Fertilitnost spermatozoidov i sostoyaniye khromatina: metody kontrolya (obzor) // Selskokhozyaystvennaya biologiya. – 2012. – № 2. – С. 3-13.

3. Flowers W.L. Triennial Reproduction Symposium: sperm characteristics that limit success of fertilization // J. Anim. Sci. – 2013. – Vol. 91 (7). – P. 3022-3029.

4. Iolchiev B.S., Klenovitskiy P.M., Bagirov V.A., Kononov V.P., Nasibov Sh.N., Voevodin V.A. Kompyuternaya tekhnologiya dlya otsenki semeni zhivotnykh // Dostizheniya nauki i tekhniki APK. – 2011. – № 9. – С. 54-56.

5. Benchaib M., Braun V., Lornage J., et al. Sperm DNA fragmentation decreases the pregnancy rate in an assisted reproductive technique // Hum. Reprod. – 2003. – Vol. 18 (5). – P. 1023-1028.

6. Alcivar A.A., Hake L.E., Millette C.F., Transler J.M., Hecht N.B. Human mtDNA haplogroups associated with high or reduced spermatozoa motility // Am. J. Hum. Genet. – 2000. – Vol. 67. – P. 682-696.

7. Scatena R., Bottoni P., Giardina B. Advances in Mitochondrial Medicine. – Springer Netherlands. – 2012. – 461 p.

8. Kumar D.P., Sangeetha N. Mitochondrial DNA mutations and male infertility // Indian J. Hum. Genet. – 2009. – Vol. 15 (3). – P. 93-97.

9. Shamsi M.B., et al. Mitochondrial DNA mutations in etiopathogenesis of male infertility // Indian Journal of Urology. – 2008. – Vol. 24 (2). – P. 150-154.

10. Shu-Huei Kao, Hsiang-Tai Chao, Yau-Huei Wei. Mitochondrial deoxyribonucleic acid 4977-bp deletion is associated with diminished fertility and motility of human sperm // Biology of Reproduction. – 1995. – Vol. 52 (4). – P. 729-736.

11. Kidun K.A. Ugolnik T.S. Mitokhondrialnaya disfunktsiya spermatozoidov v patogeneze patospermii pri okislitel'nom stresse (obzor literatury) // Problemy zdorovya i ekologii. – 2013. – № 2 (36). – С. 20-24.

12. Amaral A., Lourenco B., Marques M., Ramalho-Santos J. Mitochondria functionality and sperm quality // Reproduction. – 2013. – Vol. 146 (5). – P. 163-174.

13. St. John J.C., Jokhi R.P., Barratt C.L. The impact of mitochondrial genetics on male infertility // Int. J. Androl. – 2005. – Vol. 28 (2). – P. 65-73.

14. Pelliccione F., Micillo A., Cordeschi G., et al. Altered ultrastructure of mitochondrial membranes is strongly associated with unexplained asthenozoospermia // J. Fertility and Sterility. – 2011. – Vol. 95 (2). – P. 641-646.

15. Borunova S.M., Iolchiev B.S., Badmaev O.E., Tumulovich Ya.I., Iolchiev P.B., Ribchenko A.S. Astenozoospermia u bykov-proizvoditeley // Veterinariya, zootekhnika i biotekhnologiya. – 2017. – № 11. – С. 57-64.

16. Iolchiev B.S., Bagirov V.A., Klenovitskiy P.M., Kononov V.P., Tadzhieva A.V. Indeks fragmentatsii DNK khromatina v spermatozoidakh pri otsenke kachestva semeni u bykov-proizvoditeley // Selskokhozyaystvennaya biologiya. – 2012. – № 4. – С. 31-35.



УДК 636.4.082

И.Ф. Горлов, А.А. Мосолов, В.А. Бараников
I.F. Gorlov, A.A. Mosolov, V.A. Baranikov

КАЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЯСНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ СВИНЕЙ, ПОЛУЧАВШИХ НОВЫЕ АНТИСТРЕССОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ

QUALITY INDICES OF PORK PRODUCTIVITY OF PIGS WHICH RECEIVED NEW ANTI-STRESS DRUGS

Ключевые слова: кормление свиней, антистрессовые препараты, мясная продуктивность, убойные показатели, качество мяса.

Keywords: pig nutrition, anti-stress drugs, pork production, slaughter indices, meat quality.