

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

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**

Дисертація на здобуття наукового ступеня  
кандидата сільськогосподарських наук

Науковий керівник

**Цехмістренко Світлана Іванівна**

доктор сільськогосподарських наук,  
професор

**Біла Церква – 2015**

## ЗМІСТ

<b>ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ .....</b>	<b>4</b>
<b>ВСТУП .....</b>	<b>5</b>
<b>РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ .....</b>	<b>10</b>
1.1. Обмін ліпідів у організмі тварин.....	10
1.2. Енергетичний обмін та його значення.....	20
1.3. Фізіологічна роль L-карнітину і застосування його в тваринництві та медицині.....	24
1.4. Особливості хімічного складу та обміну речовин у спермі різних видів тварин .....	29
<b>РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....</b>	<b>36</b>
2.1. Матеріали досліджень .....	36
2.2. Методи досліджень .....	38
<b>РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....</b>	<b>45</b>
3.1. Вміст ліпідів та їх фракцій у спермі та крові бугаїв за згодовування L-карнітину .....	45
3.2. Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у спермі та крові бугаїв за згодовування L-карнітину .....	63
3.3. Активність ензимів дихального ланцюга мітохондрій та інтенсивність споживання кисню спермою .....	75
3.4. Гематологічні та біохімічні показники крові бугаїв .....	79
3.5. Фізіологічні показники якості сперми бугаїв .....	84
3.6. Вплив додавання L-карнітину до розріджувача сперми на її фізіолого-біохімічні показники .....	90
3.7. Економічна ефективність застосування L-карнітину в складі раціону та розріджувача сперми бугаїв.....	97
<b>РОЗДІЛ 4 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ     ДОСЛІДЖЕНЬ .....</b>	<b>100</b>

<b>ВИСНОВКИ</b> .....	124
<b>ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ</b> .....	127
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b> .....	128
<b>ДОДАТКИ</b> .....	157

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АСТ – аспартатамінотрансфераза

АОС – антиоксидантна система

АТФ – аденозинтрифосфорна кислота

АФО – активні форми Оксигену

ГПЛ – гідропероксили ліпідів

ГПО – глутатіонпероксидаза

ДАГ – діацилгліцероли

ДК – дієнові кон'югати

ЕХЛ – естери холестеролу

ЖК – жирні кислоти

КАТ – каталаза

КЛ – кардіоліпін

ЛФХ – лізофосфатидилхолін

НЕЖК – неестерифіковані жирні кислоти

ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів

СДГ – сукцинатдегідрогеназа

СОД – супероксиддисмутаза

СФМ – сфінгомієлін

ТАГ – триацилгліцероли

ТБК-активні продукти – продукти, що реагують із тіобарбітуровою кислотою

ФЕА – фосфатидилетаноламін

ФІ – фосфатидилінозитол

ФЛ – фосфоліпіди

ФС – фосфатидилсерин

ФХ – фосфатидилхолін

ХЛ – холестерол

ЦТК – цикл трикарбонових кислот

ЦХО – цитохромоксидаза

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Енергетичний обмін – основна ланка функціонування всіх живих організмів [24, 98]. Джерелом енергії є метаболіти вуглеводного, ліпідного та білкового походження. Шляхи їх перетворення енергетично нерівноцінні [71, 166].

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 [35, 41, 48, 69, 81, 117, 152, 158, 165].

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 [96, 116, 161, 183, 262, 274]. 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 [17, 54, 123, 162, 164].

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 ( $\beta$ -гідрокси- $\gamma$ -триметил-бутиробетайн), вітаміноподібна речовина, джерело ацильних груп, які залежно від потреб клітин переносяться через мітохондріальну мембрану, регулюючи таким чином синтез АТФ [21, 216]. L-карнітин приймає участь у біохімічних реакціях синтезу та деградації жирних кислот, стероїдів, фосфоліпідів, у процесах трансметилування, дезінтоксикації органічних кислот і ксенобіотиків, стимулює біосинтез білка [88, 216]. Згідно з численними клінічними дослідженнями [25, 70, 170, 180, 186, 187, 215, 275, 280], L-карнітин збільшує рухливість та концентрацію сперміїв, кількість сперми і, що головне, вірогідність запліднення. 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.

Проведені дослідження на різних видах сільськогосподарських тварин і птиці свідчать, що введення L-карнітину до раціону оптимізує ліпідний, білковий та вуглеводний обміни, проявляє стимулюючий вплив на ріст, розвиток та продуктивність [9, 10, 13, 20, 30, 37, 76, 135, 170, 244].

У літературі ще недостатньо висвітлені закономірності змін показників енергетичного та ліпідного обміну й антиоксидантної системи (АОС). Вивчення механізмів взаємовпливу енергетичних, пероксидних і електрон-транспортних 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 – сельському господарству» (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-практичній рекомендації та 2 патенти на корисну модель.

## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Обмін ліпідів у організмі тварин

Ліпіди за хімічною структурою є естерами високомолекулярних жирних кислот і спиртів (гліцеролу, сфінгозину, холестеролу та ін.) [59]. У складі багатьох із них виявлено також залишки фосфатної і сульфатної кислот, азотовмісних основ (коламіну, холіну) та вуглеводів [71]. Ліпіди в організмі тварин представлені широким спектром гідрофобних сполук, які відіграють ключову роль у формуванні зовнішніх і внутрішніх мембран клітин, активно впливають на процеси транспорту речовин та необхідні для систем, які генерують енергію для клітин і організму в цілому [148, 200]. Ліпіди становлять структурну основу й забезпечують функціонування клітинних мембран, виконують захисну й регуляторну функції [12, 127], являються формою, в якій депонуються запаси метаболічної енергії та розчиняються жиророзчинні вітаміни. До структурних ліпідів відносять фосфоліпіди, холестерол, сфінголіпіди, гліколіпіди, до резервних – триацилгліцероли [133].

Загальні ліпіди тканин організму об'єднують вільні (неестерифіковані) жирні кислоти, триацилгліцероли, діацилгліцероли, фосфоліпіди, холестерол та його естери із жирними кислотами [88, 192]. Печінка бере активну участь у різноспрямованому перетворенні ліпідів і відіграє головну роль як у проміжному обміні, так в гомеостазі цих сполук в організмі тварин [87].

На загальний вміст ліпідів і співвідношення між окремими їх класами в тканинах суттєво впливають вік та фізіологічний стан організму, а характер змін вмісту ліпідів у крові відображає тенденцію їх змін у тканинах. Так, за несприятливих чинників, стійкість мембран пов'язують з якісними і кількісними змінами у їх складі триацилгліцеролів (ТАГ), діацилгліцеролів (ДАГ), неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК), холестеролу (ХЛ), моноацилгліцеролів та фосфоліпідів [95]. Виявлено зменшення вмісту загальних ліпідів у тканинах за різних видів стресу. Збільшення кількості загальних ліпідів свідчить

про активацію анаболічних процесів і мобілізацію ліпідів як джерела енергії або ж про їх використання в адаптивних перебудовах метаболізму і структурних компонентах клітин [97, 108, 127]. Тому, окрім дослідження загальних ліпідів у тканинах тварин інформативним є визначення окремих їх класів.

*Триацилгліцероли* – це естери триатомного спирту гліцеролу і жирних кислот, що є найпоширенішою формою нейтральних ліпідів [3]. В організмі тварин триацилгліцероли накопичуються в жировій тканині та виконують енергетичну функцію [95]. Накопичення ТАГ є типовою реакцією на дію токсикантів, при чому активуються ліпази та фосфоліпази [101], тому поряд із зростанням рівня ТАГ спостерігається збільшення вмісту ДАГ і НЕЖК. Значне зростання кількості неестерифікованих жирних кислот свідчить про формування катаболічного стрес-синдрому в умовах інтоксикації.

*Жирні кислоти (ЖК)* є основними гідрофобними компонентами більшості класів ліпідів і одним із важливих факторів регуляції проникності мембран. ЖК впливають на властивості фосфоліпідів [33], білок-ліпідні та ліпід-ліпідні взаємодії, а також на функціонування мембранозв'язаних ферментів [57, 68, 144]. Кількість атомів Карбону, ступінь насиченості жирних кислот, що входять до складу природних ліпідів зумовлюють їх консистенцію та поверхневу активність, зокрема, здатність до утворення комплексів з білками і відповідно формування міцел, бішарів, транспортних ліпопротеїдів, ліпідного матриксу біологічних мембран [59].

Концентрація ЖК у крові пов'язана з енергозабезпеченістю організму та характеризує активність процесів ліполізу, мобілізації їх із жирових депо [272]. В організмі ЖК знаходяться частково у вільному, тобто неестерифікованому стані [95], вони є найбільш лабільними компонентами ліпідних молекул, які реагують на можливі впливи і забезпечують адаптивні можливості організму [33, 57, 77, 93, 196]. Вважають [133], що регулювання жирнокислотного складу клітинних мембран відбувається за рахунок вільнорадикальної атаки, де мішенню є арахідонова кислота, що, своєю чергою, стимулює ензиматичне перетворення її за одним із метаболічних

шляхів – ліпоксигеназному або циклооксигеназному, в результаті чого утворюються простагландини, лейкотрієни і тромбоксани, а лізофосфоліпіди, утворені при відщепленні модифікованих жирних кислот, відновлюються з використанням іншої жирної кислоти (у формі ацил-КоА).

Метаболічні шляхи перетворення ЖК пов'язані, з одного боку, з їх естерифікацією та синтезом триацилгліцеролів, внаслідок чого вони накопичуються в цитозолі. З іншого боку, ЖК можуть окиснюватися в пероксисомах та мітохондріях з виділенням вільної енергії. Порушення регуляції розподілу ЖК між метаболічними шляхами може призводити до надмірної акумуляції триацилгліцеролів у печінці та розвитку кетозу. Основним способом видалення надлишку жиру з печінки є стимуляція окиснення ЖК. Для цього довголанцюгові естери ЖК і КоА транспортуються до мітохондрій за допомогою складного карнітинзалежного процесу [227].

*Фосфоліпіди (ФЛ)* – складні естери багатоатомного спирту гліцеролу або сфінгозину з вищими жирними кислотами і фосфатною кислотою. До складу ФЛ входять також азотовмісні сполуки – холін, етаноламін або серин [71, 88].

ФЛ відіграють важливу роль у структурі та функції клітинних мембран, формуванні поверхневого потенціалу клітин, регулюванні активності ензимів та клітинної проліферації, мають рецепторну та імунорегулюючу функцію, беруть участь у функціонуванні дихального ланцюга мітохондрій [1, 2]. ФЛ є неполярним середовищем для жиророзчинних субстратів і кофакторів ензимів, забезпечують відповідну орієнтацію білків у клітинній мембрані, виступають у ролі регуляторів та модуляторів ензиматичної активності, беруть участь у сигнальній трансдукції, екзо- та ендоцитозі, у фіксації білків у фосфоліпідному бішарі [222, 266]. У клітинах різних тканин основними ліпідними компонентами біологічних мембран усіх ссавців є такі фосфоліпіди: фосфатидилхолін, фосфатидилінозит, фосфатидилетаноламін, фосфатидилсерин, сфінгомієлін [89]. Відомо [72], що обмін та відновлення жирнокислотного складу фосфоліпідів мембран залежить від доступності довголанцюгового ацил-КоА. В цьому відношенні визначальною є роль L-

карнітину: постачання ацильних залишків без витрати АТФ та підтримка клітинного вмісту КоА на необхідному рівні.

Фосфоліпідний склад біомембран є важливою структурно-функціональною характеристикою в будь-яких клітинах, в т.ч. сперміїв [33]. Співвідношення окремих підкласів ФЛ, ступінь насиченості ЖК визначають в'язкість ліпідного бішару мембран, впливають на впорядкованість ліпідних молекул, а також характер ліпід-ліпідних і білок-ліпідних взаємодій [222], що суттєво впливає на фізико-хімічні властивості, проникність та лабільність мембран [141, 266]. Встановлено [151], що причиною зниження рухливості сперміїв є структурні зміни фосфоліпідного складу статевих клітин. Синтез ФЛ здійснюється майже у всіх тканинах, проте головним джерелом фосфоліпідів плазми є печінка [77, 86, 88].

*Фосфатидилхолін* (ФХ, лецитин) – один із найпоширеніших фосфоліпідів, найбільше його міститься у плазматичній мембрані [230]. У тваринному організмі ФХ виконує структурну та метаболічну функцію [278] і разом з іншими фосфоліпідами забезпечує вибірккову проникність та транспортну функцію клітинних мембран, бере участь в активації ряду мембранних ензимів, у регуляції об'єму клітин та в сигнальних процесах [188]. Дефіцит ФХ стимулює апоптоз клітин [188]. Показано, що ФХ знижує кріопорушення клітинної мембрани сперміїв з відновленням їх функцій [207]. Присутність ФХ необхідна сперміям для досягнення нормальної рухливості [209] та забезпечення акросомної реакції [188].

*Фосфатидилетаноламін* (ФЕА) метаболічно тісно пов'язаний з ФХ. Він є одним із головних структурно-функціональних компонентів біологічних мембран [86].

*Лізофосфатидилхолін* (ЛФХ) – фізіологічно активний фосфоліпід, продукт метаболізму фосфатидилхоліну, роль якого пов'язують із патологічним станом клітини [31, 126]. У сироватці крові ЛФХ утворюється за участі секретованого з печінки ферменту лецитин-холестерол-ацилтрансферази та є патологічним фосфоліпідом ліпопротеїдів низької щільності [126]. ЛФХ збільшує вміст клітинного  $\text{Ca}^{2+}$  та сприяє відкриттю натрієвих каналів [1, 218], зменшує чутливість серця до дії ацетилхоліну [144]. За дії стрес-факторів та

патогенних чинників спостерігається збільшення вмісту ЛФХ у внутрішніх органах [144] та крові [31]. Зміни у складі мембран одного лише лізофосфатидилхоліну здатні модифікувати трансмембранне передавання інформації, обмін білків і нуклеїнових кислот, впливати на хід процесів злиття спермій та яйцеклітин [126].

*Сфінгомієлін* (СФМ) містить високомолекулярний ненасичений аміноспирт сфінгозин, карбонову і фосфатну кислоти та холін. Відомо, що метаболіти біосинтезу СФМ беруть участь в якості вторинних месенджерів у багатьох клітинних процесах, а також при стресових впливах оточуючого середовища.

*Фосфатидилсерин* (ФС) – головний компонент ліпідів мозку та еритроцитів. Незначна його кількість виявлена в інших тканинах тварин, рослин і бактеріях. У плазматичній мембрані й ендоплазматичному ретикулумі вміст фосфатидилсерину становить – 10–20 %. ФС відіграє важливу роль у життєдіяльності клітин, є регулятором низки мембранозв'язаних ензимів [1].

*Фосфатидилінозитол* (ФІ) – складний естер, утворений гліцеролом, вищими жирними кислотами, фосфатною кислотою та шестиатомним спиртом інозитом [191]. ФІ залучається у процесі сигнальної трансдукції та є джерелом таких важливих месенджерів, як діацилгліцерол, інозитолфосфати та арахідонова кислота [175] і відіграє важливу роль у контролі мембранно-цитозольних процесів, регуляції проникності мембран та забезпеченні внутрішньоядерних процесів [191]. Найбільше ФІ у мозку, проте в інших органах він присутній у меншій кількості, порівняно із фосфатидилхоліном, фосфатидилетаноламіном [258].

*Кардіоліпін* (КЛ) – головний компонент фосфоліпідів мітохондрій. За гідролізу КЛ фосфоліпазою D утворюється фосфатна кислота та фосфатидилгліцерол [255].

*Холестерол* (ХЛ) належить до групи стероїдів і є одним із найважливіших ліпідних компонентів клітин організму. Він є джерелом утворення жовчних кислот, статевих і надниркових стероїдних гормонів (тестостерону, естрадіолу, кортизону тощо) [141, 260]. ХЛ в організмі міститься у двох формах: вільній та естерифікованій. Вільний ХЛ входить до складу клітинних мембран і поряд із фосфоліпідами забезпечує їх ультраструктуру, регулює проникність, впливає на мікров'язкість і

молекулярну рухливість ліпідів мембран [77]. Інформативним функціональним показником стану клітинних мембран є співвідношення холестерол/фосфоліпиди, від величини якого залежить щільність упаковки ліпідних молекул, плинність і фазовий стан мембран [133], що є визначальним для активації регуляторних реакцій, які, в кінцевому підсумку, забезпечують виживання клітин [226].

ХЛ суттєво впливає на хід процесів обміну речовин у клітинах шляхом регуляції активності мембрано-зв'язаних білків та ступеня проникності мембран для води, кисню та інших низькомолекулярних сполук [99]. Зміни його вмісту у ліпідному бішарі позначаються на процесах дихання клітин, синтезу макроергів (зокрема АТФ) та інтенсивності енергообміну [104]. Незначне зменшення кількості ХЛ супроводжується збільшенням розрідженості клітинних ліпідів та їх вибіркової проникності, збільшенням катіонної проникності мембран, активуванням більшості ліполітичних ферментів, а збільшення – зменшує проникність біологічних мембран, знижує рухливість жирнокислотних молекул у фосфоліпідах [101], інгібує активність АТФ-ази [88]. Накопичення у клітині неестерифікованого холестеролу викликає зміни активності низки ензимів, внаслідок чого збільшується швидкість реестерифікації ХЛ та пригнічується синтез окремих рецепторів на поверхні клітин [257].

Наднирники і статеві залози за нормального рівня ліпопротеїдів у крові використовують для біосинтезу стероїдних гормонів холестерол плазматичного походження, накопичують його у виді естерів [189, 221]. Своєю чергою, утворення естерів холестеролу представляє собою один із шляхів виведення із метаболічних перетворень надлишку НЕЖК [243].

З ліпідним обміном тісно пов'язане пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ), яке призводить до утворення продуктів ліпопероксидації, здатних, за підвищення їх рівня, руйнувати мембрани і органели клітин та біополімери (білки, нуклеїнові кислоти), що викликає в організмі ряд патологій і внутрішньоклітинних дисфункцій [92, 124]. ПОЛ відображає універсальну відповідь клітин на ендогенні чи екзогенні стресові чинники [5, 170].

ПОЛ – це процес, що фізіологічно відбувається у всіх біологічних системах організму, в основі якого лежить контакт активних форм Оксигену (АФО) з легкоокиснюваними сполуками (ненасиченими ЖК) фосфоліпідів клітинних мембран та ліпопротеїдів.

АФО є радикальними і нерадикальними продуктами неповного відновлення кисню, що функціонують як медіатори редокс-сигналювання і оксидативного стресу, залежно від їх рівня в різних субклітинних компартментах. На сьогодні нагромаджено величезний масив даних, які свідчать на користь функціонування АФО як «вторинних посередників» у регулюванні внутрішньоклітинних сигнальних каскадів, залучених до контролю росту, проліферації, апоптозу, міграції та інвазії клітин [39] і за підвищеного їх утворення є основними ендogenous факторами порушення клітинного гомеостазу [5, 110]. При цьому, в тканинах утворюється висока концентрація недоокиснених продуктів, які здатні мігрувати від місця їх утворення на значні відстані та впливати на органи й клітини як безпосередньо, так і дистанційно, змінюючи активність низки ензимів [5, 69], регулюючи структуру та функції мембран [229]. АФО та продукти ПОЛ впливають на інтенсивність перебігу таких важливих біологічних процесів, як транспорт електронів у дихальному ланцюзі мітохондрій [227], проліферація та диференціації клітин, синтез біологічно активних речовин [128], окремих гормонів, фагоцитоз [3] та апоптоз [58, 139]. Існує думка, що незважаючи на свою неспецифічність, ступінь активації ПОЛ відображає можливість переходу адаптаційних змін мембран у патологічні [5].

Реакційноздатними формами Оксигену є супероксидний аніон-радикал ( $O_2^{\bullet-}$ ), гідропероксидний радикал ( $HO_2^{\bullet}$ ), гідроксильний радикал ( $OH^{\bullet}$ ), пероксид Гідрогену ( $H_2O_2$ ), двоокис нітрогену ( $NO_2^{\bullet}$ ), синглетний Оксиген ( $^1O_2$ ) [5, 210].

Реакції ПОЛ умовно поділяють на ряд стадій: ініціювання, розвитку та обриву ланцюга. Стадія ініціювання розпочинається з „вмикання” вільного радикалу (частіше радикал гідроксилу) до ліпідного бішару мембран або ліпопротеїдів та його взаємодії з поліненасиченими жирними кислотами,



внаслідок чого утворюються ліпідні радикали [5, 12]. Ліпідний радикал взаємодіє з молекулярним Оксигеном, що зумовлює виникнення ліпоперекисних радикалів. Останні, у свою чергу, атакують нові молекули фосфоліпідів з утворенням гідропероксидів ліпідів та нових ліпідних радикалів. Чергування двох останніх реакцій представляє собою ланцюгову реакцію пероксидного окиснення ліпідів. У присутності іонів  $Fe^{2+}$  ланцюгові реакції розгалужуються, що значно прискорює процеси ПОЛ. В остаточному підсумку ланцюг обривається за взаємодії радикалів із антиоксидантами або з іншими радикалами. Подальша трансформація ліпідних радикалів призводить до формування численних альдегідів, що є одним із чинників посилення постсинтетичних модифікацій протеїнів та ДНК [146]. Продукти ПОЛ здатні змінювати лабільність та проникність біомембран, метаболізм АТФ, викликати порушення електрон-транспортного ланцюга мітохондрій [139], змінювати активність ензимів, спричиняти інактивацію каталітичних центрів ферментативних комплексів, що містять сульфгідрильні групи, і, як наслідок, зумовлювати порушення структури біомембран та запускати процеси цитолізу [18, 146].

У патогенезі багатьох захворювань важливу роль відіграють процеси ПОЛ [8, 58, 163, 184, 201, 204, 250], інтенсивність яких у тканинах та біологічних рідинах оцінюють за вмістом гідропероксидів ліпідів, дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду (МДА) [7, 107, 132].

Захист клітин від деструктивної дії продуктів ПОЛ, а також підтримання окисного балансу в організмі тварин забезпечує багатокомпонентна система антиоксидантного захисту, що складається із двох ланок: ензимної та неензимної [7, 14, 36, 58, 112]. До ензимної ланки антиоксидантної системи захисту належать: супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза, глутатіон-S-трансфераза, глутатіонредуктаза, каталаза [40, 49, 53, 53, 112, 137].

*Супероксиддисмутаза* (СОД; КФ 1.15.1.1) каталізує утворення пероксиду Гідрогену та кисню із супероксидного радикалу шляхом його дисмутації [5, 224].

За участі СОД забезпечується інактивація АФО, що утворюються в ході реакцій переносу електронів, за гіпоксії та інших патогенних факторів, тому висока активність СОД свідчить про інтенсивну генерацію  $O_2^{\cdot-}$  [51, 266]. Активність СОД регулюється багатокomпонентною редокс-системою клітин за участі інтермедіатів окисно-відновного метаболізму, при чому індукція синтезу ензиму відбувається за збільшення концентрації донорів електронів, або пригнічується в разі накопичення у клітинах акцепторів [271].

Активність СОД у спермі та в окремих її компонентах проявляє зв'язок із фізіологічними характеристиками сперміїв (рухливістю, відсотком живих клітин і тривалістю виживання) [198]. Проте однозначні результати стосовно зв'язків між активністю вказаного ензиму та виживанням сперміїв відсутні. У спермі СОД підтримує баланс між супероксидом і пероксидом, однак високі концентрації цих метаболітів пов'язані зі сповільненням рухливості сперміїв [169].

*Каталаза* (КАТ; КФ 1.11.1.6,  $H_2O_2$ -оксидоредуктаза) – гомотетрамерний ензим, що складається з чотирьох ідентичних субодиниць, кожна з яких зв'язана з молекулою гему та НАДФН в його активному центрі, знаходиться переважно в пероксисомах більшості клітин ссавців, але виявляється і в мітохондріях, цитозолі та в позаклітинному просторі [254, 266]. Основна функція КАТ – розкладання пероксиду Гідрогену, що утворюється при дисмутації супероксидного аніон-радикалу [210]:  $2H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H_2O$ .

КАТ каталізує дві реакції, в залежності від концентрації  $H_2O_2$ . Якщо концентрація пероксиду висока, фермент відновлює  $H_2O_2$  до  $H_2O$  і  $O_2$  (каталазна реакція). Однак, за низьких концентрацій  $H_2O_2$  і в присутності відповідних донорів Гідрогену, КАТ діє як пероксидаза, розкладає  $H_2O_2$ , та окиснює при цьому інший субстрат (пероксидазна реакція) [254].

*Глутатіонпероксидаза* (ГПО; КФ 1.11.1.9) – селенопротеїд, відновлює пероксид Гідрогену, а також органічні гідропероксиди, зокрема, гідропероксиди поліненасичених жирних кислот, до води або гідроксипохідного [83].

ГПО, разом із КАТ, каталізують реакцію відновлення пероксиду Гідрогену до води і молекулярного кисню. Але, у цих двох ензимів є специфічні

домени і характерні особливості дії. ГПО здійснює регулювання малих фізіологічних концентрацій  $H_2O_2$  і у внутрішньоклітинних та позаклітинних компартментах [247]. ГПО – більш універсальна, ніж КАТ, за відношенням до субстратів, оскільки окрім  $H_2O_2$ , відновлює гідропероксиди поліненасичених жирних кислот ліпідів. Всі форми ГПО можуть виконувати функцію як класичних нейтралізаторів АФО, так і тілових пероксидаз та ізомераз. Найбільше скоординована дія різних форм ГПО виражена в дозріваючих сперміях, де вказані ензими забезпечують структурне дозрівання статевих клітин і одночасно захист їх від руйнівної дії АФО. Тому ГПО розглядають як основний регуляторний ензим фізіологічних рівнів АФО [29, 107, 247].

ГПО локалізована у цитозолі клітин (до 70 %), у мітохондріях (20–30 %), та у мікросомах (1–3 %) [49]. Центральним метаболітом глутатіонзалежної антиоксидантної системи є трипептид глутатіон [16, 34, 131, 242], який має власну антиоксидантну активність і функціонує як кофактор, донор Гідрогену, метаболіт і субстрат з ферментами системи, зокрема із СОД та КАТ [239].

Встановлено [114, 163, 241], що високі концентрації АФО, які перевищують детоксикаційні властивості антиоксидантних систем індукують утворення пероксидів ліпідів та знижують життєздатність сперміїв. Тому, зниження антиоксидантного захисту викликає активацію ПОЛ [29, 53, 56, 114, 132, 137]. Це супроводжується зміною конформації ліпідів, що призводить до порушення структурних і функціональних властивостей біомембран, підвищення їхньої лабільності й проникності, порушення електрон-транспортного ланцюга мітохондрій.

Аналіз наявних у літературі даних дозволяє зробити висновок, що ліпіди відіграють важливу роль в енергетичних процесах, у формуванні механізмів адаптації клітин до умов навколишнього середовища, оскільки є головними структурними компонентами мембран. На загальний вміст ліпідів і співвідношення між окремими їх класами значно впливає фізіологічний стан організму. Велика гетерогенність і множинність молекулярних форм всередині окремих класів ліпідів дозволяє розглядати їх в якості сполук, що детермінують ультраструктурну організацію і функцію клітинних структур, у

тому числі сперміїв, про що свідчить специфічність їх ліпідного та жирнокислотного складу. Зміни окремих класів та підкласів ліпідів, а також продуктів їх пероксидного окиснення тісно пов'язані з дією на організм стресових факторів та активністю антиоксидантної системи. Антиоксиданти ензимної та неензимної природи безпосередньо захищають ліпіди клітинних мембран, зокрема подвійні зв'язки в залишках ненасичених жирних кислот від атаки окислювальних радикалів і органічних гідропероксидів. Баланс між генерацією АФО, процесами пероксидного окиснення ліпідів у клітинах та активністю антиоксидантної системи підтримують фізіологічний стан клітин, у тому числі й сперміїв, а також їх здатність до виживання. Отже, дослідження про зміни вмісту ліпідів та продуктів їх пероксидації у спермі та крові плідників мають важливе значення для пошуку оптимальних методів підвищення їх відтворювальної здатності.

## **1.2. Енергетичний обмін та його значення**

Інтенсивне використання високопродуктивних тварин вимагає великих енерговитрат організму, забезпечення яких залежить від швидкості ресинтезу макроергічних сполук, основною з яких є АТФ. Утворення АТФ визначає адаптивні можливості організму й пов'язане з процесами транспорту електронів, за якого вони від високоенергетичного донора переносяться до термінального акцептора з утворенням відновленого продукту [85].

Синтез АТФ відіграє важливу роль у процесах життєздатності сперміїв [227]. Їх рухливість тісно пов'язана з інтенсивністю обміну речовин, який здійснюється під впливом низки дихальних ферментів: цитохромоксидази, дегідрогенази, карбоксилази, сукцинатдегідрогенази, цитохромів тощо [116]. Інтенсивність використання субстратів окремими ланками ланцюга дихання є маркерами фізіологічних показників та характеризують запліднювальну здатність статевих клітин [75]. Так, активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) пози-

тивно корелює з концентрацією і виживанням спермій у свіжоотриманих та розморожених еякулятах, а також із запліднювальною здатністю [116].

Дихальна активність статевих клітин пов'язана виключно з функціонуванням мітохондрій, тому, поглинання кисню сперміями є характеристикою потенціальних можливостей їх до синтезу АТФ та забезпечення руху джгутика. За рахунок енергії АТФ, яка утворюється в мітохондріях у результаті спряження дихання і фосфорилування, клітини виконують специфічні функції, у тому числі здійснюють реакції-відповіді на зовнішній вплив [117, 139, 277]. Визначальним фактором при цьому виступає кількість поглинутого кисню [251].

Мітохондрії є досить чутливими до будь-якого впливу і первинною їх реакцією на стрес є пригнічення окислювального фосфорилування, яке регулюється метаболітами енергетичного обміну, перебудова мітохондріальних мембран та модифікація білок-ліпідних взаємодій [102, 231, 256, 277]. Функціонування дихального ланцюга мембрани мітохондрій клітин взагалі, і спермій, особливо, залежить від цілісності мітохондріальних мембран, оскільки їх порушення неминуче позначаться на енергетичному обміні клітин та усіх метаболічних перетвореннях, які відбуваються з використанням енергії [88, 100]. Так, будь-які пошкодження внутрішньої мітохондріальної мембрани порушують діяльності електрон-транспортного ланцюга, що сприяє генерації АФО [183]. Тому, дихальна активність клітин, окрім процесів, що генерують енергію, характеризує й окисні процеси, що пов'язані із утворенням АФО.

Порушення мітохондріальної оксиредукції супроводжується утворенням АФО, що на рівні чоловічої репродуктивної системи призводить до зниження рухливості спермій і розвитку безпліддя [172, 231]. Розуміння частки участі мітохондрій у цьому явищі зазвичай зводять до наявності балансу між функціональною активністю компонентів електрон-транспортного ланцюга і антиоксидантної системи [2]. Мітохондріальні АФО є не тільки агентами пошкоджень субклітинних мембран та агентами дестабілізації процесів тканинного дихання, але й важливими елементами, які виконують сигнальну

функцію, що дозволяє судити про стан і функціональну активність клітини [181]. Виробництво внутрішньоклітинної енергії й ефективність роботи мітохондрій може слугувати показником можливостей клітин до забезпечення їх енергією [43, 102].

Головною відмінністю спермій від інших клітин є їх здатність до енергійного активного руху за рахунок енергії дихання й гліколізу. Так, спермії характеризуються високою активністю протікання в них гліколітичних реакцій, тому вони є факультативними анаеробами, їх рух в безкисневому середовищі забезпечується за рахунок глюкози чи фруктози, які спермії можуть засвоювати ззовні. У сперміях бугаїв і баранів енергія утворюється за рахунок процесів дихання й гліколізу, що зумовлюється високим вмістом фруктози (200–1000 мг %). За відсутності гліколітичного матеріалу і наявності кисню, спермії отримують енергію для руху розщепленням внутрішньоклітинних фосфатидів та білків [165]. За аеробного окиснення використовуються речовини спермій, а за анаеробного гліколізу – вуглеводи середовища [152]. Значна кількість енергії в сперміях утворюється за рахунок гліколізу, причому інтенсивність процесу є видоспецифічною [161, 165]. Ймовірно, що в клітинах, які функціонують в аеробних та анаеробних умовах вироблені механізми, які дозволяють використовувати різні джерела енергії залежно від забезпечення середовища їх існування киснем та субстратами [102]. Дихання і гліколіз за своїми енергетичними можливостями є нерівнозначними. Утворення АТФ при цьому відіграє важливу роль у регуляції процесів катаболізму в цілому та швидкості розвитку апоптозу чоловічих гамет зокрема [197].

У біоенергетиці клітин особлива роль як джерела енергії належить використанню ліпідних субстратів, переважно, жирних кислот. При активації ліполізу в жировій тканині ЖК стають основним джерелом енергії, зберігаючи глюкозу для нервової тканини та еритроцитів. Значну роль в енергетичних процесах клітин виконує L-карнітин. Процес  $\beta$ -окиснення довголанцюгових жирних кислот з наступним утворенням АТФ стає можливим тільки після їх транспортування із цитоплазми в матрикс мітохондрій за участю L-карнітину [88]. Окрім того,

карнітин забезпечує окиснення середньоланцюгових жирних кислот, що відбувається не в мітохондріях, а в цитозолі. Разом із тим, вказаний біотик приймає участь у циклі трикарбонових кислот, кетогенезі й гліконеогенезі, сприяючи накопиченню енергії всередині клітини та її переносу між органелами [139]. У клітинах карнітин, в основному, знаходиться в матриксі мітохондрій, де розташовані ферменти, що відповідають за  $\beta$ -окиснення жирних кислот [215].

Між білковим і енергетичним обмінами роль зв'язуючої ланки виконує аспаратамінотрансфераза (АСТ) – фермент класу трансфераз, що каталізує зворотне перенесення аміногрупи (трансамінування) від L-аспартату на 2-оксоглутарат з утворенням оксалоацетату і L-глутамату. Продукт її реакції глутамат – початкова сполука катаболізму амінокислот; а оксалоацетат – один з головних регуляторних чинників, який визначає швидкість функціонування ЦТК, що поставляє відновні еквіваленти в дихальний ланцюг мітохондрій [68]. Ізоформи АСТ є компонентами малат-аспартаного шунту, що функціонує в клітинах печінки, нирок, серця, а також в сперміях і ооцитах [234]. Визначення активності АСТ у спермі тварин може слугувати маркером репродуктивної здатності сперміїв, яка напряму пов'язана з життєздатністю статевих клітин [203]. Активність АСТ у спермі позитивно корелює із кількістю сперміїв з ушкодженою акросомою і негативно – з відтворювальною здатністю плідників [238].

Енергетичний обмін у сперміях залежить: від особливостей будови клітин сім'яників, біологічно активних речовин, що ними виділяються, рівня активності соматичних органів, які містять у складі своїх клітин велику кількість мітохондрій; від морфологічних змін і активності ферментів енергетичного метаболізму тестикулярних мітохондрій у процесі сперміогенезу; від ступеня насиченості жирних кислот мембран сперміїв [203].

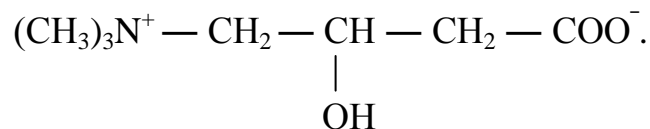
Виходячи з вищевикладеного, енергетичний обмін, за дії різних факторів, залежить від будови й цілісності мембран мітохондрій, активності ензимів, доступності субстратів окиснення, функціонування транспортних систем мітохондрій, використання ними кисню, що, в загальному, визначає можливість метаболічних перетворень, які протікають з використанням

енергії. Існує тонка взаємодія між процесами окиснення і фосфорилювання, що протікають у мітохондріях клітин за участю складного комплексу стимуляторів, регуляторів, системи сигналізації структурно-функціонального стану клітин, спрямованого, в кінцевому рахунку, на організацію найважливішого для життєдіяльності організму біологічного процесу – виробництва внутрішньоклітинної енергії.

### 1.3. Фізіологічна роль L-карнітину і застосування його в тваринництві та медицині

При веденні тваринництва на промисловій основі суттєвого значення набуло застосування біологічно активних речовин, які комплексно і позитивно впливають на обмінні процеси, резистентність, приріст живої маси, відтворювальну здатність та продуктивність тварин [10, 20, 34, 37, 76, 117, 121, 135, 154, 170].

L-карнітин ( $\beta$ -гідрокси- $\gamma$ -триметилбутиробетаїн) – вітаміноподібна речовина (вітамін В<sub>T</sub>), що має основні властивості, хімічно активна:



Карнітин бере участь у ліпідному обміні, виконуючи функції переносника залишків жирних кислот через мембрани мітохондрій. За взаємодії карнітину з відповідним ацил-КоА утворюється ацил-карнітин. У такому вигляді ацили надходять всередину мітохондрій, після чого L-карнітин повертається у цитоплазму, а вони зазнають різних перетворень, насамперед окиснення з утворенням хімічної енергії [21].

L-карнітин стимулює дихання в мітохондріях [227], регулює інтенсивність мітохондріального енергообміну шляхом кон'югації ацильного радикалу з вивільненням КоА і зв'язує високореакційні проміжні продукти окислювальних процесів [192]. Карнітин включається в проміжний обмін, модулюючи співвід-



ношення ацил-КоА/КоА і підтримує необхідний рівень вільного КоА у клітинах. Ця функція залежить, головним чином, від утворення коротколанцюгових ацилкарнітинів [72]. Ця сполука бере участь у біохімічних реакціях утворення та деградації жирних кислот, стероїдів, фосфоліпідів, утворенні кетонів тїл, синтезі ацетилхоліну, катаболізмі деяких амінокислот, дезінтоксикації органічних кислот і ксенобіотиків, функціонуванні піруватдегідрогенази,  $\alpha$ -кетоглутарат-дегідрогенази і, відповідно, в роботі циклу трикарбонних кислот (ЦТК) та інших процесах [139]. Зниження надходження карнітину викликає зменшення вмісту КоА в матриксі й супутнє підвищення співвідношення ацил-КоА/КоА, що викликає інгібування ферментативної активності дегідрогеназ. При цьому знижується не тільки окиснення жирних кислот, а й вуглеводів, амінокислот, дезінтоксикація речовин [72]. Таким чином, L-карнітин являється есенціальною сполукою, що задіяна в енергетичному обміні [80, 120].

L-карнітин абсолютно необхідний для здійснення нормальних функцій мітохондрій і дефіцит його може викликати серйозні негативні наслідки як для клітини, так і для організму в цілому [21, 233, 245, 276]. В умовах метаболічного стресу в мітохондріях накопичується ацил-КоА, баланс якого з вільним КоА підтримується за рахунок роботи карнітинового «човника» [211, 228, 237]. Підвищення концентрації карнітину призводить до зменшення співвідношення ацил-КоА/КоА і забезпечує можливість нормального функціонування мітохондріальних ензимів. Якщо активність карнітин-ацетилтрансферази знижується, зокрема, в умовах оксидативного стресу, спостерігається зниження мембранного потенціалу мітохондрій, зміна їх структури зі зменшенням вмісту деяких фосфоліпідів [225, 228].

Беручи участь у транспортуванні жирних кислот через мембрани мітохондрій у цитоплазму, карнітин є донором метильних груп за біосинтезу холіну. Найактивнішим похідним холіну є ацетилхолін, який активує цитохромоксидазу, посилює окисне і субстратне фосфорилування в мітохондріях клітин [105], ацетилхолінові рецептори виконують специфічні функції в гуморальному імунітеті, зокрема роль антитїл у розвитку

нейродегенеративних захворювань [138]. Встановлено [105], що холінзалежні процеси опосередковано визначають метаболічну активність й запліднювальну здатність сперміїв і залежать від рівня годівлі, зокрема від забезпечення раціонів амінокислотами.

Впродовж останніх років детально вивчається здатність L-карнітину зменшувати наслідки шкідливої дії на клітини вільних радикалів, що значною мірою пояснює його протективний ефект [6, 182, 259, 273]. Завдяки своїм антиоксидантним властивостям карнітин бере опосередковану участь у захисті клітинних структур від руйнівної дії АФО [168]. Ці властивості забезпечуються його участю у видаленні внутрішньоклітинного ацил-КоА, що зменшує мітохондріальну продукцію вільних радикалів та сприяє ацетилюванню мембранних фосфоліпідів [245]. Встановлено, що введення L-карнітину призводить до підвищення активності антиоксидантних ферментів – ГПО, глутатіонредуктази й КАТ (але не СОД) [206] та зниження вмісту продуктів ПОЛ. Так, за дії L-карнітину в тварин із підвищеним рівнем холестеролу, тригліцеролів та продуктів ПОЛ у крові відбувається нормалізація їх вмісту [213], а також знижується концентрація дієнових кон'югатів та загального холестеролу [6].

Гомеостаз L-карнітину в організмі сільськогосподарських тварин і птиці підтримується за рахунок його екзогенного надходження з кормом і, частково, власного синтезу. У кормах рослинного походження його вміст дуже незначний. Основними джерелами надходження до організму є корми тваринного походження (м'ясо, молоко) [214]. Для утворення 1 г карнітину необхідно близько 30 г білка, переважно тваринного походження, як джерела двох незамінних амінокислот – лізину та метіоніну. Синтезується L-карнітин у печінці й нирках із вищевказаних амінокислот за участі вітамінів С, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, ніацину та Fe<sup>2+</sup> [194]. Якщо до складу раціону входять незначні кількості карнітину і білка, то у разі високих енергетичних потреб відбувається порушення азотистого балансу. Тому, дефіцит карнітину часто зустрічається у дорослих високопродуктивних тварин, які мають підвищену потребу в енер-

гозабезпеченні, що залежить від швидкості ресинтезу АТФ за рахунок окиснення енергетичних субстратів та особливостей регуляції цих процесів [214].

За впливу карнітину знижується синтез тригліцеридів та збільшується синтез фосфоліпідів [9], знижується вміст холестеролу та утворення атеросклеротичних бляшок, підвищується активність антиоксидантів, синтез лецитину [120], змінюється хімічний склад мієлінових оболонки нейронів, нормалізується ліпідний склад мембран, інгібується клітинний апоптоз, стимулюється імунна відповідь, знижується активність запальних цитокінів, стабілізується маса тіла, сповільнюється старіння та ін. [216].

Використання L-карнітину викликає все більший інтерес у спеціалістів галузі тваринництва, ветеринарії та медицини [23, 32, 38, 90, 113, 120, 128, 134, 135, 149]. Так, за введення до раціону L-карнітину птиці й тваринам поліпшується перетравність і використання поживних речовин корму, оптимізуються процеси метаболізму, стимулюється ріст та розвиток [20], що дозволяє отримати високі господарські показники та якісну продукцію [9, 113, 115, 149, 150]. Широке застосування карнітину в свинарстві підтверджує його позитивний вплив на нормалізацію основного обміну [135], активізацію анаболічних процесів [10], шлунково-кишкову секрецію, швидкість всмоктування поживних речовин корму [10], зумовлює позитивні зміни в якісних характеристиках еритроцитів, покращує дихальну функцію крові [45, 46]. При цьому спостерігається підвищення молочності [135, 244], багатоплідності свиноматок, маси гнізда до відлучення, збереженості та подальшого росту потомства, підвищення адаптивної здатності [10, 15, 30, 45, 46]. Встановлено, що за додавання карнітину відбувається підвищення загальної резистентності до захворювань [128], інтенсифікація процесів переамінування вільних амінокислот, метаболіти ліпідного обміну інтенсивніше використовуються організмом як енергетичний та пластичний матеріал, що забезпечує збільшення живої маси та середньодобових приростів [23, 37, 76]. Встановлена можливість компенсації нестачі обмінної енергії та білків у комбікормах добавкою L-карнітину [115]. Використання

карнітину збільшує у крові вміст еритроцитів, гемоглобіну, лейкоцитів [149], глюкози, вітаміну А, піровиноградної кислоти та знижує – концентрацію молочної кислоти, сечовини і кетонових тіл [9, 150, 276]. Крім поліпшення процесів обміну речовин, карнітин підвищує апетит, виявляє кардіо-, гепато- та нейропротекторну дію [6, 23, 26, 32, 38, 42, 70, 72, 80, 120, 134].

L-карнітин збільшує рухливість сперміїв, їх концентрацію, кількість сперми і, що головне, вірогідність запліднення [25, 70, 180, 186, 187, 215, 275, 280]. Так, добавка L-карнітину до раціону самців стимулює у них процес сперміогенезу й покращує якість сперми [170], попереджає зниження в плазмі крові тестостерону [180]. Карнітин застосовують за гіпофертильності у чоловіків [11, 25], оскільки він відіграє значну роль у метаболізмі та матурації сперміїв [186]. Встановлено [25], що застосування карнітину впродовж трьох місяців пацієнтам з ідіопатичною патоспермією сприяє збільшенню об'єму еякуляту на 45,7 %, концентрації сперміїв – на 18,5 %, загальної рухливості – на 33,7 %, активної рухливості – на 38,4 % та кількості морфологічно нормальних форм – на 50 %.

L-карнітин виявлений у високих концентраціях у придатку яєчка [215], де він відіграє важливу роль у дозріванні сперміїв, впливає на їх рухливість і виконує функції антиоксиданта [175]. Виявлено високу кореляційну залежність між концентрацією карнітину в спермі з цілісністю ядерної ДНК гамет [190] та осмотичною резистентністю статевих клітин [280]. У ряді робіт показана протективна дія карнітину, що співставна з ефектами прямого додавання антиоксидантних ферментів до цільної сперми, її плазми або сперміїв [184, 232].

Аналіз наявних у літературі даних дозволяє зробити висновок, що L-карнітин є природним метаболітом широкого спектру дії, який впливає на процеси біоенергетики в клітинах, шляхом корекції вузлових ланок енергетичного метаболізму, при чому проявляє антиоксидантний, імуномодулюючий ефекти, підвищує показники продуктивності сільськогосподарських тварин і птиці [10, 13, 15, 30, 37, 45]. Однак, порівняно мало є праць, присвячених участі даної вітаміноподібної речовини у енергетичному та ліпідному обміні, що вказує

на необхідність розширення досліджень для вивчення впливу L-карнітину на процеси метаболізму.

#### **1.4. Особливості хімічного складу та обміну речовин у спермі різних видів тварин**

Сперма (еякулят) є секретом сім'яників і додаткових статевих залоз самців, яка складається із статевих клітин (сперміїв) і рідкої частини (плазми). Головною складовою частиною еякулятів є спермії. В процесі еякуляції спермії змішуються із секретами додаткових статевих залоз і переходять у активний стан. При цьому виявляється їх основна властивість – прямолінійний поступальний рух [96, 165].

Спермії покриті ліпопротеїдною оболонкою, яка утворюється в процесі сперміогенезу в сім'яниках, проте за дозрівання в придатку сім'яника та капацитації значно модифікується. Ці зміни зумовлені великою кількістю поліненасичених жирних кислот фосфоліпідів, які забезпечують можливість включення в структуру мембрани білків та ліпідів. У разі проходження сперміїв через придаток сім'яника відбуваються модифікації мембран, що опосередковано впливає на субклітинні структури, а також на нуклеопроїди [215].

Плазма сперми, яка є продуктом додаткових статевих залоз, розбавляє густу масу сперміїв при еякуляції і забезпечує пересування їх в статевих шляхах самця і самки. У різних видів самців додаткові статеві залози розвинуті неоднаково, що зумовлює видові відмінності за об'ємом і хімічним складом сперми [96]. Секрет придатка сім'яника багатий білками, ліпопротеїдами і ліпідами, при цьому виявляється певна кількість фруктози (у бугая й барана до 3 мг %). Плазма характеризується кислою реакцією середовища. Доведено зростання акросомної реакції та здатності зв'язуватись із зоною пеллюциду в разі контакту сперміїв з придатка сім'яника з секретами додаткових статевих залоз бугаїв [75].

Статеві клітини ссавців факультативні анаероби, їх рух забезпечується в безкисневому середовищі за рахунок цукрів (глюкози, фруктози, маннози), які

спермії можуть засвоювати ззовні. За відсутності гліколітичного матеріалу в середовищі і наявності кисню, спермії отримують енергію для руху з реакцій розщеплення внутрішньоклітинних фосфатидів та білків. До того ж, у середовищі без глюкози і кисню статеві клітини бугая знижують рухливість через 10 хв., а після аерації вона відновлюється (рівень відновлення становить 72 %). У середовищі з глюкозою, без кисню, рухливість сперміїв також знижується, однак аерація не відновлює її до вихідного рівня [207].

Роль різноманітних метаболічних шляхів у забезпеченні енергетичних потреб сперміїв давно й активно вивчається, проте дотепер немає абсолютної єдності в думках щодо цього питання. Важливість визначення біохімічних параметрів сперми та сперміїв для оцінки їх функціональних властивостей очевидна, що відмічено в ряді робіт [96, 116, 123, 236].

Встановлені видові відмінності в диханні сперміїв. На початку інкубації найвищою інтенсивністю дихання відзначаються спермії барана (16,6 мкл  $O_2/10^8$  сперміїв), потім бугая (11,1 мкл  $O_2/10^8$  сперміїв) і найнижча – у кнура (9,5 мкл  $O_2/10^8$  сперміїв) [165]. Цільна сперма бугая в 2,5 разу більше споживає кисню, порівняно з позбавленими плазми та відмитими сперміями [44]. На інтенсивність дихання статевих клітин впливають розбавлення сперми [161], умови зберігання [165], субстрати окиснення [70, 117], тощо. Зміни дихальної активності відбуваються за кріоконсервування, що пов'язано із порушенням ультраструктури сперміїв і виходом ферментних білків із акросоми та тіла клітин. Спермії бугаїв, відмиті після розмороження, за додавання ендогенних субстратів (піруват, фумарат) здатні до дихання, а поглинання ними кисню залежить від кріопротекторних властивостей мітохондріальних структур, які здатні зберігати енергію [84].

Встановлений позитивний зв'язок між споживанням кисню та активністю дегідрогеназ і цитохромоксидази в еякулятах із показниками якості та запліднювальної здатності сперміїв [116, 195]. Активність ферментів сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази має пряму залежність з показниками якості сперми і може бути використана для оцінки запліднювальної здатності сперміїв [161].

У процесі капацитації сперміїв відбуваються їх морфо-функціональні зміни, збільшується споживання кисню та проявляється гіперактивний рух. Спермії здатні використовувати енергетичні речовини зовнішнього середовища, якими багата сім'яна плазма [152].

Інтенсивність споживання кисню спермою, крім енергогенеруючих процесів, характеризує окисні зміни, що пов'язані із утворенням АФО, які спермії продукують двома способами: за участі плазматичних мембран НАДФ-оксидаза [207] та мітохондріальною системою – головного джерела АФО, надлишок яких призводить до зниження запліднювальної здатності, а в подальшому – до безпліддя тварин [170]. Доведено існування негативної кореляції між порушеннями мембран в мітохондріях і відсотком мертвих сперміїв, а також можливість генерації АФО аномальними статевими клітинами [151].

Важливим патогенетичним елементом, що спричиняє розвиток неплідності самців (незалежно від етіології) є вплив окиснювального стресу [269, 270]. Надмірне утворення АФО може викликати кумулятивний окиснювальний ефект, який є однією з головних причин клітинного старіння і зниження здатності виробляти тестостерон клітинами Лейдіга [170]. Тестостерон синтезується із холестеролу та є головним гормоном сім'яників, його секреція регулюється лютеїнізуючим гормоном, який активує транспортування холестеролу до внутрішніх мембран мітохондрій, де він метаболізується [221, 243].

Надмірна генерація АФО, яка перевищує детоксикаційні властивості антиоксидантних систем, пов'язана з безпліддям чоловіків [241]. Високі концентрації АФО, що утворюються сперміями спонтанно, індукують утворення пероксидів ліпідів та знижують життєздатність сперміїв [169]. Нижчі концентрації АФО спричиняють втрату рухливості сперміїв, яка зумовлена вичерпанням внутрішньоклітинного АТФ і недостатнім фосфорилуванням аксонемальних протеїнів [189]. Для сперміїв концентрація  $H_2O_2$  має важливе значення так як, з одного боку, може запускати каскад реакцій вільнорадикального окиснення поліненасичених жирних кислот ліпідів мембран, на які багаті ці клітини, а з іншого, бере участь в збільшенні вмісту внутрішньоклітинного цАМФ,

ініціюючи його утворення з АТФ, що каталізує аденілатциклаза. Крім того, пероксид Гідрогену може безпосередньо активувати тирозинкіназу, інгібувати тирозинфосфатазу і фосфодіестеразу [193].

У разі порушення рівноваги між процесами, які виробляють АФО та тими, що їх руйнують, може виникати спонтанна гіперактивація сперміїв, що виявлено у самців зі зниженою активністю антиоксидантних систем [189]. У спермі тварин функцію антиоксидантного захисту виконує плазма сперми, яка об'єднує значну кількість антиоксидантів, що захищають спермії від окислювального стресу, компенсуючи нестачу ендоплазматичних ензимів [163]. Плазма сперми містить СОД [169], каталазу [42], глутатіонпероксидазу та глутатіонредуктазу, які виробляються простатою та додатковими залозами, а також неензимні антиоксиданти: глутатіон та вітаміни, серед яких виявляють і L-карнітин [70, 121, 172, 210, 212].

L-карнітин у високих концентраціях виявлений у придатку яєчка самців [215], де він відіграє важливу роль у дозріванні сперміїв, впливає на їх рухливість і є антиоксидантом [175]. Існує тісний зв'язок між рівнем L-карнітину, активацією рухливості й метаболізмом сперміїв [187, 215]. Спермії вперше зазнають високих концентрацій карнітину в протоці придатка яєчка, тобто в тому ж місці, де вони набувають здатність до направленого руху. Таким чином, може бути встановлений зв'язок між ініціацією спрямованого руху сперміїв (на кінцевих стадіях сперміогенезу) і значним збільшенням в них концентрації вільного і ацетильованого карнітину [215].

У регуляції процесів ліпопероксидації мембран та капацитації головну роль виконують антиоксидантні ферменти сперми, які в першу чергу захищають спермії від окислювального стресу та забезпечують їх високу функціональну здатність [198].

СОД захищає статеві клітини від надлишку супероксиданіонів ( $O_2^{\cdot-}$ ) та контролює їх капацитацію [189]. Виявлено, що активність ензиму у сперміях негативно корелює з їх рухливістю та здатністю до злиття з ооцитами, а позитивно – з прискоренням вільнорадикального пероксидного окиснення та збільшенням аномальних сперміїв [169].



Активність каталази є важливою для здійснення фізіологічних функцій сперміїв, так як пероксид Гідрогену, який вона селективно розщеплює, спричиняє втрату активності та запліднювальної здатності сперміїв [189, 248]. Встановлено [168], що загальна каталазна активність у плазмі сперми чоловіків мала негативний корелятивний зв'язок з об'ємом сперми, концентрацією малонового диальдегіду (МДА) та вмістом патологічних клітин. Розщеплюючи  $H_2O_2$ , каталаза може забезпечувати додаткову кількість кисню для ефективного функціонування ланцюга дихання мітохондрій і окисного фосфорилування [224]. Введення КАТ до складу середовища для розбавлення сперми сприяє покращенню життєздатності сперміїв, підвищує акросомну реакцію та знижує рівень фрагментації ДНК [184, 189].

ГПО регулює рівень як екзогенного, так і ендогенного пероксиду Гідрогену, контролює ліпопероксидацію мембранних структур сперміїв та може окиснювати SH-групи тіолвмісних білків, тобто володіє тіолпероксидазною активністю, що має важливе значення для дозрівання, капацитації, акросомної реакції та виживання статевих клітин [239].

Спермії продукують надмірну кількість АФО здебільшого у разі порушення сперміогенезу, результатом чого є утримання клітиною надлишкової цитоплазми [207] і, отже, підвищений вміст цитоплазматичних ензимів, які генерують  $O_2^{\cdot-}$  [205]. Збільшення генерації АФО свідчить про здатність сперміїв проходити капацитацію через стимулювання фосфорилування тирозину білків [169], при чому зовнішньоклітинна генерація  $O_2^{\cdot-}$  сперміями, а не внутрішньоклітинна, важлива для капацитації та акросомної реакції [189]. У разі підготовки еякулятів до кріоконсервування та після їх розморожування зростає вільнорадикальне окиснення жирних кислот, руйнуються ліпопротеїдні комплекси і, як наслідок, мембрани клітин [106]. Це свідчить, що першою зазнає впливу АФО мембрана спермія, а сполуками, які при цьому змінюються, є ліпіди мембран.

Склад ліпідів плазматичних мембран сперміїв значно відрізняється від складу ліпідів соматичних клітин і містить велику кількість фосфоліпідів, насичених та поліненасичених жирних кислот і стеринів. Завдяки цьому спермії є найчутливі-

шими до перебігу процесів ПОЛ в організмі тварин [151, 164, 268]. Найчутливішими до окиснювального пошкодження є плазматичні мембрани сперміїв, особливо ті, що вкривають акросому та хвіст, а також цитоплазма, в якій низька концентрація антиоксидантних ензимів [94]. Окрім того, після еякуляції та в процесі технологічної обробки спермії піддаються оксидативному стресу, що супроводжується різким збільшенням вмісту АФО та активуванням вільнорадикальних процесів окиснення ліпідних і білкових компонентів плазми сперми та розріджувачів [176, 198]. Процес заморожування-розморожування сперми викликає сублетальні пошкодження її клітин [212], при чому зменшується вміст у ній фосфоліпідів, зокрема, фосфатидилхоліну і фосфатидилетаноламіну [199].

У результаті накопичення продуктів ПОЛ у мембранах сперміїв відбувається розшарування ліпідного бішару, що спричиняє значні розлади у функціонуванні мембранних ферментів. У подальшому відбувається набухання й лізис мітохондрій, полімеризація білків та розрив їх поліпептидних ланцюгів, деструктуризація нитки ДНК, інактивація клітинних ензимів, та, як наслідок, некроз клітин [164].

Патологічні зміни, рухливість сперміїв та в'язкість сперми тісно пов'язані з пероксидацією ліпідів [41, 42, 171]. Продукти ПОЛ ушкоджують мембрани та органели сперміїв, призводячи до зниження активності, виживаності та врешті – запліднювальної здатності цих статевих клітин [41, 42]. Встановлено негативну кореляцію між вмістом МДА, рухливістю і часткою живих сперміїв [218], активністю СОД і позитивну – із кількістю патологічних клітин [258, 261]. Диструктивній дії малонового діальдегіду протидіють КАТ, ГПО, а також відновлений глутатіон. Зокрема каталазна активність характеризує присутність у клітинах пероксидів, а отже, інтенсивність оксидативного стресу, а з іншого – визначає опірність клітин та організму загалом [7]. Встановлено [140], що в бугаїв зі зниженими показниками якості сперми, вміст МДА у спермі вищий на 31,9 %, активність КАТ і ГПО нижчі на 14,0 % та 16,2 % відповідно, порівняно з бугаями із нормальними показниками. Рівень МДА є інформативним біохімічним індексом якості та глибини деструктивних процесів у спермі [169].

АФО виконують сигнальну роль у регуляції життєздатності сперміїв [201], тому для оцінки фізіологічної якості і запліднювальної здатності статевих клітин найдоцільніше використовувати ензиматичну активність еякулятів, як об'єктивний біохімічний тест [75], а дослідження інтенсивності використання кисню спермою у поєднанні з фізіологічними характеристиками сперміїв можуть бути критеріями оцінки ефективності кріозахисних властивостей речовин, що використовуються для розбавлення і заморожування сперми [165].

Отже, аналіз даних літератури свідчить, що у сперміях, для набуття здатності запліднювати ооцит, повинні відбутися морфо-функціональні та біохімічні зміни, в яких важливу роль відіграють окисно-відновні процеси. Показники якості статевих клітин визначаються субстратами окиснення та ферментами, які забезпечують їх використання, захистом структур мембран сперміїв від окисного навантаження після еякуляції, процесів технологічної обробки сперми та капацитації. Разом із тим, спермії, маючи у складі мембранних структур значну кількість поліненасичених жирних кислот, є найчутливішими до перебігу процесів ПОЛ в організмі тварин.

Важливого значення у збереженні структурної цілісності й виживання сперміїв має ефективне функціонування антиоксидантної системи (АОС) захисту, зокрема її ферментативної й неферментативної ланок. Карнітин, завдяки своїм антиоксидантним властивостям, захищає клітини від активних форм Оксигену. Ці властивості забезпечуються його участю у видаленні надлишкового внутрішньоклітинного ацил-КоА та/або заміні жирних кислот у мембранах. L-карнітин, впливаючи на споживання кисню в мітохондріях, відіграє ключову роль у метаболізмі сперміїв, забезпечуючи доступність енергії, яка використовується ними для процесу сперміогенезу, дозрівання і руху.

Однак, у науковій літературі порівняно мало є праць, присвячених участі даної вітаміноподібної речовини у метаболізмі сперміїв, що переконливо доводить необхідність розширення досліджень, спрямованих на з'ясування впливу L-карнітину на функціонування репродуктивної системи самців та показники якості сперми.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1. Матеріали 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 утримувались тварини, були ідентичними для всіх груп і відповідали зоогігієнічним нормам. Для виконання поставлених завдань було проведено два досліди (рис. 2.1).

Метою першого дослідження було вивчення впливу добавки «Карніпас» (виробництво Loman animal health, Німеччина), що містить у захищеній формі L-карнітин, на показники енергетичного, ліпідного обміну, систему антиоксидантного захисту в спермі й крові та фізіологічні показники еякулятів бугаїв. З цією метою за принципом аналогів (за віком, спермопродукцією та живою масою) було сформовано три групи бугаїв по 4 голови в кожній. Бугаї 1-ї групи слугували контролем, а бугаям 2-ї та 3-ї груп додавали додатково до раціону добавку «Карніпас» у кількості 20 і 40 г/гол. відповідно, яку згодовували щоденно протягом 75 діб дослідного періоду.

Матеріалом для лабораторних досліджень слугувала сперма та кров. Сперму отримували на штучну вагіну згідно режиму використання бугаїв на підприємстві – дуплетна садка два рази на тиждень. У свіжоотриманій спермі визначали об'єм еякуляту (мл), активність (рухливість) статевих клітин (бали), концентрацію за допомогою фотоелектроколориметра ( $10^9$  клітин/мл), а також виживання сперміїв при температурі 2–4°C до припинення прямолінійно-поступального руху.

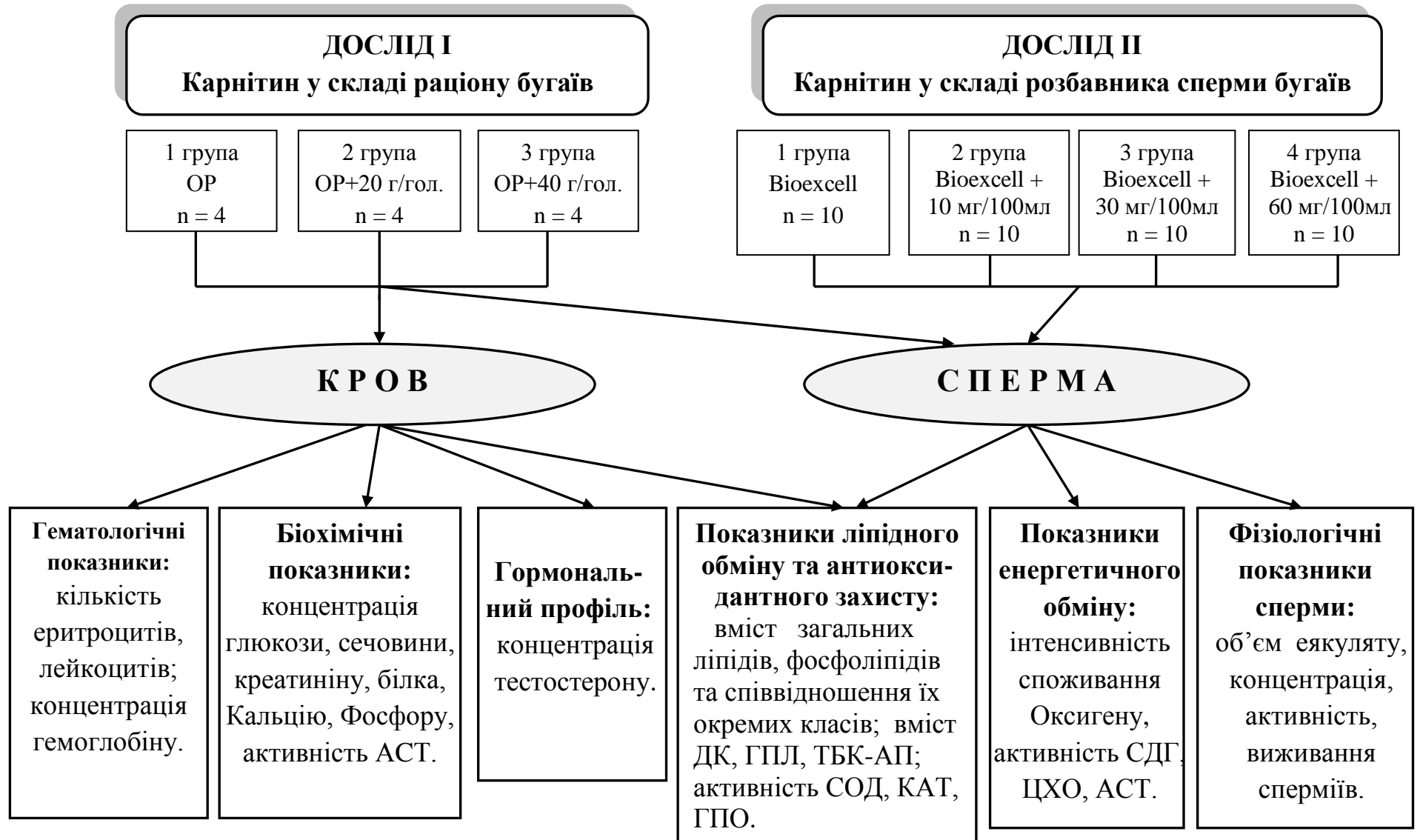


Рис. 2.1. Схеми експериментальних досліджень

Біохімічні дослідження сперми проводили в чотири етапи: до введення досліджуваної добавки, через 27 й 75 діб її введення та через 22 доби після закінчення згодовування для виявлення пролонгованого ефекту. Для цього свіжоотриману сперму змішували із середовищем для розбавлення еякулятів «Віоexcell» у співвідношенні 1:1.

Кров відбирали з яремної вени двічі за період досліду: до введення добавки та через 75 діб її згодовування. Забір крові проводили зранку (через 4 год. після годівлі) у всіх бугаїв з кожної групи. Для стабілізації крові або одержання плазми в пробірки попередньо вносили гепарин.

Метою другого досліду було вивчення впливу L-карнітину на окисно-відновні та процеси ПОЛ в еякулятах за додавання його до розріджувача сперми «Віоexcell». Для цього десять зразків розбавленої 1:1 сперми розділяли на частини – контрольну і три дослідні, при чому співвідношення розбавника із карнітином до попередньо розбавленого еякуляту становило 3:1.

У розбавленій спермі досліджували інтенсивність споживання Оксигену, вміст ТБК-активних продуктів, активність ензимів дихального ланцюга та антиоксидантного захисту, а також виживання сперміїв за температури 2–4°C.

## 2.2. Методи досліджень

Для оцінки стану ліпідного обміну в спермі та крові визначали вміст ліпідів, співвідношення їх окремих класів та вміст продуктів ПОЛ.

*Визначення вмісту загальних ліпідів.* Зразки сперми (1 см<sup>3</sup>) розтирали в рідкому азоті. Ліпіди з них екстрагували сумішшю хлороформ-метанол у відношенні 2:1 [202]. До 1 см<sup>3</sup> сперми чи сироватки крові додавали 20 см<sup>3</sup> суміші Фолча та залишали на 12 годин за кімнатної температури для екстракції. Потім суміш фільтрували через знежирений фільтр, а осад двічі промивали екстрагуючою сумішшю, екстракти об'єднували. Неліпідні домішки з екстракту видаляли додаванням до нього (1/5 об'єму ліпідного екстракту) 0,74 М розчину KCl. Суміш струшували і залишали на 12 годин.

При цьому утворюється двофазна система. Верхній водно-метанольний шар відсмоктували за допомогою водоструменевого насосу, а нижній випаровували. Ліпіди зберігали у хлороформі в закритих колбочках за температури 4 °С. Кількість ліпідів у рідинах визначали ваговим методом.

*Визначення вмісту окремих класів ліпідів.* В основі методу лежить адсорбційна хроматографія, що ґрунтується на сорбції розчиненої речовини твердою фазою – активним сорбентом [87]. Для тонкошарової хроматографії використовували скляні пластинки розміром 6×12 см і товщиною 3 мм. Перед використанням скляні пластинки ретельно промивали по чергово содовим розчином і хромовою сумішшю, а потім – проточною і дистильованою водою. Сушили пластинки у вертикальному положенні за кімнатної температури. Зберігали їх у щільно закритій посудині й перед використанням протирали спиртом.

Для фракціонування загальних ліпідів використовували як рухому фазу суміш гексану, діетилового ефіру та льодової оцтової кислоти у співвідношенні 70:30:1. Одержані хроматограми проявляли в герметичній камері, насиченій парами Йоду. Для ідентифікації окремих класів ліпідів використовували специфічні реагенти й очищені стандарти. Фракціонування ліпідів проводили в тонкому шарі адсорбенту, приготовленому із суміші двох силікагелів марок L 5/40 і LS 5/40. До суспензії з 12 г силікагеля L 5/40 та 6 г силікагеля LS 5/40 додавали 50 см<sup>3</sup> дистильованої води, ретельно перемішували і відразу наносили на пластини розміром 9×12 см у кількості 6,5 см<sup>3</sup>.

Для розділення фосфоліпідів використовується той же принцип приготування суспензії, що і при фракціонуванні загальних ліпідів, але шар адсорбенту був грубшим – 450–500 мкм. В якості рухомої фази для розділення фосфоліпідів методом одномірної хроматографії використовували суміш хлороформ-метанол-аміак у співвідношенні 65:25:4.

Вміст окремих класів ліпідів виражали у відсотках від загальної кількості ліпідів. Кількісне визначення окремих класів ліпідів проводили згідно з методичними рекомендаціями [147].

Для визначення пероксидного окиснення ліпідів 1 г або 1 см<sup>3</sup> розтертої в рідкому азоті сперми (крові) заливали буфером TRIS-HCl (pH 7,4) у співвідношенні 1:10. Після екстрагування супернатант відбирали для подальшого дослідження.

*Визначення вмісту дієнових кон'югатів.* Визначення вмісту дієнових кон'югатів ненасичених вищих жирних кислот базується на тому, що у процесі ПОЛ у молекулах окисненого ліпідного субстрату утворюються спряжені подвійні зв'язки. При цьому реєструється максимум поглинання у спектрі оптичного випромінювання за довжини хвилі 233 нм [142].

*Визначення гідропероксидів ліпідів.* Визначення вмісту гідропероксидів ліпідів досягається шляхом осадження білків трихлороцтовою кислотою з наступною дією на дослідний матеріал тіоціанатом амонію та спектрофотометрією, при якому попередньо проводять екстракцію ліпідів етанолом [129]. До 1,5 см<sup>3</sup> етанольного екстракту додавали 1,2 см<sup>3</sup> етилового спирту, струшували і додавали 0,02 см<sup>3</sup> концентрованої соляної кислоти та 0,03 см<sup>3</sup> 1% розчину солі Мора. Струшували й через 30 сек. додавали 0,2 см<sup>3</sup> 20 % розчину тіоціанату амонію, після чого з'являється малиновий колір. Оптичну густину вимірювали протягом 10 хв. після додавання тіоціанату амонію на спектрофотометрі за довжини хвилі 480 нм. Вміст гідропероксидів ліпідів у біологічному матеріалі виражали у величинах оптичної густини за 480 нм на 1 см<sup>3</sup> (Од Е 480/ см<sup>3</sup>).

*ТБК-активні продукти.* Метод ґрунтується на тому, що продукти пероксидного окиснення ліпідів, основним з яких є малоновий діальдегід за високої температури в кислому середовищі вступає в реакцію з 2-тіобарбітуровою кислотою з утворенням триметилового комплексу, що екстрагується бутанолом і має максимум поглинання за довжини хвилі 535 нм [87].



Досліджувалась активність ферментів-антиоксидантів.

*Супероксиддисмутаза.* За основу визначення активності ферменту був узятий метод, описаний в роботі [160]. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за рівнем інгібування ферментом процесу відновлення нітросинього тетразолію при наявності феназинметасульфату та НАДФ. Утворення нітроформазау, продукту відновлення нітротетразолію гальмується наявністю в зразках СОД. Таким чином, за кількістю нітроформазау, що утворюється, оцінюють активність СОД. Оптичну густину проб визначали на спектрофотометрі за довжини хвилі 540 нм.

*Каталаза.* Активність каталази визначали за методом [74], який базується на здатності пероксиду Гідрогену утворювати із солями молібдену стійкий забарвлений комплекс, інтенсивність якого вимірювали на спектрофотометрі за довжини хвилі 410 нм.

*Глутатіонпероксидаза.* Активність глутатіонпероксидази визначали за швидкістю окиснення глутатіону в присутності пероксиду третинного бутілу. Концентрацію відновленого глутатіону визначали до і після реакції колориметрично. В основі розвитку кольорової реакції лежить взаємодія HS-груп з 5,5'-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою з утворенням забарвленого продукту – тіонітрофенільного аніону. Вміст останнього прямо пропорційний кількості HS-груп, що прореагували з вищевказаною кислотою. Оптичну густину визначали на спектрофотометрі за довжини хвилі 412 нм [103].

У спермі оцінювали показники інтенсивності окисно-відновних процесів.

*Сукцинатдегідрогеназа.* Спосіб визначення активності сукцинатдегідрогенази ґрунтується на здатності 2-,3-,5-трифенілтетразолію хлористого під дією ферменту відновлюватися до червоного формазау. Досліджувана суміш набуває рожевого забарвлення, інтенсивність якого залежить від активності ензиму, яку вимірювали за довжини хвилі 490 нм [87].

*Цитохромоксидаза.* Визначення активності ферменту базується на тому, що  $\alpha$ -нафтол і парафенілендіамін у присутності ЦХО утворюють сполуку синього або синювато-фіолетового кольору – індофеноловий синій, кількість (інтенсивність забарвлення) якого пропорційна активності ферменту, яку вимірювали за довжини хвилі 540 нм [87].

*Інтенсивність дихання сперми.* Визначення споживання Оксигену проводили полярографічно (нг-атом O/0,1мл суспензії сперміїв за хв) у термостатованій комірці (температура + 38,5°C) об'ємом 1,0 мл з автоматичною реєстрацією перебігу процесу самопишучими потенціометрами КСП-2. Метод ґрунтується на здатності сперміїв «поглинати» кисень, що характеризується зміною окисно-відновного потенціалу і, відповідно, напруги на електродах, яка реєструється полярографом і записується самопишучим потенціометром [87]. Для вивчення залежності між інтенсивністю поглинання кисню, зовнішньоклітинним транспортом електронів та часткою шляхів метаболізму в реалізації субстратів окиснення використовували інгібітори: гліколізу – натрій фторид (NaF) –  $10^{-3}$ М; НАДН – залежної ділянки дихального ланцюга – амітал (AM) –  $5 \times 10^{-3}$ М; термінальної – натрій азид (NaN<sub>3</sub>) -  $5 \times 10^{-2}$ М.

*Визначення активності аспаратамінотрансферази.* Активність ферменту визначали за допомогою стандартного набору реактивів [246]. Принцип методу полягає в тому, що внаслідок переамінування, що проходить під впливом аспаратамінотрансферази, утворюються глютамінова й піровиноградна кислоти. Під час додавання 2,4-динітрофенілгідразину в лужному середовищі утворюється забарвлений гідразон піровиноградної кислоти, що має максимум поглинання при довжині хвилі 500–560 нм та інтенсивність забарвлення якого пропорційна активності ферменту.

Для оцінки функціонального стану репродуктивної системи бугаїв визначали рівень тестостерону в крові.

*Тестостерон.* Концентрацію тестостерону в крові визначали методом імуно-ферментного аналізу з використанням набору реактивів «Testosterone ELISA». Метод оснований на конкурентному зв'язуванні тестостерону сироватки крові й кон'юганта тестостерону-ПХ з постійною кількістю антитестостерону. Показник абсорбції обернено пропорційний концентрації тестостерону в пробі [87].

*Глюкоза.* Визначення концентрації глюкози проводили глюкозооксидазним методом [87]. При окисненні глюкози глюкозооксидазою утворюється  $H_2O_2$ , який у присутності пероксидази окиснює О-діанізидин, перетворюючи його у сполуку, забарвлену в синій колір. Інтенсивність забарвлення визначали фотометрично при довжині хвилі 530 нм.

*Загальний білок.* Концентрацію загального білка визначали за біуретовою реакцією [87]. Білки реагують з сульфатом купруму в лужному середовищі з утворенням сполук фіолетового забарвлення, інтенсивність забарвлення якого визначали спектрофотометрично за довжини хвилі в діапазоні 540–650 нм, яка є прямо пропорційною концентрації білків.

*Альбумін.* Визначення альбуміну в сироватці крові здійснювали за реакцією з бромкрезоловим зеленим [87], при взаємодії з яким у слабкокислому середовищі утворюється зафарбований комплекс синього кольору. Інтенсивність забарвлення визначали фотометрично при довжині хвилі 630–690 нм.

*Креатинін.* Визначення креатиніну в сироватці крові проводили за кольоровою реакцією [87]. Метод ґрунтується на реакції креатиніну з пікриновою кислотою в лужному середовищі з утворенням забарвлених з'єднань. Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації креатиніну і вимірюється фотометрично при довжині хвилі 500–560 нм.

*Кальцій.* Вміст загального Кальцію визначали за кольоровою реакцією, яка полягає на взаємодії йонів Кальцію в лужному середовищі з орто-крезолфталеїнкомплексом з утворенням сполуки фіолетового кольору.

Інтенсивність забарвлення комплексу пропорційне концентрації Кальцію і вимірюється фотометрично при довжині хвилі 500–560 нм [87].

*Фосфор.* Визначення неорганічного фосфору в сироватці крові проводили за відновленням фосфорно-молібденової кислоти з подальшим утворенням синього фосфорно-молібденового комплексу. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації неорганічного фосфору в сироватці крові. Вимірювання робили фотометрично проти контролю за довжини хвилі 630–690 нм [87].

Дослідження гематологічних (еритроцити, лейкоцити, концентрація та вміст гемоглобіну в одному еритроциті) та решти біохімічних показників у крові визначали за загальноприйнятими методиками [87].

*Кількість еритроцитів.* Підрахунок кількості еритроцитів здійснювали з використанням камери Горяєва.

*Концентрація гемоглобіну.* Визначення концентрації гемоглобіну в крові проводили гемігلوبінціанідним методом. Гемоглобін у присутності окиснювача та ціанід аніонів утворює у водному розчині ціанметгемоглобін, інтенсивність забарвлення якого пропорційне вмісту гемоглобіну при довжині хвилі 540 нм.

*Кількість лейкоцитів.* Підрахунок лейкоцитів проводили у камері Горяєва.

*Статистичну обробку* отриманих результатів проводили за допомогою комп'ютера за спеціально складеною програмою. Визначали середню арифметичну величину ( $M$ ), середньоквадратичне відхилення ( $\sigma$ ), помилку середньої ( $m$ ), вірогідність різниць ( $p$ ) та коефіцієнт кореляції ( $r$ ). Для встановлення достовірної різниці між двома середніми величинами використовували критерій Стьюдента ( $t$ ) [119].

Для виконання біохімічних досліджень використовували реактиви фірм "Felisit" (Дніпропетровськ), „Сімко” (Львів), „Альфарус” (Київ), „Sigma” (США) кваліфікації х.ч. або ч.д.а.

## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 3.1. Вміст ліпідів та їх фракцій у спермі та крові бугаїв за згодовування L-карнітину

Ліпіди – структурні компоненти біологічних мембран, енергетичний субстрат клітин, беруть участь у сигнальній трансдукції, екзо- та ендоцитозі, у фіксації білків у фосфоліпідному бішарі, є неполярним середовищем для жиророзчинних субстратів і кофакторів ферментів, забезпечують відповідну орієнтацію білків у клітинній мембрані, а також зумовлюють конформаційні зміни білків і виступають у ролі регуляторів та модуляторів ферментативної активності [208, 222]. У спермі ліпіди, поряд з іншими факторами, забезпечують рухливість і життєздатність спермій [41].

У результаті проведених досліджень у спермі бугаїв було ідентифіковано такі класи загальних ліпідів, як фосфоліпіди, холестерол та його естери, триацилгліцероли, неестерифіковані жирні кислоти та діацилгліцероли.

Із даних, наведених у табл. 3.1, видно, що вміст загальних ліпідів у спермі бугаїв, яким додатково вводили до раціону L-карнітин, дещо збільшується порівняно з такими у спермі тварин контрольної групи. Так, після 75-добового згодовування вказаної добавки вміст загальних ліпідів у 2-й та 3-й дослідних групах був більшим на 4,4 та 5,3 %, а через 22 доби після закінчення введення карнітину – на 7,3 % ( $p < 0,05$ ) та 9,2 % відповідно, порівняно з контрольною групою.

У співвідношенні окремих класів ліпідів відмічаються певні закономірності. Найвищий вміст у складі ліпідів сперми становлять фосфоліпідні фракції. За дії L-карнітину їх рівень у спермі, яку отримували від бугаїв дослідних груп, був вищий протягом усіх періодів дослідження, порівняно з даними контрольної групи.

Таблиця 3.1

**Вміст ліпідів у спермі бугаїв-плідників за дії L-карнітину,  
мг/100 мл (M±m; n=4)**

Показник	Група бугаїв		
	1 – контрольна	2 – дослідна (20 г/гол.)	3 – дослідна (40 г/гол.)
1	2	3	4
До введення			
Загальні ліпіди, в т.ч. фракції:	67,50±5,39	66,11±3,09	66,18±3,26
Фосфоліпіди	23,24±2,32	22,63±1,79	23,15±1,92
Холестерол	5,87±0,43	5,61±0,40	5,46±0,57
Естери холестеролу	12,39±1,41	12,09±0,28	12,94±1,18
НЕЖК	5,61±0,52	5,97±0,41	5,56±0,24
Триацилгліцероли	12,82±1,41	12,91±0,50	11,84±0,30
Діацилгліцероли	7,55±0,79	6,89±0,39	7,22±0,16
Через 27 діб від початку введення			
Загальні ліпіди, в т.ч. фракції:	65,78±5,01	66,38±3,40	67,28±4,35
Фосфоліпіди	27,26±2,08	29,06±1,08	30,26±2,74
Холестерол	6,18±0,72	4,79±0,53	5,86±0,24
Естери холестеролу	12,23±1,08	13,17±0,56	12,91±0,66
НЕЖК	6,60±0,52	5,89±0,43	4,88±0,45*
Триацилгліцероли	7,97±1,09	7,36±0,51	7,51±0,79
Діацилгліцероли	5,53±1,27	6,10±0,57	5,87±0,55
Через 75 діб від початку введення			
Загальні ліпіди, в т.ч. фракції:	64,42±4,61	67,23±3,88	67,81±4,32
Фосфоліпіди	25,64±1,86	29,32±1,88	28,75±2,15
Холестерол	6,20±0,63	5,30±0,37	5,29±0,29
Естери холестеролу	13,80±1,34	14,91±0,58	15,18±1,23
НЕЖК	5,28±0,35	4,13±0,31*	4,22±0,20*
Триацилгліцероли	7,50±0,80	7,38±0,52	7,75±0,34
Діацилгліцероли	6,00±0,41	6,20±0,55	6,61±0,79

Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4
Через 22 доби після закінчення введення			
Загальні ліпіди, в т.ч. фракції:	66,36±4,35	71,17±2,60*	72,44±3,00
Фосфоліпіди	26,52±1,25	30,88±1,24*	31,23±1,35*
Холестерол	6,20±0,48	5,66±0,37	5,86±0,38
Естери холестеролу	13,96±1,76	15,01±0,21	15,00±0,74
НЕЖК	5,94±0,33	4,68±0,35*	4,82±0,31*
Триацилгліцероли	7,69±0,62	8,43±0,91	8,64±0,69
Діацилгліцероли	6,03±0,38	6,51±0,52	6,88±0,23

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

Так, вміст фосфоліпідів збільшується у спермі бугаїв обох дослідних груп: 2-ї через 27 діб від початку введення карнітину – на 6,6 %, через 75 діб – на 14,3 %, а через 22 доби після закінчення його введення – на 16,4 % ( $p < 0,05$ ); 3-ї групи – на 11 %, 12,1 та 17,8 % ( $p < 0,05$ ) відповідно у вказані періоди досліду, порівняно до контролю. Слід відмітити, що вірогідне збільшення вмісту фосфоліпідів було зафіксоване після повного циклу сперматогенезу в організмі бугаїв-плідників.

У спермі бугаїв встановили, що вміст фосфоліпідів обернено корелює із вмістом холестеролу ( $r = -0,74$ ), фосфатидної кислоти ( $r = -0,61$ ), дієнових кон'югатів ( $r = -0,64$ ) і ТБК-активних продуктів ( $r = -0,62$ ) та прямо – з активністю глутатіонпероксидази ( $r = 0,55$ ). Очевидно, це свідчить про те, що у спермі процесам ліпопероксидації піддаються в першу чергу фосфоліпіди.

За дії згодовуваної добавки зазнає змін вміст вільного та естерифікованого холестеролу в спермі бугаїв, хоча вірогідністю ці результати не відзначаються. Встановлено, що після 75-денного введення 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 її у кількості 40 г/гол, а вміст естерів холестеролу набуває, навпаки, більших значень на 8 та 10 %

відповідно, у порівнянні з даними контролю. Подібна тенденція зберігалась до завершення досліджу. Спостерігається корелятивна залежність між вмістом холестеролу та активністю каталази ( $r=-0,84$ ), глутатіонпероксидази ( $r=-0,80$ ), вмістом гідропероксидів ліпідів ( $r=0,52$ ) і ТБК-активних продуктів ( $r=0,69$ ).

У спермі бугаїв, що отримували вітаміноподібну добавку, встановлено зниження вмісту неестерифікованих жирних кислот. Вже через 27 діб введення L-карнітину в кількості та 40 г/гол. було відмічено зниження вмісту НЕЖК на 10,8 та 26,1 % ( $p<0,05$ ) відповідно проти показників контролю. Через 75 днів введення карнітину вміст НЕЖК у 2-й та 3-й групах має вірогідно ( $p<0,05$ ) нижчі значення на 21,8 та 20,1 % проти показників у контрольній групі. Приблизно такі ж кількісні зміни збереглись у спермі дослідних бугаїв через 22 доби після закінчення згодовування добавки, що свідчить про її пролонгований ефект.

За дії L-карнітину статистично достовірної різниці в кількості ді- та триацилгліцеролів у спермі бугаїв протягом усього дослідного періоду не реєстрували.

Більш інформативним стосовно впливу досліджуваної добавки на ліпідний склад сперми є аналіз відсоткового вмісту окремих фракцій у складі загальних ліпідів по періодах досліджу. Так, на першому етапі досліджень (рис. 3.2) у спермі бугаїв обох дослідних груп, порівняно до контрольної, вірогідно знижується вміст неестерифікованих жирних кислот.

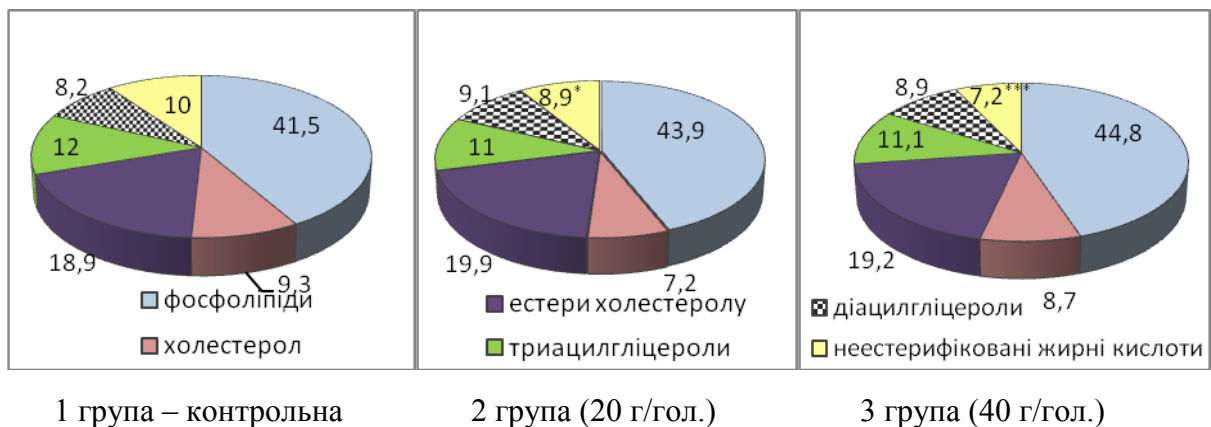


Рис. 3.2. Ліпідний склад сперми бугаїв через 27 діб введення L-карнітину, %



Частка фосфоліпідів за дії карнітину на даному етапі досліджень виявляє тенденцію до збільшення. У розподілі інших ліпідних фракцій відбулись незначні зміни.

У ході досліджу, через 75 діб (рис. 3.3) від початку введення L-карнітину, у спермі дослідних бугаїв спостерігається вірогідне збільшення відносного вмісту фосфоліпідів на фоні вірогідного зменшення вмісту холестеролу та НЕЖК, у порівнянні із відповідними показниками у контрольній групі тварин. Інші ліпідні фракції у спермі бугаїв незначно відрізняються між собою.

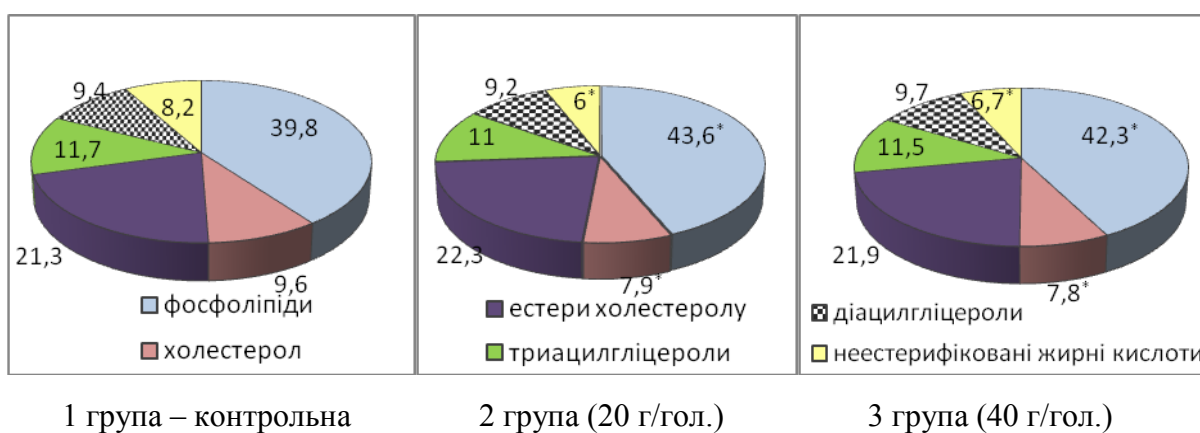


Рис. 3.3. Ліпідний склад сперми бугаїв через 75 діб введення L-карнітину, %

Встановлена протягом усього періоду згодовування карнітину тенденція щодо змін показників ліпідного складу сперми збереглась і було відмічено пролонгований ефект даної добавки (рис. 3.4).



Рис. 3.4. Ліпідний склад сперми бугаїв через 22 доби після закінчення введення L-карнітину, %

Встановлено обернену кореляцію між вмістом неестерифікованих жирних кислот та вмістом фосфоліпідів ( $r=-0,52$ ), активністю каталази ( $r=-0,50$ ) та позитивну – із вмістом дієнових кон'югатів ( $r=0,60$ ) у спермі бугаїв.

Суттєвої різниці в розподілі інших ліпідних фракцій залежно від згодовуваної добавки в спермі плідників не виявлено.

Таким чином, проведені дослідження свідчать, що вміст загальних ліпідів та співвідношення окремих їх класів у спермі бугаїв не є сталими показниками, вони залежать від годівлі та функціонального стану організму.

Оскільки плазма крові належить до найважливіших рідин із транспорту різних метаболітів ліпідного обміну, то вміст ліпідів у ній є дуже цінним інформативним показником для оцінки ліпідного обміну в організмі тварин загалом. Зміни вмісту ліпідів та їх фракцій у крові дослідних бугаїв-плідників подібні до таких у спермі: відмічається вірогідне збільшення вмісту фосфоліпідів, естерифікованого холестеролу на фоні зменшення вмісту холестеролу та неестерифікованих жирних кислот (табл. 3.2).

Проведеними нами дослідженнями встановлено, що у сироватці крові бугаїв дослідних груп встановлено незначне збільшення вмісту загальних ліпідів, хоча вірогідними результати виявились тільки у 3-й групі тварин, що отримували 40 г/гол. Карніпасу. Більш виражених кількісних змін зазнали окремі фракції ліпідів.

У сироватці крові дослідних бугаїв за введення L-карнітину відмічено збільшення абсолютного вмісту фосфоліпідів: у 2-й групі – на 18,2 % ( $p<0,01$ ) та у 3-й групі – на 20,6 % ( $p<0,001$ ), проти контрольних показників. Встановлено корелятивні зв'язки між вмістом фосфоліпідів та вмістом холестеролу ( $r=-0,69$ ), триацилгліцеролів ( $r=-0,60$ ) і неестерифікованих жирних кислот ( $r=-0,67$ ) у сироватці крові бугаїв.

Вміст холестеролу в сироватці крові бугаїв 2-ї та 3-ї дослідних груп через 75 діб згодовування карнітину знижується на 30,2 % ( $p<0,01$ ) та 27,3 % ( $p<0,05$ ) на фоні збільшення вмісту естерифікованих його форм на

8,4 % ( $p < 0,05$ ) та 9,8 % ( $p < 0,01$ ) відповідно, порівняно до показників контрольної групи.

Таблиця 3.2

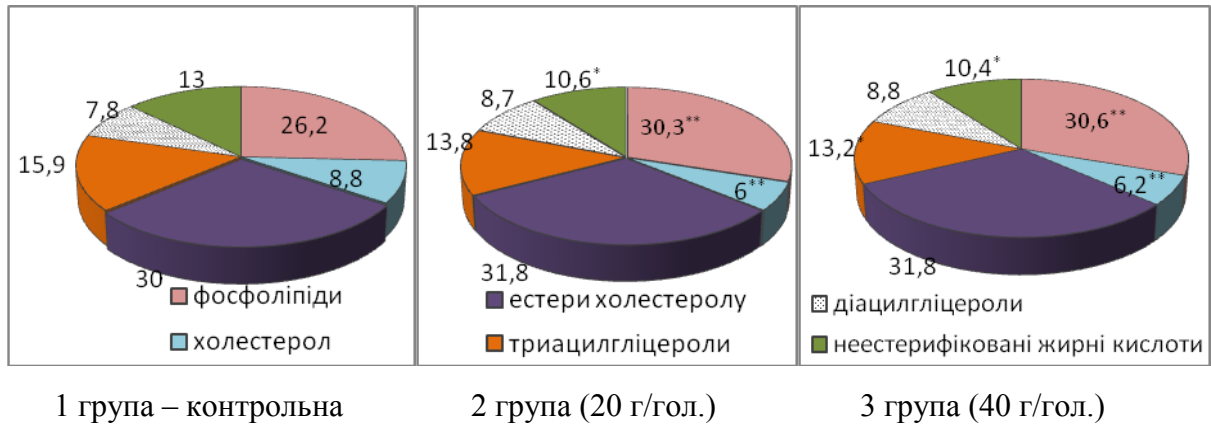
**Вміст ліпідів у крові бугаїв-плідників за дії L-карнітину,  
мг/100 мл ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )**

Показник	Група бугаїв		
	1 – контрольна	2 – дослідна (20 г/гол.)	3 – дослідна (40 г/гол.)
До введення			
Загальні ліпіди, в т.ч. фракції:	267,76 $\pm$ 3,84	262,94 $\pm$ 3,39	265,45 $\pm$ 4,87
Фосфоліпіди	65,58 $\pm$ 1,30	63,41 $\pm$ 3,31	66,05 $\pm$ 4,35
Холестерол	23,52 $\pm$ 1,58	21,68 $\pm$ 1,47	21,93 $\pm$ 2,14
Естери холестеролу	78,64 $\pm$ 2,48	74,70 $\pm$ 2,14	78,28 $\pm$ 3,76
НЕЖК	22,34 $\pm$ 1,71	24,78 $\pm$ 1,56	22,37 $\pm$ 0,81
Триацилгліцероли	48,47 $\pm$ 4,64	51,79 $\pm$ 1,84	47,78 $\pm$ 2,52
Діацилгліцероли	29,20 $\pm$ 1,87	26,58 $\pm$ 0,60	29,04 $\pm$ 0,70
Через 75 діб від початку введення			
Загальні ліпіди, в т.ч. фракції:	270,97 $\pm$ 2,79	277,29 $\pm$ 3,05	280,50 $\pm$ 1,93*
Фосфоліпіди	71,08 $\pm$ 1,21	84,04 $\pm$ 2,96**	85,74 $\pm$ 1,56***
Холестерол	23,89 $\pm$ 1,52	16,68 $\pm$ 1,15**	17,38 $\pm$ 1,03*
Естери холестеролу	81,27 $\pm$ 1,02	88,09 $\pm$ 2,45*	89,23 $\pm$ 1,43**
НЕЖК	30,44 $\pm$ 1,03	25,90 $\pm$ 1,53*	26,32 $\pm$ 1,28*
Триацилгліцероли	43,24 $\pm$ 2,82	38,36 $\pm$ 1,10	37,06 $\pm$ 1,67
Діацилгліцероли	21,05 $\pm$ 2,04	24,21 $\pm$ 1,36	24,76 $\pm$ 1,45

Сироватка крові характеризується сильним позитивним корелятивним зв'язком між вмістом холестеролу та ТБК-активними продуктами ( $r=0,72$ ), середнім позитивним – із триацилгліцеролами ( $r=0,56$ ).

Відносна кількість неестерифікованих жирних кислот у крові бугаїв за дії L-карнітину вірогідно зменшується (рис. 3.5). Так, застосування вищевказаної добавки дослідним тваринам протягом 75 діб в кількості 20 та 40 г/гол. забезпечило вірогідне ( $p < 0,05$ ) зменшення вмісту неестерифі-

кованих жирних кислот до рівня 10,6 та 10,4 % відповідно, у порівнянні з 13 % у контрольній групі. У крові встановлено обернено пропорційну кореляційну залежність між вмістом неестерифікованих жирних кислот і фосфоліпідами ( $r=-0,69$ ), активністю глутатіонпероксидази ( $r=-0,76$ ) та прямо пропорційну – із вмістом гідропероксидів ліпідів ( $r=0,51$ ), дієнових кон'югатів ( $r=0,65$ ), ТБК-активних продуктів ( $r=0,50$ ).



**Рис. 3.5. Ліпідний склад сироватки крові бугаїв через 75 дів введення L-карнітину, %**

У сироватці крові дослідних тварин за дії карнітину відмічається тенденція до зниження відносної кількості триацилгліцеролів на фоні підвищення вмісту діацилгліцеролів, що, очевидно, пов'язано з процесами ліполізу.

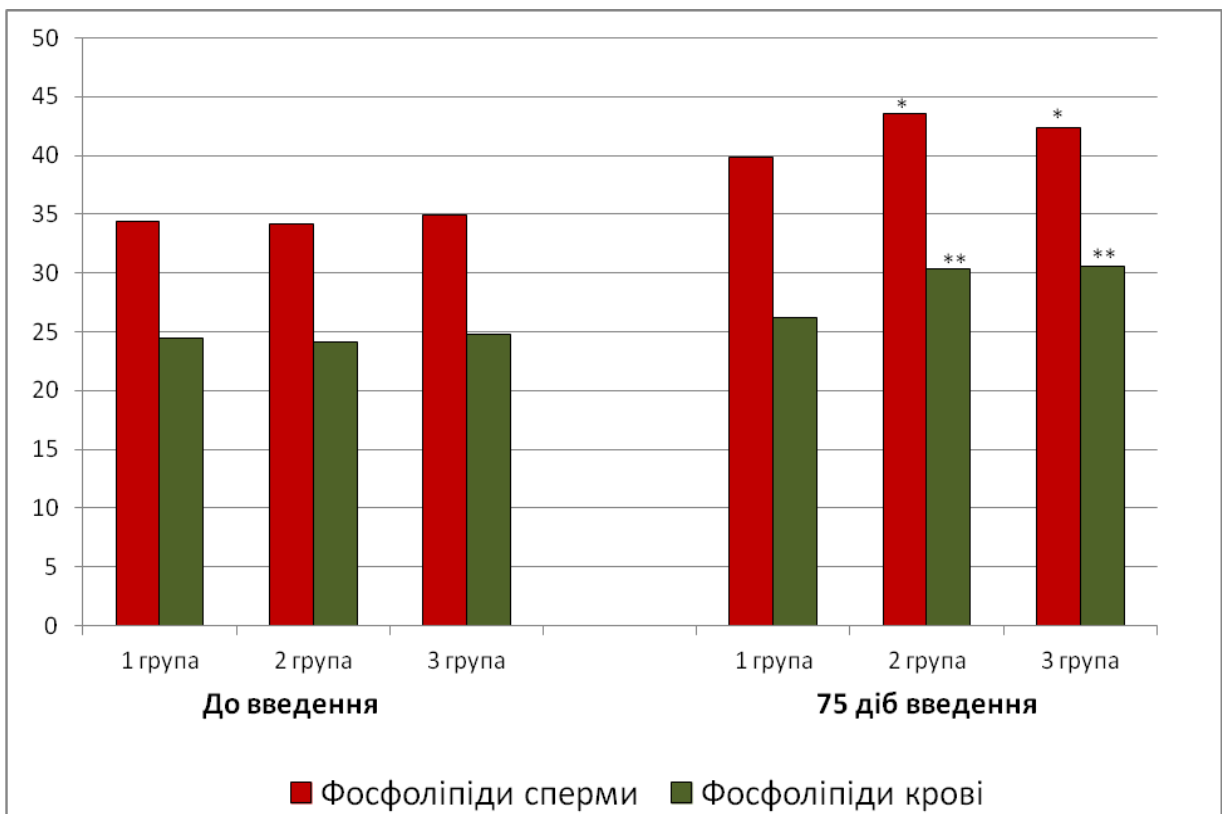
Застосування L-карнітину спричинило вірогідне збільшення відносного вмісту фосфоліпідів у сироватці крові бугаїв 2-ї та 3-ї груп, у порівнянні з даними контролю. Паралельно відмічено достовірне зменшення вмісту холестеролу та НЕЖК в обох дослідних групах, при чому ефект дії не посилювався зі збільшенням кількості добавки.

Аналізуючи відносний вміст фракцій ліпідів можна засвідчити, що у спермі та крові бугаїв найбільшу частку займають фосфоліпіди, що, очевидно пов'язано із їх пластичною функцією.

Фосфоліпіди є найважливішими компонентами клітинних мембран, посередниками в процесах біотрансформації гуморальних сигналів, деякі

продукти їх метаболізму можуть мати цитотоксичний ефект, а також слугувати попередниками для високоактивних молекул – регуляторів. Фосфоліпіди є необхідним пластичним матеріалом усіх субклітинних структур, ліпопротеїдних комплексів, беруть безпосередню участь у здійсненні важливих біологічних функцій [59].

На рис. 3.6. показано зміни відносного відсоткового вмісту фосфоліпідів у спермі та крові бугаїв за дії досліджуваної добавки.



**Рис. 3.6. Відносний вміст фосфоліпідів у спермі та крові бугаїв за додавання L-карнітину, % (M±m; n=4)**

Відмічено, що ефект впливу різних доз L-карнітину на вказані ліпідні фракції приблизно однаковий як у спермі, так і у крові й спричиняє вірогідне збільшення частки фосфоліпідів, причому їх відносний вміст у спермі переважає такий у сироватці крові бугаїв.

Встановлено прямий корелятивний зв'язок середньої сили ( $r=0,67$ ) між вмістом фосфоліпідів сперми та крові бугаїв. Ймовірно, збільшення кількості фосфоліпідів у вказаних біологічних рідинах пов'язане з впливом карнітину

на процеси їх синтезу та пероксидації, оскільки саме вони є основним субстратом даного процесу.

Застосування L-карнітину спричинило не тільки зміни у співвідношенні між окремими класами загальних ліпідів у спермі та крові бугаїв, але й у фракційному складі фосфоліпідів.

Методом тонкошарової хроматографії у спермі та крові бугаїв було виявлено сім класів фосфоліпідів: лізофосфатидилхолін, сфінгомієлін, фосфатидилхолін, фосфатидилетаноламін, фосфатидилсерин, фосфатидилінозитол та кардіоліпін (табл. 3.3). Із даних таблиці видно значні міжгрупові відмінності у фракційному складі фосфоліпідів за дії досліджуваної добавки.

На початку досліджу загальний рівень фосфоліпідів у спермі майже однаковий у всіх групах бугаїв, але за дії L-карнітину відмічалось поступове збільшення їх умісту, переважно за рахунок фракцій фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну та кардіоліпіну.

Таблиця 3.3

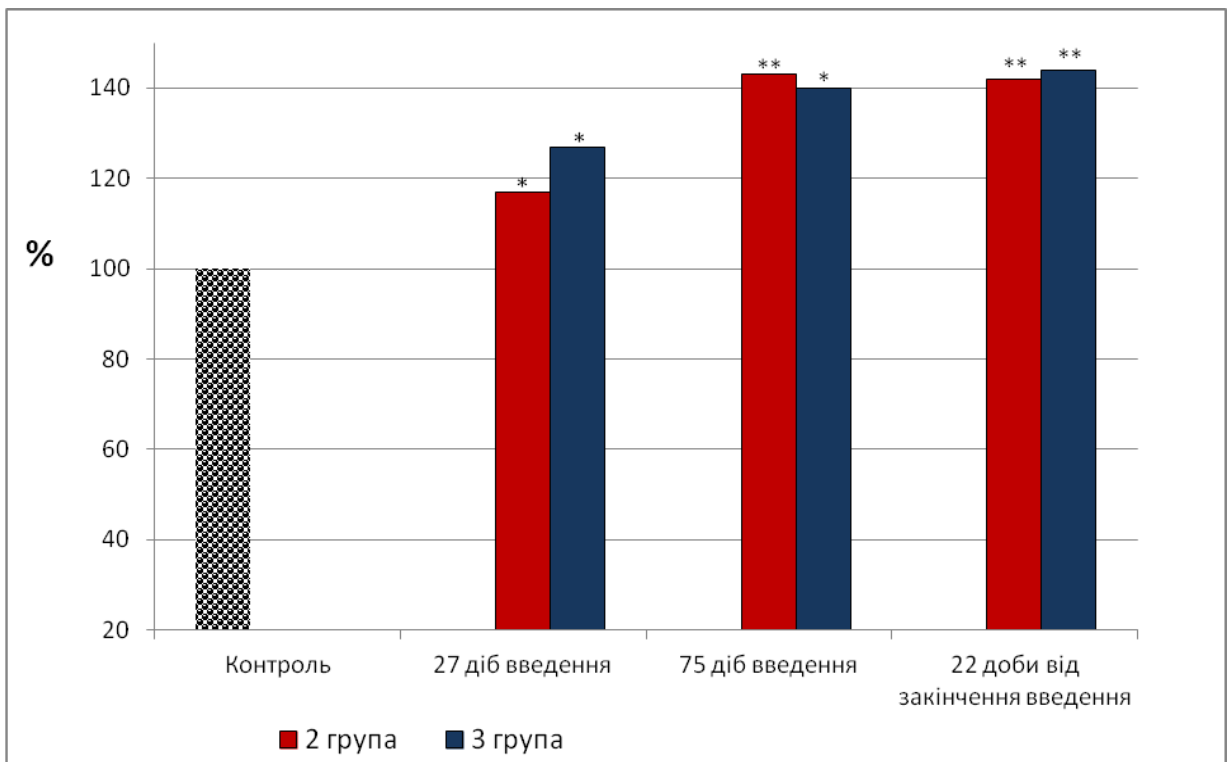
**Вміст фосфоліпідів та їх фракцій у спермі бугаїв-плідників  
за дії L-карнітину, мг/100 мл (M±m; n=4)**

Показник	Група бугаїв		
	1 – контрольна	2 – дослідна (20 г/гол.)	3 – дослідна (40 г/гол.)
1	2	3	4
До введення			
Фосфоліпідів в т.ч. фракції:	23,24±2,32	22,63±1,79	23,15±1,92
Лізофосфатидилхолін	1,61±0,24	1,59±0,40	1,52±0,19
Сфінгомієлін	1,67±0,21	1,55±0,05	1,46±0,17
Фосфатилсерин	1,73±0,25	1,66±0,20	1,65±0,15
Фосфатидилхолін	1,54±0,12	1,47±0,12	1,57±0,26
Фосфатидилінозитол	1,67±0,26	1,61±0,11	1,71±0,30
Фосфатидилетаноламін	2,32±0,27	1,91±0,23	2,11±0,27
Кардіоліпін	3,68±0,32	3,55±0,35	3,65±0,33
Фосфатидна кислота	9,01±0,81	9,30±0,92	9,48±0,76

## Продовження таблиці 3.3

1	2	3	4
Через 27 діб від початку введення			
Фосфоліпіди в т.ч. фракції:	27,26±2,08	29,06±1,08	30,26±2,74
Лізофосфатидилхолін	2,24±0,32	2,25±0,18	2,35±0,27
Сфінгомієлін	2,07±0,28	2,29±0,12	2,41±0,30
Фосфатилсерин	1,84±0,19	2,04±0,13	2,36±0,41
Фосфатидилхолін	2,11±0,11	2,46±0,05*	2,68±0,16*
Фосфатидилінозитол	3,21±0,27	3,31±0,10	3,34±0,24
Фосфатидилетаноламін	3,18±0,28	3,73±0,28	3,86±0,29
Кардіоліпін	3,56±0,21	3,77±0,21	3,63±0,36
Фосфатидна кислота	9,06±0,52	9,20±0,35	9,62±0,89
Через 75 діб від початку введення			
Фосфоліпіди в т.ч. фракції:	25,64±1,86	29,32±1,88	28,75±2,15
Лізофосфатидилхолін	2,05±0,12	2,03±0,15	2,09±0,16
Сфінгомієлін	1,93±0,20	2,35±0,17	2,25±0,19
Фосфатилсерин	1,97±0,23	2,16±0,15	2,14±0,16
Фосфатидилхолін	1,62±0,12	2,32±0,14**	2,26±0,17*
Фосфатидилінозитол	3,02±0,27	3,30±0,23	3,18±0,21
Фосфатидилетаноламін	3,13±0,22	3,88±0,21*	3,70±0,30
Кардіоліпін	3,53±0,20	4,21±0,19*	4,13±0,24
Фосфатидна кислота	8,39±0,64	9,06±0,57	9,00±0,62
Через 22 доби після закінчення введення			
Фосфоліпіди в т.ч. фракції:	26,52±1,25	30,88±1,24*	31,23±1,35*
Лізофосфатидилхолін	2,11±0,09	2,16±0,08	2,18±0,11
Сфінгомієлін	1,98±0,14	2,33±0,07	2,41±0,16
Фосфатилсерин	2,01±0,19	2,30±0,09	2,34±0,10
Фосфатидилхолін	1,70±0,10	2,41±0,13**	2,45±0,11**
Фосфатидилінозитол	3,08±0,22	3,48±0,16	3,52±0,12
Фосфатидилетаноламін	3,21±0,15	4,04±0,25*	4,10±0,21*
Кардіоліпін	3,71±0,17	4,46±0,20*	4,52±0,28*
Фосфатидна кислота	8,73±0,49	9,67±0,51	9,71±0,47

Найбільших змін за дії карнітину на усіх етапах досліджень зазнав абсолютний вміст фосфатидилхоліну в спермі дослідних бугаїв (рис. 3.7). Протягом першого етапу досліджень встановлено, із найнижчим рівнем вірогідності ( $p < 0,05$ ), збільшення за дії L-карнітину абсолютного вмісту фосфатидилхоліну в спермі бугаїв 2-ї та 3-ї груп на 16,6 та 27 % відповідно, порівняно до контролю. Вірогідних змін вмісту інших фосфоліпідних фракцій у спермі бугаїв за вказаний період не виявлено.



**Рис. 3.7. Зміни вмісту фосфатидилхоліну в спермі бугаїв за дії L-карнітину, % до контролю ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )**

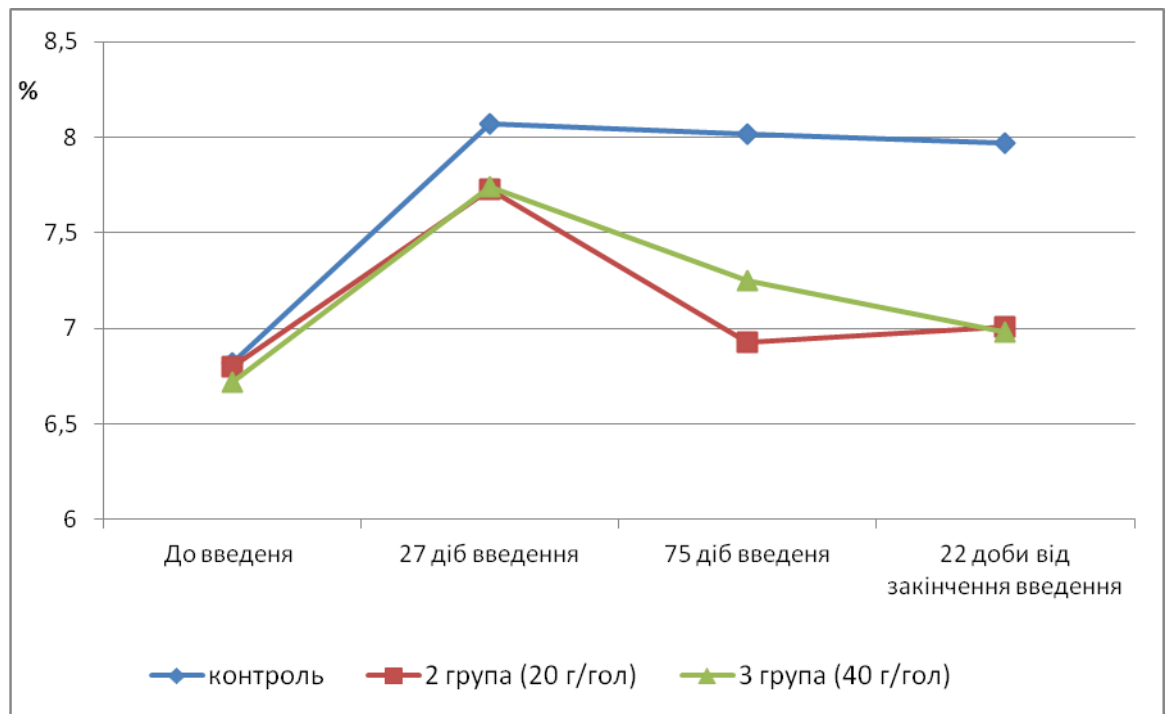
Через 75 днів від початку введення досліджуваної добавки (період повного циклу сперматогенезу) було виявлено подальше збільшення абсолютного вмісту фосфатидилхоліну на 43,2 % ( $p < 0,01$ ) і 39,5 % ( $p < 0,05$ ) з паралельним збільшенням фосфатидилетаноламіну на 24 % ( $p < 0,05$ ) і 18,2 %, а також кардіоліпіну – на 19,3 % ( $p < 0,05$ ) і 17 % у 2-й і 3-й групах відповідно у порівнянні із контрольною. Вірогідно вищими вказані



фосфоліпідні фракції були і після 22 діб по завершенню згодовування карнітину.

Відмічено, що вміст фосфатидилхоліну перебуває у прямій кореляційній залежності із фосфатидилетаноламіном ( $r=0,61$ ), активністю глутатіонпероксидази ( $r=0,81$ ), каталази ( $r=0,88$ ) та в оберненій – із вмістом лізофосфатидилхоліну ( $r=-0,73$ ), фосфатидної кислоти ( $r=-0,50$ ), неестерифікованих жирних кислот ( $r=-0,62$ ), гідропероксидів ліпідів ( $r=-0,85$ ) і ТБК-активних продуктів ( $r=-0,90$ ) у спермі бугаїв.

Встановлена обернена залежність між відносним вмістом фосфатидилхоліну та лізофосфатидилхоліну сперми бугаїв, ймовірно, є наслідком зниження активності фосфоліпази  $A_2$ , ферменту, що каталізує гідроліз фосфатидилхоліну з утворенням фосфатидної кислоти [167]. Цю думку підтверджує достовірне зниження у спермі дослідних тварин відносного вмісту кінцевого продукту ферментативного гідролізу фосфатидилхоліну – лізофосфатидилхоліну (рис. 3.8).



**Рис. 3.8. Відносний вміст лізофосфатидилхоліну в спермі бугаїв за дії L-карнітину, % ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )**

На початковому етапі досліджень відносний вміст лізофосфатидилхоліну в усіх групах мав приблизно однакове значення, проте через 27 діб введення L-карнітину було встановлено збільшення вмісту даної фосфоліпідної фракції в усіх групах, що, ймовірно, пов'язано з різким підвищенням середньодобової температури повітря. Відносний вміст лізофосфатидилхоліну сперми бугаїв через 75 діб від початку введення Карніпасу вірогідно ( $p < 0,05$ ) знижується в обох дослідних групах тварин, причому більш виражений ефект отримано у спермі бугаїв, що отримували 20 г/гол. вищевказаної добавки, порівняно з її кількістю в 40 г/гол. При цьому пролонгований ефект обох досліджуваних доз L-карнітину був майже рівноцінний і проявився вірогідним ( $p < 0,01$ ) зниженням лізофосфатидилхоліну, порівняно з контролем.

Сперма бугаїв-плідників характеризується обернено пропорційною кореляційною залежністю між вмістом лізофосфатидилхоліну та глутатіонпероксидазною активністю ( $r = -0,65$ ) і прямо пропорційною – із вмістом ТБК-активних продуктів ( $r = 0,73$ ).

Протягом періоду дослідження прослідковувалась тенденція до зменшення в спермі бугаїв 2-ї та 3-ї груп відсоткового вмісту фосфатидної кислоти, що наприкінці дослідження проявилась вірогідним її зменшенням на 4,8 % ( $p < 0,05$ ) та 5,5 % ( $p < 0,01$ ) відповідно, порівняно до контролю.

Слід відмітити, що у складі фосфоліпідів (рис. 3.9) сперми бугаїв значну частку займає відносний вміст кардіоліпіну – специфічного мітохондріального фосфоліпіду, який протягом дослідного періоду в 2-й та 3-й групах за введення L-карнітину проявляє тенденцію до збільшення й має майже однакові показники в цих групах, що становить 14,3 %.

Відносний вміст фосфатидилетаноламіну в спермі бугаїв зазнав незначного зростання за дії L-карнітину. Так, у спермі тварин 2-ї та 3-ї груп вже через 27 діб введення досліджуваної добавки значення вказаного показника збільшилось до рівня 12,8 %, через 75 діб становило 13,2 та 12,9 % відповідно, а через 22 доби після закінчення згодовування було встановлено вірогідне збільшення даного показника, порівняно до контролю.

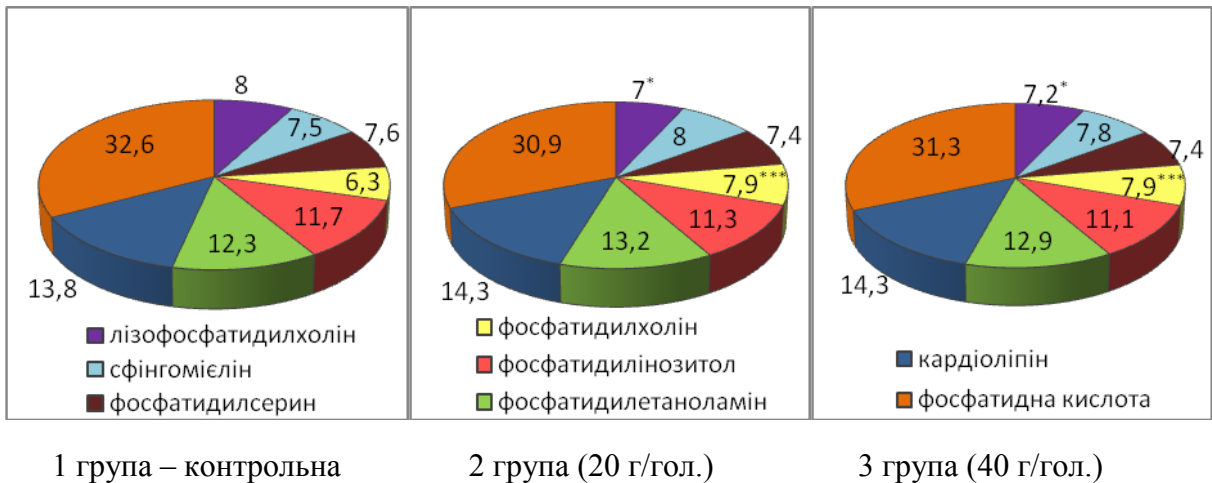


Рис. 3.9. Фосфоліпідний склад сперми бугаїв через 75 діб введення L-карнітину, %

У спермі відмічається помірна пряма кореляційна залежність між вмістом фосфатидилетаноламіну та фосфатидилхоліну ( $r=0,61$ ), а також помірна обернена – із вмістом неестерифікованих жирних кислот ( $r=-0,68$ ), фосфатидної кислоти ( $r=-0,50$ ) та активністю супероксиддисмутази ( $r=-0,62$ ).

Зміни відносного вмісту фракцій фосфоліпідів у спермі були подібні до їх динаміки в крові плідників.

За дії L-карнітину в крові бугаїв було відмічено вірогідне дозозалежне збільшення абсолютного вмісту фосфоліпідів переважно за рахунок фракцій сфінгомієліну, фосфатидилхоліну, фосфатидилінозитулу, фосфатидилетаноламіну та кардіоліпіну (табл. 3.4). Так, через 75 діб згодовування карнітину плазма крові бугаїв дослідних (2-ї та 3-ї) груп характеризувалась вищим, у порівнянні з контролем, абсолютним вмістом: сфінгомієліну – на 33,5 % ( $p<0,05$ ) та 26,6 % ( $p<0,05$ ); фосфатидилхоліну – на 71,6 % ( $p<0,001$ ) та 66,7 % ( $p<0,001$ ); фосфатидилінозитулу – на 14,6 % ( $p<0,01$ ) та 15,2 % ( $p<0,01$ ); фосфатидилетаноламіну – на 25,2 % ( $p<0,001$ ) та 25,8 % ( $p<0,001$ ); кардіоліпіну – на 23,5 % ( $p<0,01$ ) та 38,1 % ( $p<0,01$ ). Абсолютний вміст фосфатидної кислоти збільшився на 7,3 % – у сироватці крові бугаїв, що отримували 20 г/гол. Карніпасу та на 9,5 % ( $p<0,05$ ) – за згодовування 40 г/гол. у порівнянні з даними контролю.

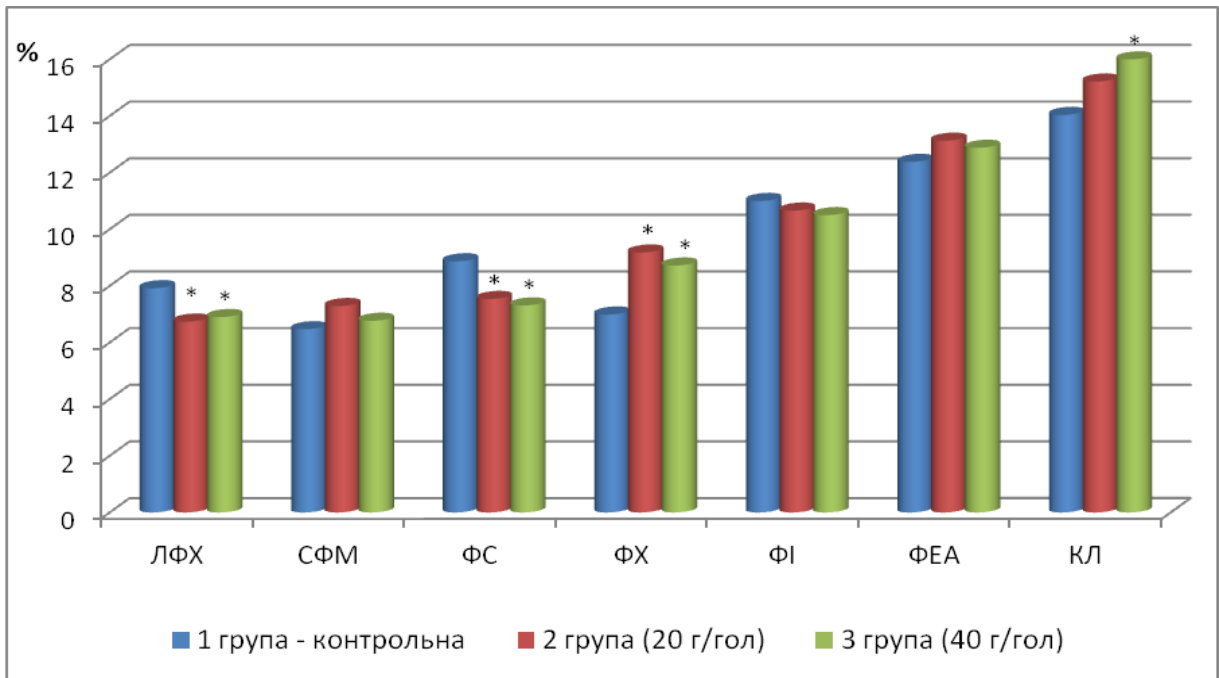
Таблиця 3.4

**Вміст фракцій фосфоліпідів у крові бугаїв за дії  
L-карнітину, мг/100 мл ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )**

Показник	Група бугаїв		
	1 – контрольна	2 – дослідна (20 г/гол.)	3 – дослідна (40 г/гол.)
До введення			
Фосфоліпідів в т.ч. фракції:	65,58±1,30	63,41±3,31	66,05±4,35
Лізофосфатидилхолін	5,68±0,35	5,66±0,58	5,80±0,71
Сфінгомелін	5,35±0,65	5,01±0,55	5,90±0,79
Фосфатидилсерин	6,01±0,60	7,17±1,10	6,07±0,46
Фосфатидилхолін	5,67±0,35	5,37±0,53	5,67±1,01
Фосфатидилінозитол	6,07±0,70	6,48±0,79	5,93±0,67
Фосфатидилетаноламін	6,86±0,52	5,89±0,55	6,81±1,10
Кардіоліпін	9,14±0,83	8,50±0,98	8,62±1,02
Фосфатидна кислота	20,83±0,56	20,32±1,55	21,25±2,14
Через 75 діб від початку введення			
Фосфоліпідів в т.ч. фракції:	71,08±1,21	84,04±2,96**	85,74±1,56***
Лізофосфатидилхолін	5,28±0,18	5,45±0,26	5,68±0,16
Сфінгомелін	4,59±0,30	6,13±0,35*	5,81±0,39*
Фосфатидилсерин	5,95±0,30	6,34±0,35	6,25±0,21
Фосфатидилхолін	4,62±0,21	7,93±0,42***	7,70±0,41***
Фосфатидилінозитол	7,81±0,12	8,95±0,28**	9,00±0,16**
Фосфатидилетаноламін	8,79±0,13	11,01±0,23***	11,06±0,35***
Кардіоліпін	10,34±0,27	12,77±0,41**	14,28±0,97**
Фосфатидна кислота	23,70±0,72	25,44±0,89	25,96±0,57*

Відносний вміст фракцій фосфоліпідів у крові відображає зміни співвідношення груп молекул та їх перерозподіл в межах даного класу речовин (рис. 3.10). Так, по проходженню 75 діб від початку введення досліджуваної добавки відносний вміст лізофосфатидилхоліну та

фосфатидилсерину в крові дослідних тварин вірогідно ( $p < 0,05$ ) зменшується, у порівнянні з аналогічними показниками контролю.



**Рис. 3.10. Відносний вміст фракцій фосфоліпідів у крові бугаїв за дії L-карнітину, % ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )**

Кров бугаїв характеризується помірним прямим корелятивним зв'язком між вмістом фосфатидилсерину та неестерифікованими жирними кислотами ( $r=0,63$ ) і ТБК-активними продуктами ( $r=0,51$ ), а також помірним оберненим – із вмістом фосфатидилхоліну ( $r=-0,69$ ) і активністю глутатіонпероксидази ( $r=-0,50$ ). Відмічено обернено пропорційну кореляцію між вмістом лізофосфатидилхоліну та фосфатидилхоліну ( $r=-0,82$ ) та прямо пропорційну – із вмістом гідропероксидів ліпідів ( $r=0,60$ ), ТБК-активних продуктів ( $r=0,53$ ) у крові.

Відносна кількість фосфатидилхоліну за дії L-карнітину вірогідно ( $p < 0,05$ ) збільшується в обох дослідних групах, порівняно до контрольних показників. У крові спостерігається висока пряма корелятивна залежність між вмістом фосфатидилхоліну й активністю глутатіонпероксидази ( $r=0,72$ ), помірна обернена – із активністю супероксиддисмутази ( $r=-0,55$ ), сильна обернена – із вмістом лізофосфатидилхоліну ( $r=-0,82$ ), ТБК-активних продуктів ( $r=-0,80$ ).

Зареєстровано тенденцію до збільшення відносного вмісту кардіоліпіну в сироватці крові бугаїв, що отримували 20 г/гол. Карніпасу та вірогідне ( $p < 0,05$ ) збільшення – у групі тварин, що отримували його в дозі 40 г/гол., порівняно з контролем. При цьому в крові спостерігається обернена корелятивна залежність між вмістом кардіоліпіну та фосфатидилсерину ( $r = -0,61$ ), активністю супероксиддисмутази ( $r = -0,72$ ), вмістом дієнових кон'югатів ( $r = -0,73$ ).

У розподілі інших фосфоліпідних фракцій крові плідників залежно від згодовування досліджуваної добавки, суттєвої різниці не виявлено.

Таким чином, сперма та кров бугаїв-плідників характеризується певними особливостями відносного кількісного складу загальних ліпідів та фракцій фосфоліпідів, які зазнавали змін в ході досліджу. За дії L-карнітину, що згодовувався в захищеній формі у вигляді добавки до раціону «Карніпас», у спермі та крові дослідних тварин спостерігається вірогідне зниження вмісту неестерифікованих жирних кислот та холестеролу, натомість вірогідно зростає відносний вміст фосфоліпідів, що, ймовірно, зумовлено використанням та утилізацією жирних кислот для енергетичних потреб або включенням їх до складу фосфоліпідів мембран, у тому числі сперміїв. При цьому вміст фосфоліпідів у спермі та крові зростає, переважно, за рахунок збільшення в їх складі фракцій фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну та кардіоліпіну.

Вказані зміни тісно пов'язані з активністю ферментів антиоксидантного захисту та інтенсивністю пероксидного окиснення ліпідів, що підтверджується встановленими корелятивними зв'язками.

З одержаних результатів випливає, що додаткове введення карнітину до складу раціону бугаїв є фактором оптимізації процесів ліпідного обміну в організмі тварин, про що свідчить підвищення рівня загальних ліпідів і фосфоліпідів у крові та спермі.

Основні наукові результати розділу опубліковані в статтях [65, 220].

### **3.2. Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у спермі та крові бугаїв за згодовування L-карнітину**

Одним із найпоширеніших видів вільнорадикальних реакцій у клітинах живих організмів є пероксидне окиснення ліпідів, що, головним чином, відбувається в ліпідних структурах мембран і відіграє одну з провідних ролей у забезпеченні багатьох фізіологічних та патологічних процесів [12, 111]. Накопичення продуктів ПОЛ у спермі та крові відмічалось за знижених рухливості та виживання сперміїв, олігоспермії та аспермії, що підтверджує теорію про гальмівну їх дію на активність сперміїв [140, 170].

Для оцінки інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів і стану антиоксидантної системи було вивчено вплив різних доз L-карнітину на концентрацію гідропероксидів ліпідів, дієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів, а також активність ферментів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази) у спермі та плазмі крові.

Результатами проведених досліджень доведено, що інтенсивність процесів ПОЛ в організмі впливає на показники якості сперми та виживання сперміїв. За згодовування бугаям Карніпасу в кількостях 20 та 40 г/гол., інтенсивність вільнорадикальних процесів у спермі знижується. Про це свідчить зменшення кількості первинних і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (табл. 3.5).

У результаті проведених досліджень встановлено, що рівень гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) у спермі бугаїв через 27 діб від початку введення добавки у 2-й та 3-й групах знижується на 28,6 % ( $p < 0,05$ ) та 17,6 % відповідно, порівняно з показниками контрольної групи. Після 75-добового згодовування препарату кількість ГПЛ знижується у всіх групах, порівняно з попереднім періодом досліджень: у 1-й групі – на 37,6 %, у 2-й – на 46,9 % та у 3-й – на 55,4 %. У цей період досліду встановлено вірогідне ( $p < 0,01$ ) зниження даного показника в 1,6 та 1,7 разу в 2-й та 3-й групах відповідно проти контрольного.

Таблиця 3.5

**Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у спермі  
бугаїв за дії L-карнітину (M±m; n=4)**

Група бугаїв	Дієнові кон'югати (мкмоль/мл)	Гідропероксиди ліпідів (ΔE <sub>480</sub> /мл)	ТБК-активні продукти (нмоль/мл)
До введення			
1 – контрольна	155,03±3,85	2,07±0,09	1,99±0,30
2 – дослідна (20 г/гол.)	154,84±8,24	1,85±0,19	2,04±0,38
3 – дослідна (40 г/гол.)	152,50±8,10	1,92±0,11	2,11±0,21
Через 27 діб від початку введення			
1 – контрольна	175,17±9,14	2,45±0,17	2,24±0,18
2 – дослідна (20 г/гол.)	179,84±8,06	1,75±0,18*	1,92±0,24
3 – дослідна (40 г/гол.)	167,98±7,03	2,02±0,15	2,21±0,17
Через 75 діб від початку введення			
1 – контрольна	127,20±5,57	1,53±0,13	2,02±0,12
2 – дослідна (20 г/гол.)	90,40±3,86**	0,93±0,09**	1,12±0,10**
3 – дослідна (40 г/гол.)	89,58±4,52**	0,90±0,06**	1,16±0,10**
Через 22 доби після закінчення введення			
1 – контрольна	144,69±4,98	2,27±0,27	2,49±0,05
2 – дослідна (20 г/гол.)	127,66±3,36*	1,56±0,04*	1,78±0,06***
3 – дослідна (40 г/гол.)	128,60±2,49*	1,48±0,05*	1,69±0,05***

Вміст ГПЛ через 22 доби після закінчення згодовування L-карнітину був вірогідно нижчим в 2-й та 3-й групах у 1,5 разу, порівняно з зазначеним показником у контролі. У спермі бугаїв встановлено сильну кореляційну залежність між кількістю гідропероксидів ліпідів і активністю глутатіонпероксидази ( $r=-0,79$ ) та вмістом фосфатидилхоліну ( $r=0,85$ ).

Сперма бугаїв після 75-добового згодовування добавки «Карніпас» в обох дослідних групах тварин характеризується вірогідним ( $p<0,01$ ) зниженням (у 1,4 разу) вмісту дієнових кон'югатів, у порівнянні з контрольною групою.

Після закінчення введення добавки рівень ДК у спермі бугаїв 2-ї та 3-ї груп зменшився на 11,8 % ( $p<0,05$ ) та 11,1 % ( $p<0,05$ ) відповідно, у



порівнянні з контрольними, хоча було відмічено підвищення вмісту ДК в 1,4 рази в обох групах, порівняно з їх даними у попередній період дослідження. Вміст дієнових кон'югатів перебуває в обернено пропорційній залежності з активністю глутатіонпероксидази ( $r=-0,81$ ), вмістом фосфоліпідів ( $r=-0,64$ ) та у прямо пропорційній залежності – із вмістом гідропероксидів ліпідів ( $r=0,77$ ).

Дослідженням ТБК-активних продуктів встановлено, що їх кількість знижується за введення L-карнітину. Так через 75 днів згодовування досліджуваної добавки вміст вищезазначених продуктів ПОЛ зменшується в 2-й групі – на 44,6 % ( $p<0,01$ ), а в 3-й групі – на 42,6 % ( $p<0,01$ ) при співставленні з даними контролю. Навіть в останній дослідний період (після закінчення згодовування карнітину) відмічено пролонговану дію добавки, що підтверджувалась, із найвищим ступенем вірогідності, зменшенням у спермі 2-ї та 3-ї груп вмісту ТБК-активних продуктів на 28,5 та 32,1 % відповідно порівняно з контролем.

У спермі бугаїв встановлено сильну кореляційну залежність між кількістю ТБК-активних продуктів та вмістом дієнових кон'югатів ( $r=0,79$ ), активністю глутатіонпероксидази ( $r=-0,82$ ), вмістом фосфатидилхоліну ( $r = -0,90$ ).

За результатами досліджень крові бугаїв на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів було вивчено характер впливу досліджуваної добавки на інтенсивність даного процесу в усьому організмі. Встановлено, що при застосуванні L-карнітину інтенсивність вільнорадикальних процесів знижується, про що свідчить зменшення кількості первинних і вторинних продуктів ПОЛ у крові дослідних тварин (табл. 3.6).

Так, у плазмі крові бугаїв через 75 днів після введення Карніпасу в дозі 20 г/гол. вміст гідропероксидів ліпідів був нижчим на 38,1 % ( $p<0,01$ ), а застосування добавки в кількості 40 г/гол. зумовило вірогідне ( $p<0,01$ ) зниження величини значень даного показника на 27,3 %, у порівнянні з контрольною групою. При цьому кількість досліджуваного продукту ПОЛ у

тварин 2-ї групи була нижчою на 17,3 %, порівняно з його концентрацією у бугаїв 3-ї групи. Встановлено, що вміст гідропероксидів ліпідів перебуває в обернено пропорційній залежності з активністю глутатіонпероксидази ( $r=-0,83$ ) та каталази ( $r=-0,79$ ) крові.

Таблиця 3.6

**Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у плазмі крові бугаїв за дії L-карнітину ( $M\pm m$ ;  $n=4$ )**

Група бугаїв	Гідропероксиди ліпідів ( $\Delta E_{480}/\text{мл}$ )	Дієнові кон'югати (мкмоль/мл)	ТБК-активні продукти, (нмоль/мл)
До введення			
1 – контрольна	1,39±0,05	153,02±7,53	1,64±0,09
2 – дослідна (20 г/гол.)	1,36±0,05	152,99±5,75	1,56±0,05
3 – дослідна (40 г/гол.)	1,41±0,05	153,33±6,51	1,66±0,10
Через 75 діб від початку введення			
1 – контрольна	1,21±0,06	149,40±4,16	1,81±0,08
2 – дослідна (20 г/гол.)	0,75±0,07**	117,98±1,92***	1,29±0,07**
3 – дослідна (40 г/гол.)	0,88±0,05**	110,45±5,17**	1,33±0,06**

Плазма крові бугаїв 2-ї та 3-ї груп протягом дослідного періоду характеризувалась вірогідним зменшенням вмісту дієнових кон'югатів, але більш виражені зміни спостерігались у плідників 3-ї групи, яким застосовували Карніпас у кількості 40 г/гол. Так, при використанні досліджуваної добавки вміст ДК зменшився, порівняно з контрольною групою, на 21,1% ( $p<0,001$ ) та на 26,1% ( $p<0,01$ ) відповідно у бугаїв 2-ї та 3-ї груп. Дані результати свідчать про подібність змін вмісту гідропероксидів ліпідів та дієнових кон'югатів у крові дослідних тварин, що підтверджується високим позитивним корелятивним зв'язком між цими показниками ( $r=0,82$ ).

Додавання L-карнітину викликає зсув у балансі реакцій вільнорадикального окиснення, що виражається зниженням вмісту ТБК-активних

продуктів у плазмі крові дослідних груп бугаїв-плідників. Концентрація вказаного продукту ПОЛ у плазмі крові бугаїв у кінці дослідження була вірогідно нижчою на 28,7 % ( $p < 0,01$ ) – в 2-й групі та на 26,5 % ( $p < 0,01$ ) – в 3-й групі, проти показників у контролі.

У тварин 2-ї групи встановлено найменший вміст ТБК-активних продуктів у крові за весь період дослідження, що на 17,3 % менше від величини значення показника в цій же групі на початку дослідження. У плазмі крові відмічається обернена кореляційна залежність між вмістом ТБК-активних продуктів і глутатіонпероксидазною активністю ( $r = -0,81$ ) та позитивна – з активністю супероксиддисмутази ( $r = 0,53$ ). На рис. 3.11 показано взаємозв'язок між вмістом високотоксичних ТБК-активних продуктів у спермі та крові бугаїв, який підтверджується сильною позитивною кореляцією ( $r = 0,77$ ).

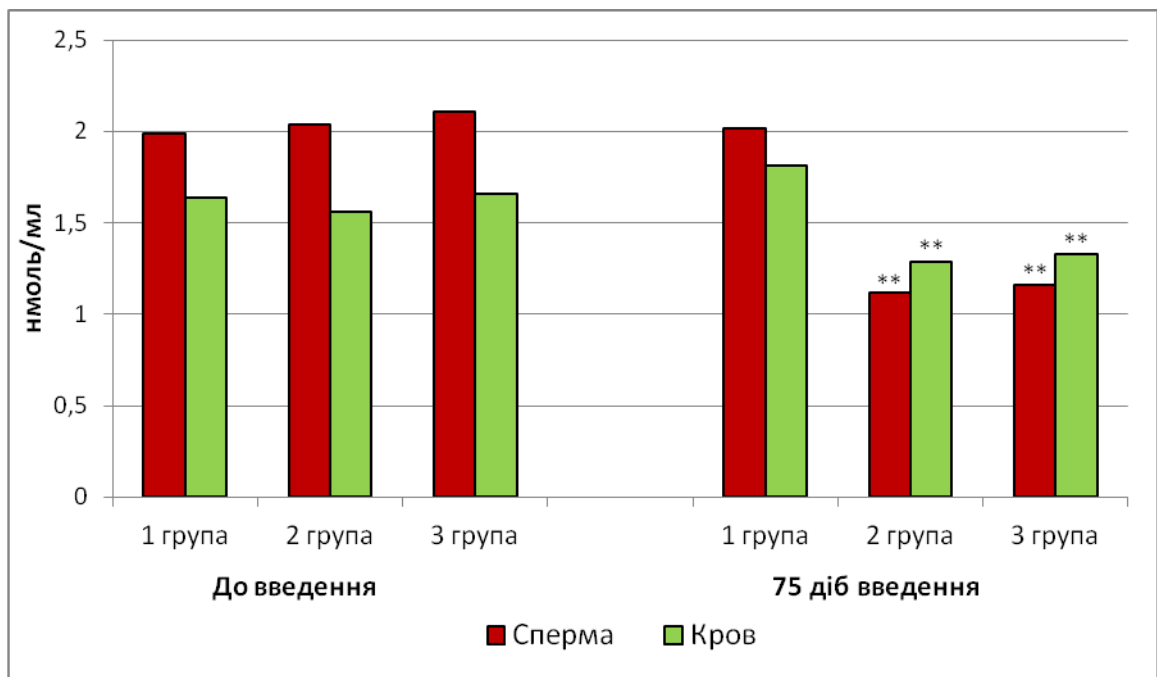


Рис. 3.11. Вміст ТБК-активних продуктів у спермі та крові бугаїв, нмоль/мл ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )

Відомо, що в клітинах тваринного організму швидкість ПОЛ регулюється функціонуванням узгодженої системи ферментативних і неферментативних механізмів контролю за вмістом вільних радикалів [108].

За останні роки значної актуальності набули дослідження з вивчення впливу екзогенних інгібіторів ПОЛ на різні ланки клітинного метаболізму в нормі та у разі патології [42, 69, 72, 128]. При цьому, однією з умов підвищення продуктивності тваринництва є науково обгрунтоване використання біологічно активних речовин, зокрема карнітину, в годівлі [8, 10, 15, 30]. Особлива роль у функціонуванні антиоксидантної системи належить ферментам-антиоксидантам, до числа яких відноситься супероксиддисмутаза, каталаза та глутатіонпероксидаза. Вказані ензими руйнують пероксиди й знижують концентрацію активних форм Оксигену, а також метаболіти, що є активаторами пероксидного окиснення ліпідів.

Результатами проведених досліджень встановлено, що згодовування L-карнітину змінює активність досліджуваних ферментів АОЗ у спермі та крові бугаїв. Так, при застосуванні вітаміноподібної добавки статистично вірогідної різниці в активності супероксиддисмутази не реєстрували, проявлялась лише тенденція до її зниження, по відношенню до сперми тварин контрольної групи (табл. 3.7).

Така тенденція зміни активності СОД через 22 доби від закінчення згодовування добавки змінилась вірогідним зниженням активності даного ензиму в спермі 2-ї групи бугаїв на 12,2 % ( $p < 0,01$ ) та в 3-ї – на 24,3 % ( $p < 0,001$ ), порівняно із даними контролю.

Активність каталази в спермі дослідних тварин на 27 добу після додавання L-карнітину зростає: у бугаїв 2-ї групи на 27,3 %, а у 3-ї – на 54,5 % ( $p < 0,01$ ) проти показників у контролі. У свою чергу 75-денне застосування добавки забезпечує вірогідне зростання активності каталази сперми в обох дослідних групах у 1,4 разу ( $p < 0,05$ ), а закінчення згодовування через 22 доби проявилось у її підвищенні в 1,36 разу ( $p < 0,01$ ) та 1,52 разу ( $p < 0,01$ ) у 2-й та 3-й групах відповідно, при співставленні з контрольною групою. Активність каталази обернено корелює із вмістом

гідропероксидів ліпідів ( $r=-0,65$ ) та кількістю ТБК-активних продуктів ( $r=-0,76$ ).

Таблиця 3.7

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

Група бугаїв	СОД, МО/мг білка	Каталаза, 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***

Важливим інформативним показником є активність глутатіон-пероксидази (рис. 3.12), що каталізує відновлення  $H_2O_2$ , або органічних гідропероксидів, внаслідок чого захищає клітини від руйнівної дії АФО.

У спермі тварин 2-ї групи, порівняно з контролем, активність досліджуваного ферменту через 27 та 75 діб від початку введення добавки збільшується на 26,7 та 20 % ( $p<0,01$ ) відповідно, а через 22 доби після закінчення її введення – на 29,6 % ( $p<0,01$ ). Подібна тенденція зміни активності вищевказаного ензиму, порівняно з контрольною групою, прослідковується і у 3-й групі: через 27 діб від початку введення її активність

збільшується в 1,4 разу ( $p<0,05$ ), через 75 діб – в 1,3 разу ( $p<0,01$ ) і в 1,4 разу ( $p<0,001$ ) – через 22 доби після закінчення згодовування L-карнітину.

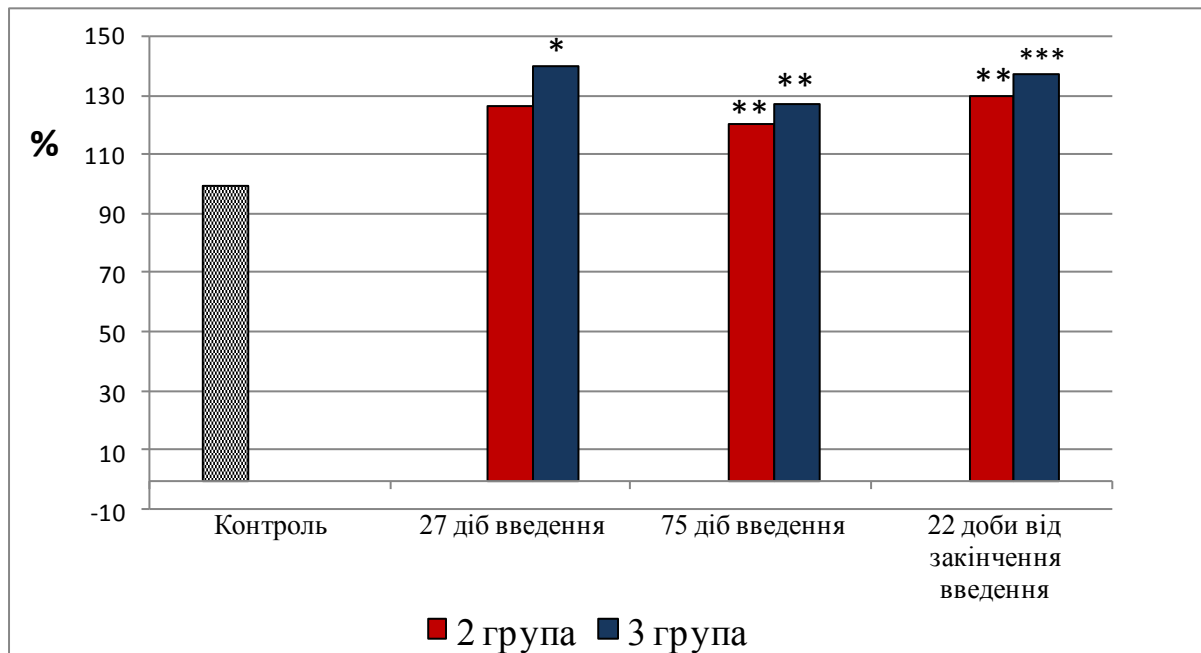


Рис. 3.12. Активність глутатіонпероксидази в спермі бугаїв за дії L-карнітину, % до контролю ( $M\pm m$ ;  $n=4$ )

Слід відмітити, що на першому етапі дослідження (27 діб введення) відбувається збільшення активності ГПО в другій та третій групах, порівняно з попереднім етапом досліджень, на 31 та 68 %, що через 75 діб виявляється незначним зменшенням активності на 5,5 та 5,3 % відповідно, з подальшою стабілізацією активності після закінчення згодовування добавки. Активність глутатіонпероксидази в спермі перебуває у 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 позитивній – із каталазною активністю ( $r=0,83$ ) та вмістом фосфоліпідів ( $r=0,55$ ).

Схематично корелятивні зв'язки між активністю антиоксидантних ферментів, вмістом продуктів пероксидного окиснення ліпідів та ліпідним складом сперми бугаїв за згодовування L-карнітину зображено на рис. 3.13.

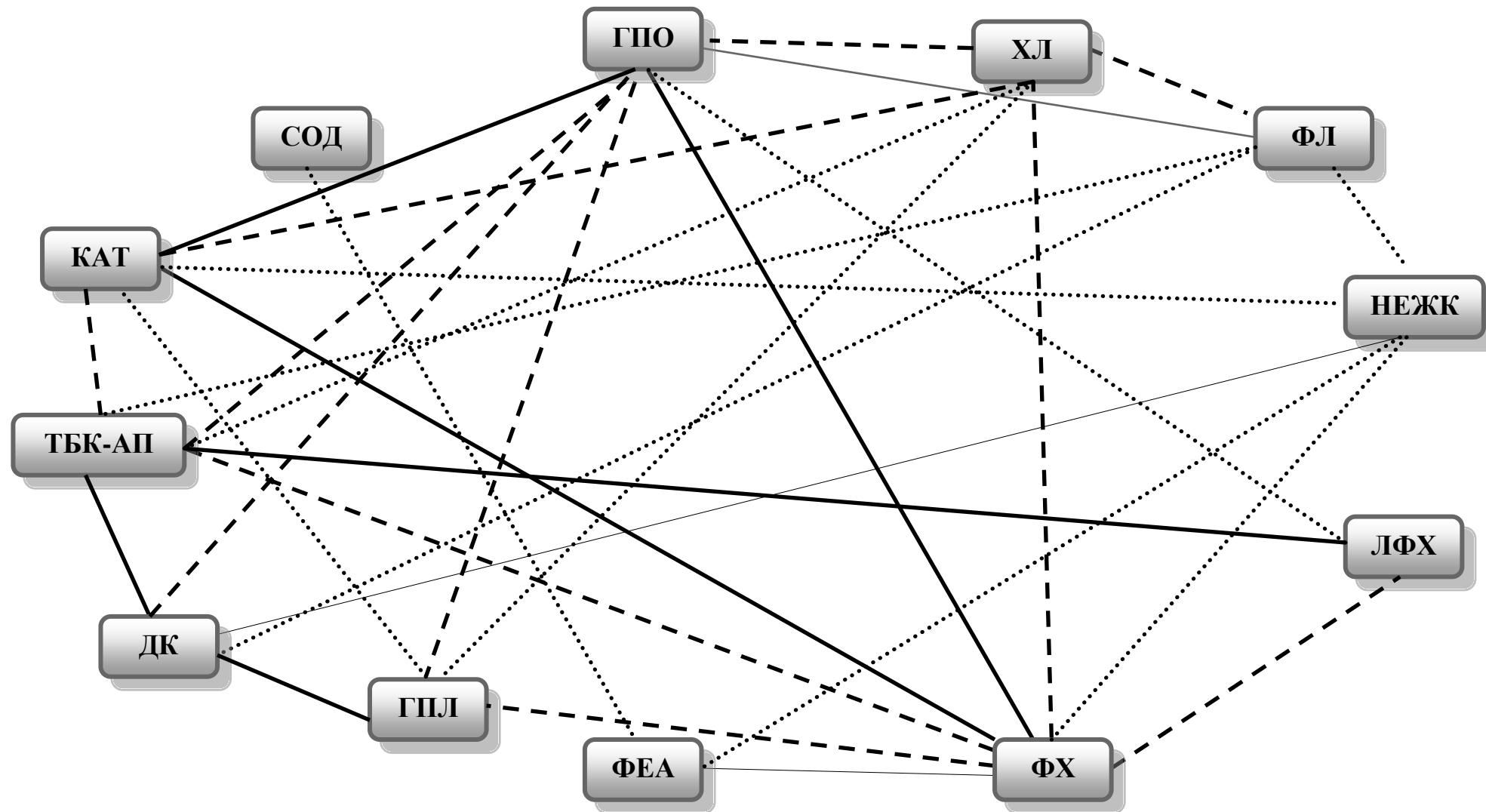


Рис. 3.13. Корелятивні зв'язки між активністю антиоксидантних ферментів, вмістом продуктів пероксидного окиснення та ліпідним складом сперми бугаїв за згодовування L-карнітину. Зв'язок  $\text{---}$  помірний ( $0,5 < r < 0,7$ );  $\text{—}$  сильний ( $0,7 < r < 1,0$ );  $\text{⋯⋯⋯}$  обернений помірний ( $-0,5 < r < -0,7$ );  $\text{- - - -}$  обернений сильний ( $-0,7 < r < -1,0$ )

Таким чином, збільшення антиоксидантної активності сперми дослідних бугаїв супроводжується зниженням інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів, про що свідчить зменшення в ній кількості продуктів ПОЛ.

Враховуючи, що кров є компонентом загального внутрішнього середовища організму, тому її склад інтегрально відображає сукупність процесів, що перебігають на всіх рівнях життєдіяльності.

Динаміка змін активності ферментів антиоксидантного захисту крові ілюструє загальні закономірності змін в цілому організмі (табл. 3.8). Встановлено, що активність антиоксидантних ферментів у цільній крові є достатньо стабільною і зазнає в ході дослідження незначних змін.

Таблиця 3.8

**Активність ферментів антиоксидантного захисту крові бугаїв  
за дії L-карнітину ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )**

Група бугаїв	СОД, МО/мг гемоглобіну	Каталаза, мкМ/хв.× мг гемоглобіну	ГПО, мкМ/хв.× мг гемоглобіну
До введення			
1 – контрольна	3,81±0,20	6,23±0,17	1,03±0,05
2 – дослідна (20 г/гол.)	3,74±0,09	6,12±0,24	1,00±0,08
3 – дослідна (40 г/гол.)	2,67±0,09	6,20±0,18	1,03±0,06
Через 75 діб від початку введення			
1 – контрольна	3,12±0,11	6,04±0,09	1,00±0,03
2 – дослідна (20 г/гол.)	2,93±0,06	6,56±0,03**	1,29±0,04***
3 – дослідна (40 г/гол.)	2,76±0,10	6,57±0,06**	1,22±0,04**

Активність СОД у крові бугаїв після застосування Карніпасу в кількості 20 та 40 г/гол. знижується на 6,1 і 11,5 % відповідно, порівняно з показником у контролі, хоча наведені дані підтверджують відсутність достовірної різниці.



Кров характеризується середнім за силою корелятивним зв'язком між активністю супероксиддисмутази та каталази ( $r=-0,63$ ).

У відповідь на пероральне введення L-карнітину, глутатіонпероксидазна та каталазна активність через 75 діб від початку введення добавки вірогідно підвищується в обох дослідних групах бугаїв. Так, активність каталази вірогідно зросла в крові бугаїв 2-ї та 3-ї груп і перевищує вказаний показник у контролі на 8,6 та 8,8 % відповідно. Активність ГПО підвищилась на 30,3 % ( $p<0,001$ ) – у 2-й та на 23,2 % ( $p<0,01$ ) – у 3-й групах, порівняно з даними контрольної. Між цими двома ензимами відмічається висока пряма кореляційна залежність ( $r=0,79$ ) та обернена – із вмістом продуктів ПОЛ.

Встановлено, що активність ферментів антиоксидантного захисту крові інтегрально відображає суть процесів, які відбуваються в репродуктивній системі бугаїв. Цей факт підтверджується корелятивними зв'язками між показниками стану антиоксидантної системи та процесів ПОЛ у крові (рис. 3.14), які узгоджуються з такими у спермі бугаїв.

Доведено існування кореляційних зв'язків між досліджуваними показниками в спермі та крові бугаїв. Так, встановлено сильний прямий корелятивний зв'язок між активностями каталази ( $r=0,90$ ), вмістом фосфатидилхоліну ( $r=0,82$ ), гідропероксидів ліпідів ( $r=0,74$ ), дієнових кон'югатів ( $r=0,80$ ), ТБК-активних продуктів ( $r=0,77$ ) в спермі та крові бугаїв. Помірна пряма кореляція між аналогічними показниками в зазначених біологічних рідинах бугаїв виявлена між активностями глутатіонпероксидази ( $r=0,56$ ), вмістом фосфоліпідів ( $r=0,67$ ).

Таким чином, результатами вивчення стану прооксидантного ланцюга ПОЛ підтверджується гіпотеза про вплив L-карнітину на здатність клітин продукувати активні форми Оксигену, про що свідчить вірогідне зменшення кількості продуктів ПОЛ, збільшення активності глутатіонпероксидази, каталази та зниження супероксиддисмутази в спермі та крові бугаїв.



Зміни активності ензимів системи антиоксидантного захисту та вмісту продуктів ліпопероксидації відбуваються взаємообумовлено, що підтверджується встановленими корелятивними зв'язками між показниками. Отже, для нормального функціонування організму необхідно підтримувати співвідношення між інтенсивністю вільнорадикальних процесів та потужністю антиоксидантної системи.

Основні положення розділу викладені у працях [63, 64, 67, 122, 156, 157].

### **3.3. Активність ензимів дихального ланцюга мітохондрій та інтенсивність споживання кисню спермою**

Для ефективного ведення робіт з репродуктивної біотехнології й штучного осіменіння великої рогатої худоби необхідно враховувати низку факторів як фізіологічних, так і біохімічних, кожен з яких безпосередньо, або ж опосередковано впливає на якість статевих клітин, визначає їх придатність для використання. Окремі фізіологічні показники зумовлюють перебіг біохімічних процесів, оскільки є їх маркерами, і навпаки, біохімічні показники та процеси свідчать про фізіологічні характеристики статевих клітин бугаїв, їх фізіологічну придатність для використання у практиці штучного осіменіння. До таких біохімічних показників належать ті, які беруть участь в окисно-відновних процесах, визначають їх перебіг та свідчать про якість сперміїв.

Відомо, що енергію для руху спермії бугаїв отримують шляхом використання присутніх у плазмі сперми цукрів, ліпідів та білків, а одним із основних біохімічних процесів, за рахунок якого ресинтезується АТФ, є дихання [165]. Виявлено, що інтенсивність використання субстратів окремими ланками ланцюга дихання є маркерами фізіологічних якостей і запліднювальної здатності статевих клітин [75]. Так, фізіологічні показники сперміїв – рухливість, виживання та кількість живих в еякуляті перебувають

у прямій залежності від активності сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази [116] і взаємопов'язані зі станом антиоксидантного статусу організму.

З метою вивчення інтенсивності окисно-відновних процесів у спермі та статевих клітинах, виявлення зв'язків між біохімічними та фізіологічними показниками еякулятів, встановлення впливу на інтенсивність біохімічних процесів та фізіологічні характеристики сперми L-карнітину нами досліджувався енергетичний обмін.

Встановлено, що на фоні згодовування досліджуваної добавки в спермі бугаїв відбувається вірогідне збільшення активності ферментів дихального ланцюга – сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

**Активність ензимів енергетичного обміну в спермі бугаїв  
за дії L-карнітину, мкМ/хв<sup>х</sup> л (M±m; n=4)**

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

Проведений аналіз показав значну мінливість показників окисно-відновних процесів у еякулятах бугаїв. Активність ЦХО в спермі плідників за дії L-карнітину збільшується і набуває максимальних значень у дослідних тварин після 75 діб його згодовування. У цей період встановлено вірогідне ( $p < 0,001$ ) зростання активності ЦХО на 26,1 % – у другій групі та на 28,9 % – у третій. Після закінчення згодовування добавки активність ЦХО дещо зменшується, порівняно із попереднім періодом дослідження, проте залишається вірогідно ( $p < 0,01$ ) вищою проти показників у контрольній групі – на 21,6 та 21,3 % у 2-й та 3-й групах відповідно. Встановлено пряму корелятивну залежність активності ЦХО з концентрацією сперміїв ( $r = 0,70$ ).

Активність СДГ у ході дослідження проявляє подібну динаміку, але більш виражену відносно контрольних значень. Вже через 27 діб введення L-карнітину активність СДГ збільшується в спермі бугаїв 2-ї групи – на 28 % ( $p < 0,01$ ), 3-ї – на 18,9 % ( $p < 0,01$ ), порівняно з контрольною групою. Після 75-добового введення добавки зростання активності вказаного ензиму досягає максимуму й становить:  $14,33 \pm 0,73$  мкМ/хв  $\times$  л (у 2-й групі) й  $14,90 \pm 0,57$  мкМ/хв  $\times$  л (у 3-й групі), що відповідно в 1,68 та 1,75 разу більше ( $p < 0,001$ ) проти контрольних показників.

Величина активності СДГ через 22 доби після закінчення згодовування L-карнітину була найвищою в спермі тварин третьої групи, що становить на 57,2 % ( $p < 0,001$ ), тоді як у другій групі активність ензиму була більшою на 54,5 % ( $p < 0,01$ ) від контрольного показника. При цьому активність СДГ у спермі бугаїв 2-ї та 3-ї груп виявилась нижчою на 11,4 та 13,3 % відповідно порівняно з попереднім періодом досліджень. Високий показник корелятивної залежності між активністю СДГ та активністю ЦХО ( $r = 0,87$ ) підтверджує прямий зв'язок між ферментами дихального ланцюга сперміїв.

Аналізом змін показників активності окисно-відновних процесів у еякулятах після 75-денного згодовування L-карнітину виявлено вищу

інтенсивність споживання кисню у спермі 2-ї та 3-ї груп бугаїв, яка становить відповідно  $23,6 \pm 1,02$  та  $24,1 \pm 1,16$  нг-атом O/хв  $\times 10^9$  сперміїв, що на 35,6 % ( $p < 0,01$ ) і 38,5 % ( $p < 0,01$ ) більше від дихальної активності в спермі контрольної групи тварин (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

**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	в 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.)	$24,1 \pm 1,16^{**}$	$12,9 \pm 0,76^{**}$	$11,2 \pm 1,02$

Споживання кисню мітохондріями в цей період в обох дослідних групах збільшується і становить  $12,5 \pm 0,86$  та  $12,9 \pm 0,76$  нг-атом O/хв  $\times 10^9$  сперміїв, що відповідає 53,0 та 53,5 % від загального його використання в 2-й і 3-й групах відповідно. Азидрезистентне (немітохондріальне) дихання у спермі плідників, що отримували добавку в кількості 20 г/гол. становило 47 % від загально спожитого кисню, що на 6,8 % менше, порівняно з даними на початку дослідження та на 4,1 % менше, порівняно із контролем. Подібна тенденція спостерігалась і у спермі плідників, що отримували добавку в кількості 40 г/гол.

У зв'язку зі значною мінливістю показників окисно-відновних процесів у еякулятах бугаїв, залежністю від екзо- та ендогенних чинників вивчали взаємозв'язки між досліджуваними показниками і закономірності їх змін. Зокрема, виявлено, що при зростанні інтенсивності дихання сперми

мітохондріальне та азидрезистентне споживання кисню, активність окисних ферментів пропорційно зростають.

Між споживанням кисню мітохондріями та досліджуваними біохімічними показниками встановлено пряму середню кореляційну залежність з дихальною активністю сперми ( $r=0,60$ ), інтенсивністю азидрезистентного дихання ( $r=0,51$ ) та активностями СДГ і ЦХО ( $r=0,54$ ). Виявлено, що споживання кисню спермою збільшується (в тому числі мітохондріальне та азидрезистентне) із зростанням об'єму еякуляту та концентрації сперміїв.

Аналіз кореляційних залежностей між показниками окисно-відновних процесів засвідчив, що інтенсивність дихання сперми, її мітохондріальна (азидчутлива) компонента визначає активність немітохондріальних процесів. Така закономірність у сперміїв зумовлена їх можливістю окиснювати субстрати середовищ, генерувати у процесі життєдіяльності вільні радикали Оксигену [169, 189] і впливати продуктами окиснення, в тому числі вільнорадикального, на структури мітохондрій та окремі ланки дихального ланцюга.

Таким чином, за згодовування L-карнітину відбувається корекція окисно-відновних процесів у спермі за рахунок збільшення інтенсивності перебігу процесів енергетичного метаболізму: підвищується активність ферментів 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 обумовлюють стабільну якість спермопродукції.

Основні наукові результати розділу опубліковані в праці [66].

### **3.4. Гематологічні та біохімічні показники крові бугаїв**

Для визначення стану організму значна увага приділяється дослідженню крові. Кров та органи кровотворення в організмі тварин формують складну

морфо-функціональну систему, яка значною мірою відображає рівень фізіологічних і біохімічних процесів у організмі, а також їх коливання під впливом внутрішніх та зовнішніх факторів. У кров виділяються продукти життєдіяльності різних органів, за вмістом яких можна визначити функціональний стан. Цілком очевидно, що зміни функцій органів та систем організму будуть впливати на гематологічні показники та хімічний склад крові. Гематологічні показники не є сталими величинами, вони залежить від виду, породи, статі, віку, фізіологічного стану, продуктивності, рівня годівлі, сезону року та інших факторів [87, 179].

Метою цього розділу дисертаційної роботи було дослідити вплив добавки «Карніпас» у кількості 20 та 40 г/гол. у разі додавання до раціону бугаям на їх фізіологічний стан, який значною мірою характеризують морфологічні та біохімічні показники крові.

Результати наших досліджень показали, що застосування L-карнітину суттєво не змінює величини значень гематологічних показників крові й вони залишаються в межах фізіологічної норми у тварин усіх груп (табл. 3.11).

Кількісно переважаючою клітинною формою крові є еритроцити, кількість яких у другій та третій групах через 75 діб від початку згодовування L-карнітину вірогідно ( $p < 0,05$ ) збільшується на 11,7 та 13,8 % відповідно, порівняно з даними контрольної групи.

Слід зазначити, що в дослідних групах, від початку згодовування вітаміноподібної добавки проявляється тенденція до збільшення концентрації гемоглобіну, порівняно із даними контрольної групи. Середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті та кількість лейкоцитів протягом експериментальних досліджень зазнали незначних коливань, проте знаходяться в межах фізіологічної норми.

Гематологічні показники відображають як інтенсивність обмінних процесів, що відбуваються в організмі, так і рівень захисних реакцій, визначаючи здатність тварин пристосовуватись до різних ендо- та екзогенних факторів.



Таблиця 3.11

**Гематологічні показники бугаїв за дії L-карнітину ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )**

Показник	Група бугаїв		
	1 – контрольна	2 – дослідна (20 г/гол.)	3 – дослідна (40 г/гол.)
До введення			
Еритроцити, Т/л	6,05±0,26	5,30±0,25	6,20±0,27
Лейкоцити, Г/л	6,65±0,47	7,62±0,88	6,65±0,28
Гемоглобін, г/л	118,50±2,72	112,25±7,28	122,25±1,38
Вміст гемоглобіну в еритроциті, пг	19,69±1,06	21,17±0,69	19,82±0,79
Через 75 діб від початку введення			
Еритроцити, Т/л	5,72±0,21	6,39±0,07*	6,51±0,09*
Лейкоцити, Г/л	6,57±0,36	6,67±0,40	6,32±0,15
Гемоглобін, г/л	111,75±5,14	121,50±2,33	123,00±1,58
Вміст гемоглобіну в еритроциті, пг	19,50±0,34	19,05±0,52	18,90±0,45

У ході досліджень нами вивчались також біохімічні показники крові за згодовування L-карнітину (табл. 3.12).

Згодовування L-карнітину достовірно збільшує, у порівнянні з контролем, вміст глюкози, загального білка та альбумінів у сироватці крові бугаїв, при чому всі показники знаходяться в межах фізіологічних норм. Так, у плідників, які отримували 20 г/гол. Карніпасу через 75 діб введення добавки підвищується вміст глюкози на 22,7 % ( $p < 0,01$ ), загального білка – на 12,6 % ( $p < 0,01$ ), а також в складі білка зростає вміст альбумінів на 22 % ( $p < 0,05$ ). У свою чергу, застосування даної добавки в кількості 40 г/гол. сприяло вірогідному зростанню вмісту глюкози на 12,8 % ( $p < 0,05$ ), загального білка – на 13,1 % ( $p < 0,01$ ) та альбумінів – на 17 % ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3.12

**Біохімічні показники крові бугаїв за дії L-карнітину ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )**

Показник	Група бугаїв		
	1 - контрольна	2 – дослідна (20 г/гол.)	3 – дослідна (40 г/гол.)
До введення			
Глюкоза, ммоль/л	2,72±0,17	2,77±0,24	2,80±0,19
Загальний білок, г/л	73,25±2,43	78,27±2,69	74,87±4,20
Альбумін, г/л	30,31±1,04	31,22±1,28	30,87±1,65
Активність АСТ, мкмоль/год. × мл	21,22±1,56	21,67±1,23	20,49±0,90
Сечовина, ммоль/л	3,72±0,26	3,91±0,11	4,32±0,34
Креатинін, мкмоль/л	121,0±3,32	126,50±4,57	117,50±4,86
Кальцій загальний, мг/100 мл	10,05±0,57	10,95±0,26	10,35±0,26
Фосфор неорганічний, мг/100 мл	5,08±0,08	5,20±0,16	5,18±0,12
Через 75 діб від початку введення			
Глюкоза, ммоль/л	2,73±0,12	3,35±0,06**	3,08±0,07*
Загальний білок, г/л	73,90±1,40	83,18±0,82**	83,58±0,95**
Альбумін, г/л	30,09±1,64	36,70±0,88*	35,20±0,58*
Активність АСТ, мкмоль/год. × мл	35,4±1,63	31,88±1,03	30,97±0,60*
Сечовина, ммоль/л	3,57±0,05	3,77±0,14	3,73±0,08
Креатинін, мкмоль/л	116,5±4,86	117,5±5,32	116,25±3,84
Кальцій загальний, мг/100 мл	10,70±0,40	10,32±0,21	10,30±0,18
Фосфор неорганічний, мг/100 мл	5,03±0,03	5,05±0,05	5,03±0,03

Активність АСТ наприкінці досліду в усіх групах підвищилась: на 66,8 % – у першій, на 47,1 % – у другій та на 51,1 % – у третій групах, проти початкових показників. При цьому, після 75-денного згодовування добавки активність АСТ у 2-й та 3-й дослідних групах мала нижчі показники,

порівняно до контролю на 10 та 12,5 % відповідно, але різниця була вірогідна тільки у третій групі ( $p < 0,05$ ).

Наведені дані решти досліджуваних біохімічних показників підтверджують відсутність достовірної різниці в крові між показниками різних груп тварин.

Відомо, що сім'яники є одним із найбільш активних у метаболічному відношенні органом, що забезпечує високий рівень реплікації їх клітин [173], енергія для яких забезпечується, переважно, за рахунок глюкози, при чому її більша частина тратиться на синтез білків сперміїв [207, 231]. У свою чергу, підтримання функціональної активності сперміїв, їх високого рівня метаболізму здійснюється плазмою сперми, вміст якої залежить від функціонального стану додаткових залоз статевої системи самців, що координується за участю тестостерону.

Тому, в контексті питання, що розглядається, досить інформативними слід вважати результати аналізу концентрації тестостерону в крові (табл. 3.13).

Таблиця 3.13

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

Група бугаїв	До введення	Через 75 діб від початку 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*

Встановлено, що в крові дослідних бугаїв відбувається збільшення концентрації тестостерону за згодовування L-карнітину. Так, концентрація тестостерону після 75-денного введення добавки підвищується, в порівнянні з початковим показником, на 23,4 % – у бугаїв, яким її згодовували в кількості 20 г/гол. (2 група) та на 29,9 % – у тих, що отримували 40 г/гол (3 група). У цей же період досліду в бугаїв 3-ї групи концентрація

тестостерону виявилась вірогідно більшою на 26 % ( $p < 0,05$ ), порівняно з контролем, а в 2-й групі збільшення становило 19,8 %, проте було не вірогідним. Виявлена позитивна кореляція між концентрацією тестостерону в крові та концентрацією сперміїв у еякулятах бугаїв ( $r = 0,54$ ), а також виживанням сперміїв ( $r = 0,69$ ).

Отже, проведені дослідження свідчать про стимулюючий вплив досліджуваної добавки на еритропоез, білковий, енергетичний обмін та на синтез тестостерону в бугаїв. Одержані результати вказують на перспективність застосування даної добавки з метою корекції енергетичного обміну та підтримання гомеостазу організму в цілому, що відобразиться на біохімічних показниках сперми в період інтенсивної експлуатації бугаїв-плідників.

### **3.5. Фізіологічні показники якості сперми бугаїв**

Репродуктивна здатність бугаїв-плідників оцінюється за якістю сперми. Якість сперми і головний її багатофакторний інтегральний показник – запліднювальна здатність – зумовлені комплексом факторів, зокрема станом мембранного апарату сперміїв та рівнем окисно-відновних процесів [161]. Важливим патогенетичним фактором, що спричиняє зниження функціональних показників сперміїв і подальший розвиток неплідності самців (незалежно від етіології) є вплив окиснювального стресу [269, 270]. Тому, окисно-відновні процеси у сперміях відіграють важливу роль в процесах їх життєдіяльності та для набуття здатності запліднювати ооцит.

Проведений нами аналіз якості спермопродукції бугаїв показав, що застосування L-карнітину позитивно впливає на фізіологічні показники якості еякулятів плідників (табл. 3.14).

Згодовування L-карнітину забезпечує покращення фізіологічних показників якості еякулятів бугаїв у кожній із дослідних груп, у порівнянні з контрольною, і при цьому знаходяться в межах нормального їх значення.

Таблиця 3.14

**Характеристика фізіологічних показників якості еякулятів бугаїв  
за дії L-карнітину (M±m; n=4)**

Група бугаїв	Об'єм, мл	Концентрація, 10 <sup>9</sup> /мл	Активність, балів	Виживання, год.
<b>До введення</b>				
1 – контрольна	3,80±0,18	0,98±0,04	7,25±0,48	84,00±4,40
2 – дослідна (20 г/гол.)	3,90±0,13	1,05±0,06	7,00±0,41	85,00±5,57
3 – дослідна (40 г/гол.)	3,75±0,31	0,95±0,05	7,25±0,48	82,25±2,39
<b>Через 27 діб від початку введення</b>				
1 – контрольна	3,65±0,13	0,94±0,04	7,00±0,41	100,50±4,27
2 – дослідна (20 г/гол.)	4,63±0,28*	0,98±0,04	7,50±0,29	126,50±5,68*
3 – дослідна (40 г/гол.)	4,88±0,19**	1,00±0,06	7,50±0,29	128,50±7,50*
<b>Через 75 діб від початку введення</b>				
1 – контрольна	3,75±0,17	0,87±0,08	6,63±0,24	105,00±7,14
2 – дослідна (20 г/гол.)	4,50±0,25*	1,01±0,08*	7,50±0,20*	135,00±4,93*
3 – дослідна (40 г/гол.)	4,85±0,17**	1,02±0,09*	7,75±0,14**	130,00±3,56*
<b>Через 22 доби після закінчення введення</b>				
1 – контрольна	3,40±0,08	0,98±0,05	6,75±0,25	93,00±5,20
2 – дослідна (20 г/гол.)	4,18±0,09***	1,11±0,05	7,63±0,24*	124,25±5,72 **
3 – дослідна (40 г/гол.)	4,48±0,09***	1,14±0,04*	7,75±0,25*	113,00±6,19*

Дія добавки через 27 діб її введення забезпечує вірогідне збільшення об'єму еякуляту на 26,8 % ( $p < 0,05$ ) – у другій групі та на 33,7 % ( $p < 0,01$ ) – у третій. Подібна тенденція простежується й за величиною показників виживання сперміїв, від яких, більшою мірою, залежить запліднююча їх здатність. Так, у цей період було зафіксовано вірогідне ( $p < 0,05$ ) збільшення виживання сперміїв: в другій групі – на 25,9 %, а в третій – на 27,9 %, порівняно з даними контрольних бугаїв. Інші величини показників якості сперми на даному етапі дослідів вірогідних змін не зазнають.

Більш суттєва різниця між групами проявилась за показниками якості сперми через 75 діб згодовування L-карнітину, при чому виявлено збільшення в 2-й та 3-й групах: об'єму – на 20 % ( $p < 0,05$ ) та 29,3 % ( $p < 0,01$ ), концентрації – на 16,1 % ( $p < 0,05$ ) та 17,2 % ( $p < 0,05$ ), активності – на 13,1 % ( $p < 0,05$ ) та 16,9 % ( $p < 0,01$ ), виживання сперміїв – на 28,6 % ( $p < 0,05$ ) та 24,3 % ( $p < 0,05$ ) відповідно, порівняно з аналогічними показниками в контрольній групі.

Наприкінці досліду, через 22 доби після закінчення введення L-карнітину, відмічено пролонгований ефект дії добавки у вигляді стабільно вищих фізіологічних показників якості сперми проти їх контрольних аналогів: об'єму – на 22,9 % ( $p < 0,001$ ) та 31,8 % ( $p < 0,001$ ), концентрації – на 13,3 та 16,3 % ( $p < 0,05$ ), активності – на 13 % ( $p < 0,05$ ) та 14,8 % ( $p < 0,05$ ), виживання – на 33,6 % ( $p < 0,01$ ) та 21,5 % ( $p < 0,05$ ) у 2-й та 3-й групах відповідно. При цьому найвище виживання статевих клітин було у бугаїв другої групи (124,25 год.), що на 10 % більше, ніж у третій.

Аналізом результатів досліджень виявлено значну мінливість фізіологічних показників якості еякулятів, що очевидно, пов'язано із індивідуальними особливостями плідників, ефективністю підготовки їх до отримання сперми та температурним фактором.

Проведені дослідження свідчать, що фізіологічні показники сперміїв взаємопов'язані із ліпідним складом сперми, активністю окисно-відновних і антиоксидантних ферментів та процесами ПОЛ в організмі (рис. 3.15).

Так, виживання сперміїв знаходиться у прямій кореляційній залежності з вмістом фосфатидилхоліну ( $r=0,83$ ), споживанням кисню ( $r=0,52$ ), активністю ГПО ( $r=0,63$ ), СДГ ( $r=0,81$ ) та ЦХО ( $r=0,70$ ), проте в оберненій – до активності СОД ( $r=-0,58$ ) вмісту гідропероксидів ліпідів ( $r=-0,61$ ) та ТБК-активних продуктів ( $r=-0,71$ ) у спермі бугаїв. Встановлено сильний корелятивний зв'язок між показником виживання сперміїв та глутатіонпероксидазною активністю ( $r=0,91$ ), вмістом фосфатидилхоліну ( $r=0,75$ ), ТБК-активних продуктів ( $r=-0,77$ ) у сироватці крові плідників.

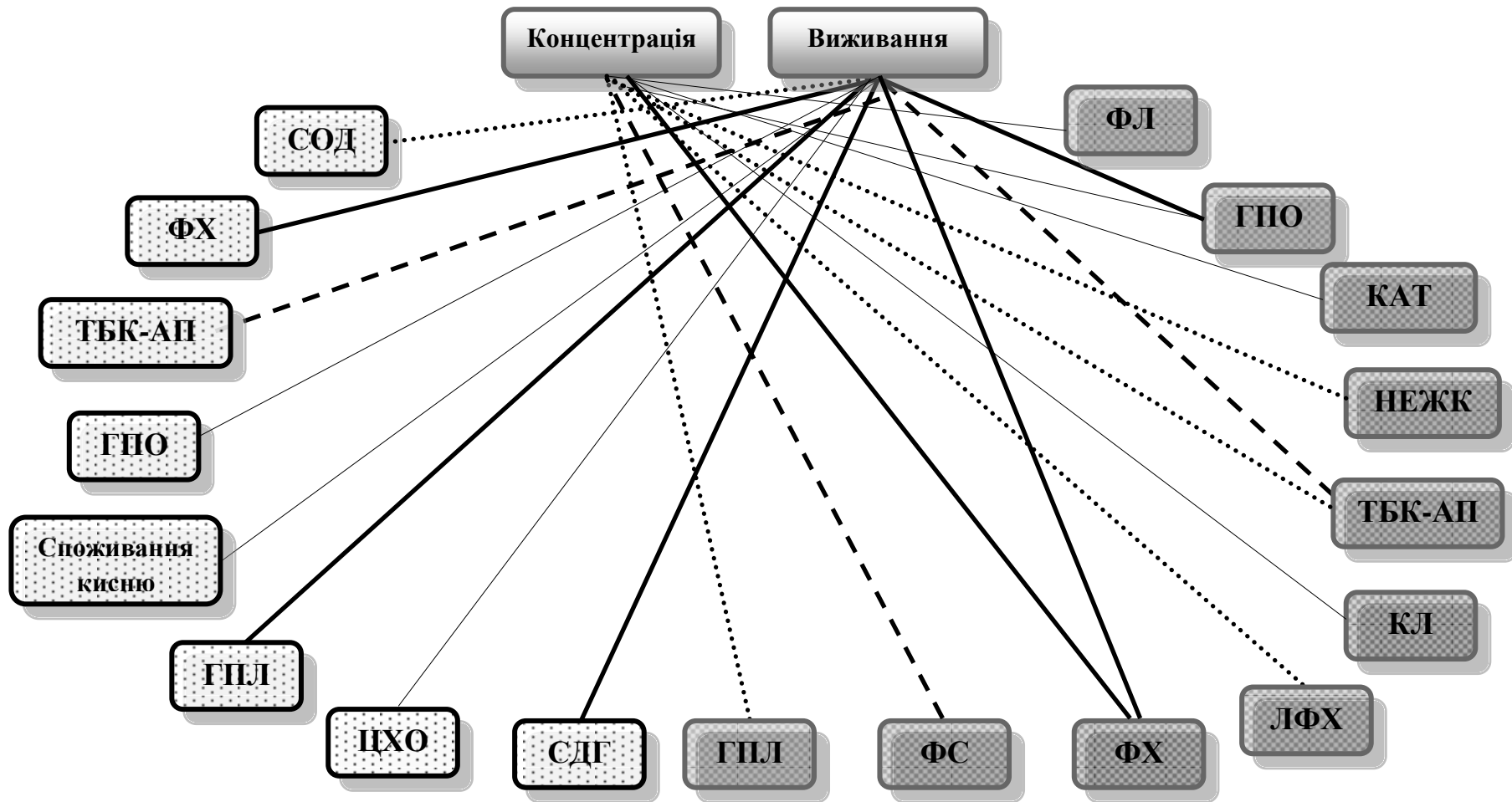


Рис. 3.15. Корелятивні зв'язки між якістю сперми та активністю ферментів АОЗ, вмістом продуктів ПОЛ, ліпідним складом сперми та крові бугаїв за згодовування L-карнітину. Зв'язок — помірний ( $0,5 < r < 0,7$ ); — сильний ( $0,7 < r < 1,0$ ); ..... обернений помірний ( $-0,5 < r < -0,7$ ); - - - - обернений сильний ( $-0,7 < r < -1,0$ )

Відмічено позитивну кореляцію між концентрацією сперміїв і вмістом фосфоліпідів ( $r=0,54$ ), зокрема фосфатидилхоліну ( $r=0,83$ ), кардіоліпіну ( $r=0,51$ ), активністю каталази ( $r=0,52$ ), глутатіонпероксидази ( $r=0,54$ ) та від'ємну кореляцію – із активністю СОД ( $r=-0,50$ ), вмістом лізофосфатидилхоліну ( $r=-0,58$ ), фосфатидилсерину ( $r=-0,87$ ), НЕЖК ( $r=-0,53$ ), гідропероксидів ліпідів ( $r=-0,66$ ) і ТБК-активних продуктів ( $r=-0,59$ ) у сироватці крові бугаїв.

Якість сперми залежить від вмісту білків, його окремих фракцій та активності ензимів, що беруть участь у метаболізмі протеїнів.

В ході досліджень було вивчено вплив L-карнітину на показники білкового обміну в спермі бугаїв-плідників (табл. 3.15).

Таблиця 3.15

**Показники білкового обміну в спермі бугаїв за дії L-карнітину ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )**

Група бугаїв	Вміст білка, мг/мл	Активність АСТ, нмоль/хв. × мг білка
<b>До введення</b>		
1 – контрольна	30,17±1,65	89,26±3,95
2 – дослідна (20 г/гол.)	30,57±1,71	90,12±3,03
3 – дослідна (40 г/гол.)	31,94±1,40	86,05±3,56
<b>Через 27 діб від початку введення</b>		
1 – контрольна	23,87±1,46	88,07±3,80
2 – дослідна (20 г/гол.)	24,81±1,21	91,05±3,31
3 – дослідна (40 г/гол.)	23,83±1,75	90,55±2,99
<b>Через 75 діб від початку введення</b>		
1 – контрольна	20,96±1,25	95,28±1,01
2 – дослідна (20 г/гол.)	26,76±0,89**	101,09±1,03**
3 – дослідна (40 г/гол.)	24,83±0,72*	100,06±1,11*
<b>Через 22 доби після закінчення введення</b>		
1 – контрольна	20,34±1,02	86,04±1,23
2 – дослідна (20 г/гол.)	24,96±0,80*	92,30±1,13**
3 – дослідна (40 г/гол.)	27,50±1,14**	95,95±1,31**



Проведеним аналізом виявлено, що введення вітаміноподібної добавки збільшує вміст білка у спермі через 75 днів від початку її додавання. Так, вміст білка в спермі дослідних тварин вірогідно збільшується через 75 діб від початку введення L-карнітину на 27,7 % ( $p < 0,01$ ) та 18,5 % ( $p < 0,05$ ) у 2-й та 3-й групах відповідно проти показників контролю. При цьому відмічено підвищення активності АСТ в цей же період дослідження на 6,1 % ( $p < 0,01$ ) та 5 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. Після закінчення згодовування досліджуваного препарату така тенденція утрималась, при чому в другій групі вміст білка залишався більшим на 22,7 % ( $p < 0,05$ ), активність АСТ була вищою на 7,3 % ( $p < 0,01$ ), а у третій – на 35,2 % ( $p < 0,01$ ) та 11,5 % ( $p < 0,01$ ) відповідно, порівняно з показниками контрольної групи.

Сперма бугаїв характеризується обернено пропорційною кореляційною залежністю між вмістом білка та ТБК-активними продуктами ( $r = -0,75$ ), активністю супероксиддисмутази ( $r = -0,59$ ) та прямо пропорційною – з активністю АСТ ( $r = 0,84$ ), фосфатидилхоліном ( $r = 0,79$ ), фосфатидилетаноламіном ( $r = 0,50$ ), виживанням ( $r = 0,86$ ) та концентрацією сперміїв ( $r = 0,65$ ). Проведений порівняльний аналіз між фізіологічними характеристиками сперми з одного боку та біохімічними процесами в ній з іншого показав, що підвищення рухливості, виживання, а також концентрації сперміїв супроводжується активуванням енергетичного обміну та зниженням інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення. Тому, можна стверджувати, що процес сперміогенезу та якість сперми істотно взаємопов'язані із енергозабезпеченістю та 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 дозволить з високою ймовірністю визначити непридатні до запліднення еякуляти, встановлювати фізіологічні межі коливань значень окремих показників у кожного бугая, що

дасть змогу вчасно діагностувати та усувати причини погіршення якості сперми та зниження її запліднювальної здатності.

Основні наукові результати розділу опубліковані в працях [61, 63, 66].

### **3.6. Вплив додавання L-карнітину до розріджувача сперми на її фізіолого-біохімічні показники**

Фізіологічні показники якості сперми, процес капацитації, виживання й запліднення сперміїв визначаються біохімічними процесами, що протікають як в організмі самця й самки *in vivo*, так і в середовищах *in vitro*. Відомо [170], що після еякуляції спермії, маючи слабкий ендоплазматичний захист, є найбільш чутливими до оксидативного стресу, який зумовлений зміною оточуючого середовища, аерацією, виходом у секрет еякуляту генераторів активних форм Оксигену, причому останні задіяні в регуляції основних функцій чоловічої гаметети [169].

Оскільки в процесі технологічної обробки сперми антиоксидантний захист послаблюється, а окремі його ланки втрачаються, то дефіцит сполук із антиоксидантними властивостями можна компенсувати додаванням їх у розріджувачі еякулятів [54]. У зв'язку з проаналізованими попередніми результатами, цілком логічним було дослідження впливу L-карнітину в якості добавки до розріджувача еякулятів. Метою цього розділу дисертаційної роботи було дослідити вплив різних доз L-карнітину, що додавався до розріджувача еякулятів бугаїв «Bioexcell», на активність ферментів антиоксидантного захисту, стан окисно-відновних процесів, дихальну активність, відновну здатність та виживання сперміїв для виявлення закономірностей і уточнення механізмів регулювання окисних процесів у спермі.

Результатами проведених досліджень доведено, що вміст L-карнітину в еякулятах бугаїв впливає на активність досліджуваних ферментів антиоксидантного захисту в спермі (табл. 3.16).

Таблиця 3.16

**Активність ензимів антиоксидантного захисту в спермі бугаїв,  
розбавленій з додаванням L-карнітину (M±m, n=10)**

Частини еякулят	СОД, МО/ мг білка	Каталаза, мкМ/ хв.× мг білка	ГПО, мкМ/хв.× мг білка
I – контрольна	3,587±0,209	0,165±0,012	0,075±0,004
II – карнітину 10 мг/100 мл	2,277±0,217***	0,207±0,015*	0,107±0,004***
III – карнітину 30 мг/100 мл	2,489±0,123***	0,202±0,017	0,104±0,005***
IV – карнітину 60 мг/100 мл	3,225±0,144	0,176±0,013	0,111±0,005***

У ході дослідження встановлено, що різна концентрація L-карнітину в складі розбавника сперми забезпечує збільшення активності каталази, глутатіонпероксидази та зниження активності супероксиддисмутази, порівняно з контролем. Так, збільшення в складі розбавника вмісту карнітину до 10 і 30 мг/100 мл сприяло зниженню активності СОД на 36,5 % ( $p<0,001$ ) і 30,6 % ( $p<0,001$ ) відповідно, порівняно з показником у контролі. При цьому активність вказаного ензиму в четвертій частині еякуляту (60 мг/100 мл) була вищою, ніж у II та III відповідно на 41,6 та 29,6 % і наближалася до контролю.

Каталазна активність сперми бугаїв знаходиться у прямій залежності із активністю ГПО. Зокрема, активність каталази та ГПО в розбавленій спермі з концентрацією карнітину 10 мг/100 мл була відповідно на 25,4 ( $p<0,05$ ) і 42,7 % ( $p<0,001$ ) вищою, а у III-й частині еякуляту (30 мг/100 мл) – мала збільшення на 22,4 і 38,7 % ( $p<0,001$ ), порівняно з контролем. Динаміка активності вищевказаних ензимів у IV-й частині еякуляту дещо відрізнялась. Так, у спермі з найбільшою концентрацією карнітину (60 мг/100 мл) встановлено зниження активності каталази на 12,9 %, порівняно з

розбавленням 30 мг/100 мл. У порівнянні з контролем, каталазна активність у IV-й частині еякуляту була вищою на 6,7 %, а активність ГПО була найвищою та переважала в 1,5 разу ( $p < 0,001$ ) показник контролю.

Зважаючи на той факт, що активність ензимів і, відповідно, перебіг біохімічних процесів у спермі змінюється у разі накопичення продуктів ПОЛ, ми визначили вміст ТБК-активних продуктів за дії L-карнітину.

Результатами проведених досліджень доведено, що L-карнітин впливає на вміст ТБК-активних продуктів у розбавленій спермі бугаїв та на виживання сперміїв (табл. 3.17).

Таблиця 3.17

**Вміст ТБК-активних продуктів та виживання сперміїв бугаїв за додавання до сперми L-карнітину ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )**

Частини еякуляту	Вміст ТБК-активних продуктів, нмоль/мл	Вживання сперміїв, год.
I – контрольна	2,85±0,09	78,80±0,15
II – карнітину 10 мг/100 мл	2,33±0,08***	88,80±0,15***
III – карнітину 30 мг/100 мл	1,86±0,09***	95,20±0,30***
IV – карнітину 60 мг/100 мл	2,42±0,10**	72,00±1,34*

За дії L-карнітину сповільнюються процеси пероксидного окиснення ліпідів, що підтверджується вірогідним зниженням умісту ТБК-активних продуктів у розбавленій спермі. Збільшення вмісту L-карнітину до рівня 10 і 30 мг/100 мл сприяло вірогідному ( $p < 0,001$ ) зниженню вмісту цього кінцевого продукту ПОЛ на 18,3 та 34,7 % відповідно, порівняно із показником у контролі. Проте, вміст ТБК-активних продуктів у четвертій частині еякуляту (60 мг/100 мл) був вищим, ніж у II-й та III-й на 3,9 та 30,1 % відповідно.

За результатами виживання сперміїв було відмічено вищі його значення в II-й та III-й частинах еякуляту на 12,7 та 20,8 % відповідно ( $p < 0,001$ ), проте у IV-й групі – нижчі на 8,6 %, порівняно з виживанням у контролі. Загалом, відмічено негативну кореляцію між вмістом ТБК-активних продуктів у розбавленій спермі та виживанням сперміїв ( $r = -0,53$ ).

Оскільки попередніми дослідженнями доведено вплив L-карнітину в складі раціону на окисно-відновні процеси в спермі, ми вивчали дихальну активність сперміїв при додаванні досліджуваної добавки в розріджувач сперми (табл. 3.18).

Таблиця 3.18

**Споживання кисню спермою бугаїв при розбавленні  
її з додаванням L-карнітину ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )**

Споживання кисню, нг-атом O/хв $\times 10^9$ сперміїв	Частини еякуляту			
	I – контрольна	II – карнітину 10 мг/100 мл	III – карнітину 30 мг/100 мл	IV – карнітину 60 мг/100 мл
Спермою	13,88 $\pm$ 0,55	12,39 $\pm$ 0,61	10,17 $\pm$ 0,67***	10,18 $\pm$ 0,44***
у т.ч. за дії інгібіторів:				
NaF	11,48 $\pm$ 0,59	9,51 $\pm$ 0,70	7,20 $\pm$ 0,36***	7,39 $\pm$ 0,28***
Амітал	9,93 $\pm$ 0,32	7,57 $\pm$ 0,54**	4,77 $\pm$ 0,37***	5,11 $\pm$ 0,30***
Азид Натрію	7,83 $\pm$ 0,32	5,08 $\pm$ 0,29***	3,02 $\pm$ 0,20***	3,13 $\pm$ 0,29***
Na <sub>2</sub> ЕДТА	5,50 $\pm$ 0,35	3,69 $\pm$ 0,18***	2,47 $\pm$ 0,24***	2,51 $\pm$ 0,19***

Дослідженнями впливу середовищ розрідження з різною концентрацією L-карнітину на дихальну активність сперми бугаїв виявлено вірогідне зменшення споживання кисню, значення якого знаходиться в межах 10,17–13,88 нг-атом O/хв  $\times 10^9$  сперміїв. Зауважимо, що інтенсивність споживання кисню сперміями за рахунок ланок транспорту електронів на акцептор (кисень) у дослідних зразках сперми теж відрізняється, порівняно з контрольною. Зокрема, при розбавленні еякулятів L-карнітином у кількості 10 мг/100 мл величина спожитого

кисню аеробним гліколізом становила  $2,9 \text{ нг-атом О/хв} \times 10^9$  сперміїв (23,2 % від загальної кількості використаного кисню спермою), у кількості 30 мг/100 мл –  $2,97 \text{ нг-атом О/хв} \times 10^9$  сперміїв (29,2 %), 60 мг/100 мл –  $2,8 \text{ нг-атом О/хв} \times 10^9$  сперміїв (27,4 %) тоді, як у контрольній групі дихальна активність даної ланки становила  $2,4 \text{ нг-атом О/хв} \times 10^9$  сперміїв, що відповідає 17,3 % від загальної кількості спожитого кисню.

Отже, розріджувач із L-карнітином забезпечує вищу активність аеробного гліколізу в спермі бугаїв. Це, ймовірно, пов'язано з активацією L-карнітином метаболізму між сперміями і середовищем, що містить екзогенні енергетичні субстрати, які можуть використовуватись сперміями для ресинтезу АТФ. При цьому можна припустити, що реалізуються як гідратаційні властивості молекул карнітину, так і їх взаємодія з компонентами середовища та мембран сперміїв.

Окрім того, виявлена відмінність у інтенсивності дихання сперми за рахунок НАД-залежної ланки ланцюга дихання мітохондрій. При розрідженні II-ї, III-ї та IV-ї частин еякулятів величина дихальної активності за рахунок вказаної ланки становить 1,94; 2,43; 2,28 нг-атом  $\text{О/хв} \times 10^9$  сперміїв, що складає 15,7; 23,9; 22,4 % від загально спожитого кисню відповідно, на відміну від  $1,55 \text{ нг-атом О/хв} \times 10^9$  сперміїв (11,2 %) – у контролі. Таким чином, середовища із L-карнітином забезпечують високу активність НАД-залежної ланки ланцюга дихання мітохондрій сперміїв і, відповідно, використання альтернативних субстратів у ЦТК, при чому найбільше споживання кисню спермою за рахунок даної ланки було встановлено в III-й (30 мг карнітину/100 мл ) частині еякуляту.

Споживання кисню за рахунок термінальної ланки ланцюга дихання (цитохромокидазою) у II-й частині еякуляту становить  $2,5 \text{ нг-атом О/хв} \times 10^9$  сперміїв, III-й –  $1,8 \text{ нг-атом О/хв} \times 10^9$  сперміїв та в IV-й –  $2,0 \text{ нг-атом О/хв} \times 10^9$  сперміїв, що становить, відповідно, 20,2; 17,7 та 19,6 % від загальної кількості спожитого кисню сперміями, тоді як у контрольній групі

цей показник становить  $2,1 \text{ нг-атом О/хв} \times 10^9$  сперміїв (15,1 %). Отже, карнітин, за додавання його до середовища інкубації покращує транспорт електронів через термінальну ланку ланцюга дихання статевих клітин до акцептору – кисню.

Використання  $\text{Na}_2\text{ЕДТА}$  у якості інгібітора свідчить про гальмування вільнорадикального окиснення ненасичених жирних кислот у спермі, розрідженій з додаванням карнітину, оскільки у контрольній групі сперми витрати Оксигену на вказаний процес були найбільші й займали  $2,3 \text{ нг-атом О/хв} \times 10^9$  сперміїв або 16,8 % від спожитого Оксигену в той час, коли в II-й, III-й та IV-й групах це співвідношення становило 11,2; 5,4 та 6,1 % відповідно. Таким чином, у розріджених із додаванням L-карнітину еякулятах бугаїв, поряд з нормалізацією активності ланок ланцюга дихання сперміїв, гальмується вільнорадикальне окиснення ненасичених жирних кислот.

Таким чином, на інтенсивність споживання кисню сперміями впливає різна здатність використовувати та утилізувати енергетичні субстрати середовищ, активність метаболічних ланок, присутність акцепторів електронів та субстратів окиснення.

Виявлені зміни дихальної активності сперми бугаїв за додавання карнітину до середовища її інкубації певною мірою узгоджуються з активністю окисних ферментів. Зокрема, еякуляти дослідних груп сперми, порівняно з контрольною, характеризуються нижчою активністю СДГ та ЦХО (табл. 3.19).

Так, активність ЦХО в спермі, розрідженій з додаванням карнітину в кількості 10 мг/100 мл (II частина) становить  $24,50 \pm 1,89 \text{ мкМ/хв.} \times \text{л}$ , за розведення 30 мг/100 мл (III частина) –  $18,01 \pm 1,11 \text{ мкМ/хв.} \times \text{л}$ , а за 60 мг/100 мл (IV частина) –  $19,90 \pm 1,22 \text{ мкМ/хв.} \times \text{л}$ , що нижче на 17,1 % ( $p < 0,001$ ), 39,1 % ( $p < 0,01$ ) та 32,7 % ( $p < 0,01$ ) відповідно, порівнюючи з даними контролю. Аналогічних змін зазнала й активність СДГ, яка в II-й, III-й та IV-й дослідних частинах еякуляту мала нижчі, порівняно з

контролем, показники активності на 24,3 % ( $p<0,01$ ), 46,7 % ( $p<0,05$ ) та 41,1 % ( $p<0,01$ ) відповідно. Таким чином, відмічено позитивну корелятивну залежність між активністю в спермі ЦХО та СДГ ( $r=0,53$ ).

Таблиця 3.19

**Активність ензимів енергетичного обміну в спермі бугаїв,  
розбавленій з додаванням L-карнітину ( $M\pm m$ ,  $n=10$ )**

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

Отже, активування СДГ сперміїв контрольної частини еякулятів призводить до посиленого транспорту електронів у ФАД-залежну ланку ланцюга дихання мітохондрій, оминаючи НАД-залежну. Вказаний метаболічний шлях характеризує більш швидкий транспорт електронів до термінальної ланки ланцюга дихання – ЦХО. Тобто, за розрідження сперми без додавання карнітину, з одного боку, активування СДГ пришвидшує ресинтез АТФ у сперміях, а з другого, статеві клітини отримують менше на одну молекулу макроерга, оскільки слабше протікає транспорт електронів через НАД-залежну ланку і, відповідно, ресинтез АТФ за її участі.

Нормалізація активності ланок ланцюга дихання мітохондрій сперміїв у розріджених L-карнітином еякулятах підвищує збереженість статевих клітин у разі інкубації сперми за температури 2–4 °С, при чому виживання сперміїв при використанні досліджуваних доз у II-й та III-й частинах становить на 12,7 % ( $p<0,001$ ) та 20,8 % ( $p<0,001$ ) більше, ніж у контрольній частині еякуляту.



Результати досліджень свідчать, що L-карнітин проявляє протективний ефект при додаванні його до розріджувача сперми, чим суттєво покращує якісні показники сперми. Таким чином, вищезазначене вказує на перспективність додавання L-карнітину до розріджувачів сперми з метою корекції енергетичного обміну та прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу сперміїв бугаїв-плідників.

Основні наукові результати розділу опубліковані в працях [60, 62, 63, 66, 153, 155].

### **3.7. Економічна ефективність застосування L-карнітину в складі раціону та розріджувача сперми бугаїв**

Спермії є особливо чутливими до дії стрес-факторів різного походження, що негативно відображається на фізіологічних показниках якості сперми, процесі капацитації, виживанні сперміїв поза організмом та заплідненні. З метою підвищення адаптивного потенціалу сперми важливого значення набувають форми, які за рахунок внутрішніх механізмів спроможні протистояти стресовому впливу і пристосуватися до несприятливих умов без негативних змін фізіологічних параметрів. Одним із напрямків у вирішенні даної проблеми є застосування L-карнітину – природної вітаміноподібної речовини широкого спектру дії [187]. У проведених нами досліджах встановлено, що L-карнітин нормалізує ліпідний обмін, окисно-відновні реакції, впливає на інтенсивність процесів ПОЛ та на активність ферментів антиоксидантного захисту, що, в свою чергу, покращує функціональний стан та адаптаційні можливості організму в цілому та репродуктивної системи зокрема.

Показовими і найголовнішими критеріями, що характеризують показники якості сперми, вважають активність руху сперміїв, їх концентрацію та виживання, які за дії L-карнітину змінились у бік зростання, що і визначило економічну ефективність згодовуваної добавки.

Економічний ефект використання L-карнітину визначали за вартістю одержаної додаткової продукції та витратами на придбання добавки (табл. 3.20) (за даними на 2014 р.).

Таблиця 3.20

**Економічний ефект використання добавки L-карнітину  
до раціону бугаям**

№	Показник	Од. виміру	Група бугаїв		
			1– контрольна	2 – дослідна (20 г/гол.)	3 – дослідна (40 г/гол.)
1	Об'єм еякуляту	мл	3,75	4,50	4,85
2	Концентрація	10 <sup>9</sup> /мл	0,87	1,01	1,02
3	Активність спермій	балів	6,63	7,50	7,75
4	Кількість заморожених спермодоз	шт.	108	151	165
5	Ціна реалізації 1 спермодози	грн.	50	50	50
6	Собівартість 1 спермодози	грн.	25	25	25
6	Виручка від реалізації	грн./гол.	2700	3775	4125
7	Вживання спермій	год.	105	135	130
8	Ціна 1 кг Карніпасу	грн.	-	300	300
9	Витрати Карніпасу	кг	-	1,5	3,0
10	Витрати на добавку за період	грн./гол.	-	450	900
11	Економічна ефективність	грн./гол	2700	3325	3225

Результати досліджень свідчать про те, що застосування L-карнітину покращує показники якості сперми, за рахунок чого збільшується за період дослідження кількість одержаних спермодоз на одного бугая. Під час застосування L-карнітину додатково отримували у дні взяття сперми від 30 до 60 спермодоз на 1 бугая. Згідно з результатами розрахунків, за врахування реалізаційної ціни спермодози бугаїв та вартості використаної добавки

економічний ефект від реалізації сперми на одну тварину при застосуванні 20 г/гол. становить 3325 грн., а від застосування 40 г/гол. – 3225 грн., що на 23 та 19 % вище порівняно з ефективністю у контролі. Отже, застосовані дози L-карнітину проявляють стимулюючу дію на метаболічні процеси, чим забезпечують високу економічну ефективність.

Недостатній попит на сперму та її ціна є результатом того, що штучне осіменіння в Україні поки що не вийшло на промисловий рівень. Але не зважаючи на ці та ряд інших проблем, племінне та промислове скотарство в Україні поступово розвивається. У результаті проведених нами досліджень можна зробити висновок, про доцільність застосування L-карнітину для підвищення якісних та кількісних показників сперми.

## РОЗДІЛ 4

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Ліпідам належить важлива роль у формуванні механізмів адаптації клітин до різних умов навколишнього середовища [3, 59]. Якісний та кількісний ліпідний склад у тканинах організму значною мірою залежить від інтенсивності вільнорадикальних процесів окиснення. Головною мішенню в таких реакціях є ненасичені жирні кислоти мембранних фосфоліпідів. Відомо, що характер змін вмісту ліпідів у крові відображає характер їх змін у тканинах [124, 159]. У зв'язку з цим нами було досліджено вміст загальних ліпідів та фосфоліпідів у спермі та сироватці крові бугаїв за дії L-карнітину.

У результаті проведених досліджень на спермі та крові бугаїв з'ясовано, що L-карнітин сприяє збільшенню вмісту загальних ліпідів та змінює співвідношення їх окремих класів. Так, у спермі дослідних тварин уже на першому етапі досліджень збільшується відносний вміст фосфоліпідів, який утримується навіть після закінчення згодовування L-карнітину. Подібний ефект був зафіксований і в сироватці крові плідників. Збільшення вмісту фосфоліпідів можна пояснити нормалізацією та стабілізацією фосфоліпідного складу мембран клітин, зниженням інтенсивності процесів ліпопероксидації, а також посиленням метаболічних процесів за дії L-карнітину. Ці припущення підтверджує встановлена висока негативна корелятивна залежність між вмістом фосфоліпідів та продуктами пероксидного окиснення ліпідів у спермі та сироватці крові бугаїв.

Важливим моментом у стабілізації ліпідного обміну є регуляція мікров'язкості ліпідної фази мембран, одним із показників якої є величина співвідношення холестерол/фосфоліпіди. Встановлене, за згодовування L-карнітину, зменшення цього співвідношення у спермі та сироватці крові бугаїв корелює із підвищенням антиоксидантної активності та виживання

сперміїв. Про перехід ліпідів мембран у більш «рідкий» стан також свідчить зменшення у спермі та сироватці крові вільного холестеролу і триацилгліцеролів на фоні збільшення частки фосфоліпідів. Вказані зміни позитивно відбиваються і на репродуктивних якостях бугаїв (прояву статевих рефлексів, концентрації, активності та виживанню сперміїв), що, можливо, пояснюється різнобічною дією L-карнітину щодо стабілізації процесів ПОЛ плазматичних мембран сперміїв та активацією енергетичного обміну клітин.

Науковий інтерес представляє дослідження відносного вмісту окремих класів фосфоліпідів, оскільки вони найбільш уразливі в разі вільно-радикального окиснення [3, 266]. У процеси пероксидації залучаються також інші класи ліпідів, зокрема, лізофосфатидилхолін [126, 144, 265]. За дії L-карнітину вміст лізофосфатидилхоліну в спермі та сироватці крові бугаїв протягом періодів дослідження достовірно зменшується. Так, за 75-денного згодовування досліджуваної добавки в кількості 20 г/гол. вміст лізофосфатидилхоліну в спермі та сироватці крові бугаїв зменшується на 13,6 та 14,9 % відповідно, у порівнянні з контрольними тваринами. Збільшена до 40 г/гол. доза добавки не проявила ефекту зниження вмісту лізофосфатидилхоліну, у порівнянні з її кількістю в 20 г/гол. і виявилась менш ефективною. Нами встановлено, що вміст лізофосфатидилхоліну корелює із концентрацією ТБК-активних продуктів. Це підтверджує взаємозв'язок активації пероксидного окиснення ліпідів з одним із проявів ліпідної тріади пошкодження – накопиченням лізофосфатидилхоліну [59]. Зменшення кількості лізофосфатидилхоліну в спермі та сироватці крові бугаїв, ймовірно, пов'язано із збільшенням вмісту фосфатидилхоліну та фосфатидилетаноламіну, тобто саме тих фосфоліпідів, які можуть легко окиснюватись вільними радикалами при інтенсифікації пероксидного окиснення ліпідів. Слід зауважити, що зменшення вмісту лізофосфатидилхоліну може бути також результатом зниження рівня активності

фосфоліпази А, яка здійснює гідроліз фосфоліпідів з утворенням неестерифікованих жирних кислот [73, 265].

У результаті проведених досліджень з'ясовано, що L-карнітин сприяє збільшенню відносного вмісту фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну та кардіоліпіну в спермі та сироватці крові дослідних бугаїв. Так, через 75 діб згодовування L-карнітину вміст фосфатидилхоліну в спермі збільшується на 25 % ( $p < 0,001$ ) – у бугаїв другої групи та на 24,3 % ( $p < 0,001$ ) – в третій, порівняно із контролем і утримується на відносно сталому рівні навіть після закінчення згодовування добавки. Збільшення відносного вмісту фосфатидилхоліну, можливо, відбувається за рахунок активації біосинтезу холіну, в процесі якого L-карнітин виступає донором метильних груп [72]. Також, подібний ефект може бути наслідком зниження активності фосфоліпази А<sub>2</sub> – ферменту, який каталізує гідроліз фосфатидилхоліну [167], що узгоджується із зниженням вмісту кінцевого продукту його ферментативного гідролізу – лізофосфатидилхоліну в спермі та сироватці крові бугаїв. Підтвердженням вищезазначеного є встановлені негативні корелятивні зв'язки між вмістом фосфатидилхоліну та лізофосфатидилхоліном і фосфатидною кислотою, а також позитивні – із виживанням та концентрацією сперміїв.

Важливим є встановлення факту вірогідного збільшення в спермі бугаїв за дії L-карнітину кількості фосфатидилетаноламіну та фосфатидилхоліну, які за рахунок вмісту поліненасичених жирних кислот є високочутливими до дії вільних радикалів. Збільшення вмісту вищезазначених фосфоліпідів може бути пов'язане з їх участю в різних фізіологічних процесах: реакціях дезінтоксикації, енергетичного обміну, активації ліпази та регуляції активності різних трансмембранних білків, що співзвучне з даними літератури [50, 208, 230].

Варто зауважити, що фосфатидилсерин, фосфатидилхолін та фосфатидилетаноламін є метаболічно спорідненими [118]. Так, шляхом декарбоксілювання фосфатидилсерину може утворюватися фосфатидилета-

ноламін [94], тому не виключено, що зниження фосфатидилсерину та збільшення кількості фосфатидилетаноламіну в сперміях бугаїв дослідних груп може бути зумовлено активуванням вищезазначеного метаболічного шляху. При цьому, зменшення в спермі та крові бугаїв вмісту фосфатидилетаноламіну – найбільш ненасиченого фосфоліпиду, прямо вказує на його пероксидативну деструкцію.

Виявлені у дослідних групах зміни вмісту окремих фракцій фосфоліпідів більшою мірою є наслідком антиоксидантної дії досліджуваної добавки. Підтвердженням цієї гіпотези є докази того, що одним із елементів молекулярних механізмів розвитку олігозооспермії та пониження чоловічого фертильного потенціалу є зміни фосфоліпідного складу сперміїв, які відбуваються в результаті дії вільних радикалів та переважно проявляються накопиченням фосфатидилсерину і зменшенням кількості фосфатидилетаноламіну [94].

Зміну кількісного вмісту окремих фосфоліпідних фракцій у спермі та крові дослідних тварин, очевидно, можна пояснити також підвищенням активності карнітин-ацетилтрансферази та кращою доступністю жирних кислот для синтезу різних класів фосфоліпідів, а також збільшенням мембранного потенціалу, що оптимізує структуру та покращує функції мембран [59, 86, 94, 151, 177, 230]. Своєю чергою, причиною зниження показників якості сперми є саме структурні зміни у фосфоліпідному складі сперміїв, що підтверджено іншими дослідженнями [265].

Підвищення вмісту фосфоліпідів та окремих їх фракцій у спермі та сироватці крові бугаїв можуть вказувати на структурну й функціональну перебудову, спричинену посиленням метаболічних процесів як у сім'яниках, так і в організмі в цілому. З іншого боку, збільшення вмісту фосфоліпідів можна розглядати як адаптаційний механізм у зв'язку з інтенсивними затратами енергетичних матеріалів для процесів відтворення та збільшення концентрації сперміїв [2, 33, 222].

Інформативним є дослідження концентрації неестерифікованих жирних кислот, вміст яких у біологічних рідинах пов'язаний із енергозабезпеченістю організму, мобілізацією їх із жирових депо та характеризує активність процесів ліполізу [272]. Жирні кислоти вивільняються із триацилгліцеролів під впливом триацилгліцеролліпази та окиснюються в клітинах за участю карнітинової системи [227].

Упродовж досліджу, паралельно із збільшенням вмісту фосфоліпідів, було встановлено зниження частки неестерифікованих жирних кислот у спермі та сироватці крові бугаїв. Це, на нашу думку, може вказувати на інтенсивне використання їх як додаткового джерела енергії, що стимулюється L-карнітином [72] та витратою їх на біосинтез ендогенних фосфоліпідів [71]. При цьому, процес повного окиснення жирних кислот з утворенням енергії потребує, з одного боку, більшого споживання глюкози тканинами з метою утворення піровиноградної і щавлевооцтової кислот для включення утвореного внаслідок  $\beta$ -окиснення жирних кислот ацетил-КоА в цикл трикарбонових кислот [80]. З іншого боку, цикл Кребса відбувається лише за умови достатньої забезпеченості тканин киснем [68, 88]. За нашими даними, L-карнітин забезпечує збільшення використання глюкози тканинами, і зумовлює зростання кисневої ємності крові [45, 233], що дозволяє підвищити ефективність енергетичного забезпечення тканин саме за рахунок жирних кислот на тлі їх посиленого перенесення на внутрішню мембрану мітохондрій за участі L-карнітину. Одночасно з цим, наші дані опосередковано можуть свідчити й про посилення процесів спряження окиснення і фосфорилування в мембранах мітохондрій.

Протягом дослідного періоду проявлялась тенденція до зменшення вмісту холестеролу в спермі, причому в сироватці крові бугаїв відмічено його вірогідне зменшення. Ми припускаємо, що за дії L-карнітину такі зміни вмісту холестеролу можуть бути пов'язані із використанням його на біосинтез тестостерону в організмі плідників [28]. Незначне зменшення кількості



холестеролу, очевидно, супроводжується збільшенням розрідженості клітинних ліпідів, вибіркової проникності біологічних мембран, рухливості жирнокислотних молекул у фосфоліпідах, активуванням більшості ліполітичних ферментів, АТФ-ази [208] та, як наслідок, зниженням процесів ПОЛ і покращенням енергозабезпеченості клітин [88, 101].

Вище викладені припущення підтверджують встановлені у результаті досліджень корелятивні зв'язки. Так, виявлено обернену залежність між вмістом холестеролу та фосфоліпідів у досліджуваних біорідинах, а також виживанням спермійв бугаїв. Прямо пропорційна кореляційна залежність, встановлена між вмістом холестеролу та ТБК-активними продуктами в спермі та крові бугаїв, вказує на його зв'язок із процесами пероксидного окиснення ліпідів. Збільшення вмісту фосфоліпідів та зменшення кількості холестеролу з покращенням морфо-функціональних показників сперми підтверджуються роботами ряду авторів [3, 47].

У загальному, одержані результати свідчать про прямий корелятивний зв'язок між вмістом ліпідних фракцій у сироватці крові та спермі бугаїв-плідників. Ці дані підтверджують той факт, що кров об'єктивно відображає рівень фізіологічних та біохімічних процесів у тканинах організму за дії екзогенних та ендогенних факторів [87].

Вміст ліпідів та співвідношення окремих їх фракцій знаходиться у тісному взаємозв'язку із процесами ПОЛ і активністю ферментів АОС. Зокрема, кількість фосфоліпідів пов'язана оберненими корелятивними зв'язками із вмістом продуктів ПОЛ та прямими – з активністю ензимів АОС. Корелятивні зв'язки вмісту холестеролу, навпаки, прямі із вмістом продуктів пероксидного окиснення ліпідів та обернені – з активністю антиоксидантної системи.

Зменшення концентрації продуктів пероксидного окиснення супроводжується збільшенням вмісту фракцій фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну та кардіоліпіну, тоді як активація процесів ліпопероксидації призводить до збільшення вмісту лізофосфатидилхоліну

та холестеролу в спермі та сироватці крові бугаїв. Тому якісний і кількісний ліпідний склад у тканинах організму значною мірою залежить від інтенсивності вільнорадикальних процесів окиснення.

З ліпідним обміном тісно пов'язане пероксидне окиснення ліпідів, яке відображає універсальну відповідь клітин на ендогенні чи екзогенні стресові чинники [29, 124, 170] та визначає можливість переходу адаптаційних змін мембран у патологічні [5]. За фізіологічних умов ПОЛ сприяє оновленню ліпідних компонентів у організмі, а інтенсифікація вільнорадикальних процесів призводить до змін вмісту загальних ліпідів та співвідношення їх окремих класів [235, 247]. Інтенсивність ліпопероксидації в організмі визначається за вмістом продуктів ПОЛ.

У спермі бугаїв за 75-денного згодовування L-карнітину та після закінчення його додавання в раціон встановлено вірогідне зменшення кількості гідропероксидів ліпідів та дієнових кон'югатів, а також встановлено прямий сильний корелятивний зв'язок ( $r=0,77$ ) між цими показниками. При дослідженні ТБК-активних продуктів встановлено, що їх кількість також вірогідно зменшується за введення L-карнітину та проявляється його пролонгований ефект. Подібні закономірності виявлено і в сироватці крові бугаїв.

Зменшення вмісту продуктів пероксидації є безпосереднім свідченням зниження генерації активних форм Оксигену та нормалізації роботи ферментативної та неферментативної ланок у системі антиоксидантного захисту, що відбувається за участі L-карнітину [92, 111, 139].

У дослідженнях було встановлено, що із зниженням концентрації продуктів ПОЛ у спермі бугаїв збільшується виживання та рухливість сперміїв, що може свідчити про нормалізацію жирнокислотного складу мембран органел, які забезпечують вибірково проникність і регулюють внутрішньоклітинний обмін. Одержані результати узгоджуються із даними авторів, які вказують, що рухливість, патологічні зміни у сперміях та в'язкість сперми тісно пов'язані з пероксидацією ліпідів [28, 41, 114, 154,

158]. Відповідні зміни, певною мірою, можна пояснити зменшенням у вказаних біологічних рідинах неестерифікованих жирних кислот, що є субстратом ліпопероксидації, а також первинних та вторинних продуктів ПОЛ. Одержані результати підтверджують функціонування механізмів впливу L-карнітину на ліпідний обмін, зокрема на нормалізацію енергопродукції, зниження концентрації вільних жирних кислот, які є субстратом для утворення вільних радикалів та забезпечення цілісності субклітинних структур і мембран.

Захист клітин від деструктивної дії продуктів ПОЛ, а також підтримання окисного балансу в організмі тварин забезпечує багатокомпонентна система антиоксидантного захисту. У механізмі регуляції вільнорадикальних процесів ключову роль відіграють ферменти-антиоксиданти, зокрема супероксиддисмутаза, каталаза та глутатіонпероксидаза [7,14, 40, 49, 53, 112].

Дослідженнями встановлено, що активність СОД у спермі та крові бугаїв після застосування L-карнітину проявляє тенденцію до зниження, порівняно із показником у контролі. Виявлено, що активність цього ензиму в спермі обернено корелює із рухливістю та виживанням сперміїв, і прямо – із вмістом ТБК-активних продуктів, що підтверджується результатами інших авторів [169].

Зниження активності супероксиддисмутази, очевидно, зумовлене відповіддю організму на зменшення у середовищі субстрату – супероксиданіонрадикалу, який виробляється у меншій кількості в процесі окисно-відновних реакцій у спермі та крові бугаїв.

У відповідь на пероральне введення L-карнітину спостерігається вірогідне підвищення каталазної активності в спермі та крові бугаїв. Такі зміни активностей ензимів можна пояснити явищем перехресної регуляції для супероксиддисмутази та каталази. Супероксидний аніон-радикал для каталази є негативним ефектором, а пероксид Гідрогену – позитивним, для СОД – навпаки. Очевидно, що за певних умов відновлення пероксиду

Гідрогену може слугувати додатковим джерелом молекулярного кисню, а КАТ, виконуючи антиоксидантну функцію, компенсаторно підвищує коефіцієнт корисного використання екзогенного кисню в енергетичних перетвореннях, внаслідок часткового повернення у метаболічні шляхи окислювального фосфорилування того молекулярного кисню, який відновлюється в організмі по одноелектронному шляху [143].

Згідно із сучасними уявленнями, теза про важливішу захисну роль СОД не достатньо очевидна, так як токсичність її субстрату – супероксидного аніон-радикалу не дуже висока. Набагато більш небезпечний пероксид Гідрогену, що утворюється в результаті супероксиддисмутазної реакції, під впливом якого може спостерігатись інактивація каталази та глутатіонпероксидази [205, 224]. Окрім того, пероксид Гідрогену дає початок надзвичайно агресивному гідроксильному радикалу, тому у разі дефіциту ГПО й КАТ висока активність СОД слугує додатковим пошкоджуючим фактором.

Враховуючи, що вільні радикали Оксигену, значною мірою, впливають на клітину через стимуляцію пероксидного окиснення ліпідів у плазматичній мембрані, тому захист від руйнівної їх дії повинен бути спрямований, у першу чергу, на утилізацію жирнокислотних і ліпідних гідропероксидів [49, 83]. Основна роль у цьому процесі належить глутатіонпероксидазі та каталазі. Результати проведених досліджень показали, що активність цих двох ензимів за введення L-карнітину була вірогідно вищою у тварин дослідних груп, причому більших змін зазнала глутатіонпероксидазна активність. Одержані результати підтверджує також прямий корелятивний зв'язок між активністю КАТ і ГПО у спермі та крові бугаїв.

Підвищення активності вищевказаних ензимів на фоні зниження вмісту ТБК-активних продуктів у спермі та крові дослідних бугаїв свідчать про антиоксидантні власності L-карнітину. При цьому, зростання активності глутатіонпероксидази, головним чином, сприяє зниженню органічних гідропероксидів і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів та

направлене на попередження інтенсифікації ліпопероксидації [5, 14, 16]. Ця гіпотеза підтверджується встановленими оберненими корелятивними зв'язками між активністю глутатіонпероксидази та вмістом продуктів ПОЛ у спермі та крові бугаїв.

Не виключено, що збільшення глутатіонпероксидазної активності зумовлене також наявністю доступного пулу глутатіону. Це узгоджується з думкою про те, що тривала активація ГПО можлива лише за умови підтримання достатньо високого рівня внутрішньоклітинного глутатіону, який виконує роль не лише субстрату реакцій, але й фактора, необхідного для постійного відновлення розміщених у каталітичному центрі ензиму селеновмісних груп, які окиснюються в процесі глутатіонпероксидазної реакції [83]. Іншими авторами було встановлено позитивний вплив добавок L-карнітину на збільшення рівнів відновленого глутатіону [168], через посередництво якого також був можливий антиоксидантний ефект. Таким чином, зниження вмісту продуктів ПОЛ у спермі та крові бугаїв дослідних груп на фоні змін активності антиоксидантних ферментів є свідченням інгібування аутооксидантних процесів та підвищення рівня антиоксидантного захисту в організмі за дії L-карнітину.

Слід відмітити, що вища антиоксидантна активність була більше виражена у спермі та сироватці крові бугаїв 2-ї групи, якій вводили 20 г/гол. досліджуваної речовини і, очевидно, що у такій кількості L-карнітин сприяє ефективнішому залученню метаболітів ПОЛ в енергетичний і пластичний обміни шляхом підтримки стабільності та високої активності ферментів окисно-відновних і антиоксидантних процесів.

Результати вивчення антиоксидантних властивостей L-карнітину показали не тільки вірогідне зниження рівня процесів ПОЛ у спермі та крові бугаїв дослідних груп проти контрольних, але й покращення фізіологічних показників сперми, що узгоджується з існуючими уявленнями щодо ролі вільнорадикального окиснення біомолекул у порушенні нормальної життєдіяльності клітин [94]. Не виключено, що такий ефект досягається за

рахунок накопичення L-карнітину та його ацетильованої форми в епідидимісі, де вони виступають в якості антиоксидантів, захищаючи спермії від руйнівної дії АФО [27].

Проведені дослідження щодо визначення впливу L-карнітину на гематологічні показники, як важливі параметри гомеостазу організму бугаїв, показали тенденцію до збільшення концентрації гемоглобіну та вірогідне дозозалежне збільшення кількості еритроцитів. Такі зміни ми схильні пов'язувати з раціональнішим використанням кисню периферійними тканинами бугаїв на тлі зменшення інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів за впливу досліджуваної добавки, що своєю чергою, за принципом зворотного зв'язку, зумовило активацію еритропоезу зі збільшеним умістом у еритроцитах гемоглобіну. Враховуючи, що зміни досліджуваних гематологічних показників не виходять за межі фізіологічних норм, можна стверджувати, що L-карнітин не викликає порушення функціонування клітин червоного кісткового мозку.

Одним із найважливіших показників загального стану органів і систем організму, в тому числі функціонального стану репродуктивної системи бугаїв є біохімічний склад крові. Визначення змін біохімічних показників крові та сперми за дії L-карнітину виявило вірогідне збільшення вмісту загального білка у крові та спермі бугаїв обох дослідних груп, порівняно з контрольною групою, причому переважно за рахунок підвищення рівня альбумінів. Альбуміни підтримують колоїдно-осмотичний тиск крові, транспортують вуглеводи, ліпіди, гормони, вітаміни, мінеральні речовини [125], чим позитивно впливають на функціональний стан органів і систем організму.

Очевидно, за рахунок L-карнітину покращується білоксинтезувальна функція печінки. Нами також не виключається й посилення абсорбції амінокислот у травному каналі, оскільки цей процес є енергозалежним. Виявлені особливості змін білків у спермі також можна пояснити збільшенням концентрації живих статевих клітин за дії карнітину.

На підвищене використання жирних кислот в обміні енергії за дії L-карнітину, на нашу думку, вказує також вірогідно вищий рівень глюкози в крові дослідних бугаїв.

Отримані дані дозволяють стверджувати про гепатопротекторний вплив L-карнітину, що виявляється дозозалежним зниженням активності ферменту переамінування – АСТ у сироватці крові [125], хоча вірогідними були зміни тільки у третій групі. Враховуючи, що цей фермент у крові представлений в основному мітохондріальною ізоформою [46, 79], такі зміни можна розцінювати як наслідок нормалізації структури мембран мітохондрій гепатоцитів. Ці результати, ймовірно, зумовлені підвищенням функціональної активності печінки, в якій відбувається активація метаболічних шляхів за участі L-карнітину, що і забезпечує підтримання функціонального стану систем організму тварин. Підтвердженням цієї гіпотези є виявлений позитивний кореляційний зв'язок кількості загального білка крові з концентрацією й рухливістю сперміїв, а також кількості альбумінів крові з об'ємом еякуляту та концентрацією сперміїв бугаїв.

Поряд із цим, у спермі тварин дослідних груп, у порівнянні з контрольною, спостерігалось вірогідне збільшення активності АСТ. Ми не виключаємо, що зміни активності амінотрансферази можуть бути пов'язані із використанням вільних амінокислот у енергетичних і пластичних процесах, а також із координацією цих процесів у спермі [78]. Можливо, ізоформи цієї важливої трансферази, які виступають компонентами малат-аспартаного шунту сприяють посиленню окисно-відновних процесів у спермі із залученням амінокислот. Підтвердженням цієї гіпотези є встановлений позитивний зв'язок між активністю АСТ та показниками спермопродукції бугаїв (концентрацією сперміїв та об'ємом еякуляту), що узгоджується із даними інших досліджень [79]. Вивченням залежності активності АСТ від тривалості виживання сперміїв встановлено сильну корелятивну залежність ( $r=0,85$ ), що підтверджено результатами інших досліджень [52, 81, 82].

Ймовірно активування АСТ і збільшення виживання сперміїв спричиняє підвищення активності цитозольної АСТ, яка здійснює трансамінування аспартату з  $\alpha$ -кетоглутаратом і постачання в мітохондрії глутамату, який за окисного дезамінування може перетворюватись в  $\alpha$ -кетоглутарат і використовуватись у ЦТК [68].

Важлива роль у підтриманні функціонального стану залоз статевої системи самців належить тестостерону. Встановлено, що за згодовування L-карнітину підвищується концентрація вказаного андрогену, хоча достовірна різниця, в порівнянні з контрольним показником, виявилась у 3-й групі бугаїв, що отримували його в дозі 40 г/гол.

Як відомо, основний синтез тестостерону відбувається у сім'яниках ссавців, зокрема у клітинах Лейдига, причому всі необхідні для його синтезу білки та ферменти знаходяться в мітохондріях. Тому, ключову роль на перших етапах метаболізму даного стероїду відіграють саме мітохондрії, які здатні обмежувати біосинтез тестостерону, перешкоджаючи переміщенню холестеролу до власної внутрішньої мембрани, де відбувається його подальше перетворення [221, 243]. На основі вище викладеного та у відповідності з літературними даними [173], ми вважаємо, що активізація стероїдогенезу за дії L-карнітину є результатом нормалізації структури та функцій мітохондрій, а також збільшення їх дихальної активності.

Збільшення концентрації тестостерону за дії карнітину частково можна пояснити збільшенням у дослідних самців рецепторів до даного гормону за рахунок зменшення периферичної жирової тканини в організмі. Як відомо [19, 219, 223, 264], надлишок жирової тканини у самців призводить до периферичної конверсії тестостерону в естрогени, при чому пригнічується робота гіпоталамо-гіпофізарної системи, що негативно впливає на процеси сперміогенезу та статеві рефлекси.

Не виключено, що посилення синтезу тестостерону може бути одним із наслідків зниження вмісту АФО за рахунок нормалізації мембранного потенціалу мітохондрій та забезпечення оптимального перебігу електронно-



транспортних реакцій [198]. Виявлена позитивна кореляція між концентрацією тестостерону в крові та концентрацією й виживанням спермійів бугаїв підтверджує стимулюючий вплив даного гормону на процеси сперміогенезу й підтримання функціональної активності спермійів.

Таким чином, виявлені особливості біохімічного профілю крові та сперми, ймовірно, пов'язані з інтенсифікацією енергетичного обміну та забезпеченням підвищеного рівня метаболічних процесів за участі L-карнітину, що здійснюється за рахунок посилення ліполізу та залучення амінокислот у процеси біосинтезу структурних білків організму з паралельним зниженням їх розпаду.

Багаточисленні ендо- та екзогенні чинники в певних умовах стимулюють або гальмують відтворну функцію, призводять до порушень репродуктивної здатності тварин, визначають запліднюваність та розвиток потомства [174]. Маркерами впливів та змін, що відбуваються в статевих клітинах, є окисні процеси та показники, які свідчать про їх перебіг: споживання кисню [117], транспорт електронів у позаклітинний простір [193], активність ферментів дихального ланцюга [75], вміст антиоксидантів та продуктів окиснення ліпідів [122].

Фізіологічні показники сперми плідників визначають її запліднюючу здатність [52]. Нами встановлено покращення фізіологічних показників якості сперми за дії L-карнітину. Зокрема, збільшення об'єму еякуляту, концентрації та активності спермійів бугаїв знаходилось у межах фізіологічних норм і прямо залежало від дози згодовуваного L-карнітину. Отримані результати узгоджуються із даними авторів, які свідчать про стимулюючий вплив досліджуваної добавки на процес сперміогенезу та здатність L-карнітину покращувати якість сперми [190, 280]. Більш ефективною для вищевказаних показників виявилась доза згодовуваного Карніпасу в кількості 40 г/гол.

Покращення фізіологічних показників сперми з підвищенням дози L-карнітину можна пояснити гальмуванням процесів пероксидного окиснення

ліпідів, які входять до складу мембран сперміїв [171] і, як результат, збереженням цілісності та життєздатності статевих клітин. Проте, виживання сперміїв виявилось вищим у сперміїв бугаїв, яким згодовували Карніпас у кількості 20 г/гол. Очевидно, це пов'язано з тим, що із збільшенням дози карнітину зростає концентрація та активність сперміїв, а це, у свою чергу, спричиняє конкуренцію за субстрати окиснення та більше використання енергетичних ресурсів і кисню для руху.

Варіабельність фізіологічних показників еякулятів бугаїв також може бути зумовлена індивідуальними особливостями плідників, умовами зовнішнього середовища, змінами нейроендокринної регуляції процесів сперміогенезу, розміром сім'яників, якістю підготовки до садки та проявами статевих рефлексів [179].

Після еякуляції густа маса сперміїв, розріджена секретами додаткових статевих залоз, забезпечується субстратами окиснення і статеві клітини набувають здатність до прямолінійно-поступального руху [96, 165]. Енергію для руху спермії бугаїв отримують шляхом використання присутніх у плазмі сперми цукрів, ліпідів та білків, а одним із основних біохімічних процесів, за рахунок якого ресинтезується АТФ, є дихання [165]. При цьому виявлено, що інтенсивність використання субстратів окиснення окремими із ланок ланцюга дихання є маркерами фізіологічних якостей і запліднювальної здатності статевих клітин [75]. У зв'язку з цим досліджувались зміни активності ферментів дихального ланцюга та дихальної активності сперми за дії L-карнітину.

Аналіз результатів свідчить, що додавання до раціонів бугаїв наростаючих доз карнітину забезпечує підвищення активності сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази у спермі. СДГ є одним із важливих окисних ферментів ЦТК та першою ланкою у ланцюзі переносу електронів через убіхінон й систему цитохромів до Оксигену. Враховуючи, що характерними особливостями СДГ є її локалізація на внутрішній поверхні мітохондрій та незалежність активності ензиму від співвідношення окисненої та відновленої форм НАД/НАДН, можна припускати про

опосередкований вплив L-карнітину на нормалізацію енергогенеруючої функції мітохондрій [139].

Цитохромоксидаза – ензим кінцевої ланки транспорту електронів та протонів у дихальному ланцюзі до кисню [55]. ЦХО разом із СДГ характеризують мітохондріальний компонент споживання кисню, забезпечуючи ресинтез АТФ, тому їх активність впливає на метаболізм у сперміях [75].

Збільшення активності СДГ та ЦХО вказує, що у клітинах відбувається активація реакцій ЦТК, очевидно, на початкових етапах його функціонування, а точніше під час конденсації ацетил-КоА із оксалоацетатом. Саме на цьому етапі прискорюється приєднання метильної групи ацетил-КоА із подальшим збільшенням гідролізу тіоефірного зв'язку й утворення вільного КоА-SH. Це дає підстави вважати, що можливі порушення на етапі першої реакції ЦТК у результаті зниження надходження необхідних субстратів (в тому числі із-за блокування  $\beta$ -окиснення та інших перетворень жирних кислот). Звідси за умов розладів карнітинової транспортної системи, можливо, гальмуються і всі наступні реакції ЦТК, у тому числі й транспорт протонів через внутрішню мембрану мітохондрій.

Ймовірно, що активація вказаних ензимів може бути пов'язана також із підтриманням цілісності внутрішніх і зовнішніх мембран мітохондрій, а також багатьох важливих компартментів клітини за дії карнітину. При цьому збільшуються обсяги окиснення поживних речовин та оптимізуються постійні взаємозв'язки з інтермедіарним й загальним обміном речовин організму [55, 159, 196]. Припущення про оптимізацію енергетичного обміну за дії карнітину узгоджуються із даними інших авторів, які засвідчують, що добавка L-карнітину позитивно впливає на діяльність мітохондрій, при чому зменшується кількість сперміїв із неактивними мітохондріями та збільшується кріостійкість статевих клітин [252].

Оскільки СДГ і ЦХО є складовими ланцюга дихання мітохондрій, нами було встановлено позитивну кореляцію між вказаними ферментами, що

підтверджено й іншими дослідженнями [116]. Встановлена позитивна корелятивна залежність активності ензимів із концентрацією сперміїв, що, очевидно, зумовлено локалізацією ферментів у мітохондріях статевих клітин, а тому із збільшенням кількості їх в еякуляті має зростати й активність ферментів.

Одержані результати свідчать про тісний взаємозв'язок між активністю СДГ та ЦХО у спермі, а також із фізіологічними показниками сперміїв, що характеризують їх життєздатність. Порівнюючи результати впливу різних доз карнітину на активність вищевказаних ферментів можна припустити, що вони стабілізують і забезпечують транспорт електронів у дихальному ланцюзі мітохондрій сперміїв. Оскільки дихальна активність поєднує мітохондріальну (синтез АТФ) та немітохондріальні компоненти (процеси пероксидного окиснення), переважання одної із них і визначає якісні зміни в еякулятах (покращення або погіршення).

Виявлені зміни активності окисних ферментів підтверджуються змінами дихальної активності сперми. Так, за згодовування L-карнітину в спермі бугаїв відбувається збільшення споживання кисню, причому переважно за рахунок мітохондріальної компоненти. Очевидно, що саме перевага мітохондріальної компоненти дихання над азидрезистентною у загальній кількості спожитого кисню є необхідною умовою для активного мітохондріального дихання і, відповідно, синтезу АТФ. Підтвердженням цієї гіпотези є встановлений позитивний зв'язок між мітохондріальним диханням та фізіологічними показниками сперми бугаїв.

Аналіз кореляційних залежностей між показниками окисно-відновних процесів засвідчив, що інтенсивність дихання сперми, зокрема її мітохондріальна компонента позитивно корелює із активністю ферментів СДГ і ЦХО. Ми припускаємо, що мітохондріальне споживання кисню визначається саме активністю немітохондріальних процесів. Така закономірність зумовлена здатністю сперміїв окиснювати субстрати середовищ, генерувати у процесі метаболізму активні форми Оксигену [189,

210, 241] і опосередковано впливати продуктами окиснення, в тому числі вільнорадикального [198], на структури мітохондрій і окремі ланки (зокрема СДГ) дихального ланцюга [54, 117]. Крім цього, дихальний ланцюг, в тому числі ЦХО, генерують активні форми Оксигену [240]. Відповідно, за стимуляції азидрезистентного дихання, в тому числі, вільнорадикального окиснення ненасичених жирних кислот, гальмується АТФ-генеруюча здатність сперміїв, що і проявляється зниженням мітохондріального споживання кисню, активності ферментів дихального ланцюга (СДГ та ЦХО), яке ми спостерігали у контрольних зразках сперми.

Результатами проведених досліджень встановлено, що за дії L-карнітину відбувається зниження інтенсивності процесів ПОЛ у спермі та крові бугаїв, що проявляється зниженням вмісту гідропероксидів ліпідів, дієнових кон'югатів та ТБК-активних продуктів на фоні підвищення активності антиоксидантних ферментів – каталази та глутатіонпероксидази, тоді як у активності супероксиддисмутази відмічалась тенденція до зменшення по відношенню до контролю. Це, ймовірно, пов'язано із активацією окислювальних процесів енергетичного обміну за участі L-карнітину, при чому інтенсифікація обмінних процесів сприяє як ефективній утилізації недоокиснених метаболітів, так і забезпеченню спряження оксигеназних, оксидазних та синтетичних процесів, які підтримують на належному рівні активність ферментів антиоксидантного захисту. Такі висновки узгоджуються з характером змін активності каталази і глутатіонпероксидази, які безпосередньо беруть участь як в утилізації пероксидів, так і в утворенні ендogenous кисню.

Свідченням подібного впливу є дані щодо змін дихальної активності сперміїв, які підтверджують збільшення частки мітохондріального споживання кисню та збільшення активності ферментів дихального ланцюга за дії L-карнітину. Це збільшує синтез АТФ і, як наслідок, позитивно впливає на рухливість та виживання сперміїв. Загалом, потужність і

спряженість окисно-відновних процесів переважає у тварин, які отримували L-карнітин.

Отримані вище дані щодо змін активності ферментів АОС, процесів ПОЛ та фізіолого-біохімічних показників сперми знайшли підтвердження під час вивчення дії L-карнітину в складі розріджувача сперми. Зокрема це підтверджено активністю ферментів антиоксидантного захисту розбавленої сперми бугаїв, при чому виявлено збільшення активності каталази та глутатіонпероксидази, а також зниження активності СОД у дослідних зразках сперми із різною концентрацією L-карнітину, по відношенню до контрольної.

Підвищення каталазної активності на тлі зниження активності СОД зумовлюється, ймовірно, збільшенням концентрації пероксиду Гідрогену, оскільки за таких умов активуються ензими, які його розщеплюють та інактивуються системи, що його продукують. Одержані результати узгоджуються із даними літератури щодо регуляції СОД за участю інтермедіатів окисно-відновного метаболізму, які індукують синтез ензиму за збільшення концентрації донорів електронів, або пригнічують його – в разі накопичення у клітині акцепторів [108]. Така різнонаправлена зміна активностей цих ферментів, згідно літературних даних, характерна для гіпоксії [143].

Очевидно, що активування каталази може бути зумовлено особливостями енергозабезпечення сперміїв [198]. Існує припущення, що у разі розщеплення пероксиду Гідрогену каталаза забезпечує додаткову кількість кисню для ефективного функціонування ланцюга дихання мітохондрій та окиснювального фосфорилування.

Встановлено, що важливою складовою, яка здатна регулювати окисні процеси в спермі, є кількість доданого L-карнітину. Результати підтверджують, що ефект біохімічної дії досліджуваної добавки залежав від її дози в спермі і, таким чином, L-карнітин виконував роль ефектора (активатора чи інгібітора) ферментів. Тому, для встановлення ефективності

використання різного вмісту L-карнітину в складі розріджувача було визначено вміст у розбавленій спермі накопичених ТБК-активних продуктів ПОЛ та виживання сперміїв.

Виявлено, що за додавання до сперми L-карнітину вірогідно зменшується вміст ТБК-активних продуктів, причому найменша кількість продуктів окиснення забезпечувалась введенням його у кількості 30 мг/100 мл. Подальше збільшення вмісту L-карнітину до рівня 60 мг/100 мл сприяло накопиченню ТБК-активних продуктів у спермі, що складало на 30,1 % більше, ніж за вмісту 30 мг/100 мл. Концентрація високотоксичних продуктів ПОЛ впливає на виживання сперміїв, які між собою зв'язані негативним корелятивним зв'язком.

Загалом, визначено оптимальну дозу введення L-карнітину до розбавника сперми бугаїв, що становить 30 мг карнітину на 100 мл розбавника. Така доза пригнічує інтенсивність продукування активних форм Оксигену сперміями бугаїв, нормалізує активність антиоксидантних ферментів та сприяє зростанню метаболічної активності гамет, що збільшує виживання сперміїв.

Отже, в оптимальних дозах L-карнітин бере участь у нормалізації клітинного метаболізму, при чому активність антиоксидантних ензимів синхронізується, що і проявляє захисну дію.

Із аналізу залежності дихальної активності від кількості живих статевих клітин впливає, що при високому значенні фізіологічного показника (більше 80 %) зростає немітохондріальне споживання кисню, нагромаджуються цитотоксичні продукти та знижується мітохондріальна компонента (енергогенеруюча здатність сперміїв). Такий стан зумовлений конкуруючими відносинами між статевими клітинами за субстрати окиснення та акцептори електронів (кисень або інші клітинні та зовнішньоклітинні акцептори), наявністю субстратів у середовищі, здатністю сперміїв використовувати компоненти цитоскелету для забезпечення своїх енергетичних потреб [189].

Як свідчать результати наших досліджень, L-карнітин у складі розбавника сприяє зменшенню споживання кисню, чим забезпечує альтернативний шлях утилізації потоку електронів. При цьому відбувається перерозподіл пріоритетності акцепторів – із внутрішньоклітинних на зовнішньоклітинні. За нашими припущеннями, змодельовані за дії L-карнітину зміни дихальної активності пов'язані з окисненням компонентів середовища.

Доведено здатність карнітину впливати на потік електронів як з НАД-залежної, так і кінцевої ланок дихального ланцюга (цитохромоксидази), чим забезпечувати альтернативні шляхи їх транспорту та утилізувати (шунтувати) надлишок потоку електронів, які можуть порушувати метаболізм клітин, в екзоцелюлярний простір. При цьому відбувається перерозподіл пріоритетності акцепторів – із внутрішньоклітинних (кисень або інші сполуки, окиснення яких характеризується споживанням кисню) на зовнішньоклітинні (збільшення відновної активності), оскільки сповільнення транспорту електронів у дихальному ланцюзі знижує вільнорадикальні процеси, що незв'язані з синтезом АТФ [159, 169, 189, 241, 249].

Цілком очевидно, що активація чи інгібування ферментів окисно-відновних процесів за дії карнітину, як одного із специфічних клітинних компонентів, є одним із способів, що регулюють хід метаболізму як на рівні клітин, так і на рівні цілого організму. На нашу думку, однією із функцій карнітину при цьому може бути стимуляція переходу клітин на інший дихальний шлях, а також індукція та підтримання метаболізму спокою. Підтвердженням цієї гіпотези є достовірне зниження активності СДГ та ЦХО у розбавленій з додаванням L-карнітину спермі.

Дослідженнями встановлена залежність між інтенсивністю дихання сперми бугаїв і виживанням сперміїв під впливом L-карнітину в різних концентраціях. Можливою причиною позитивного впливу карнітину на виживання статевих клітин є здатність підтримувати трансмембранний потенціал мітохондрій і впливати на використання й утилізацію субстратів, а



також з його антиоксидантними властивостями. Наші результати узгоджуються з результатами інших досліджень, які показали зниження дихальної активності та підвищення виживання сперміїв при додаванні таурину в розріджені еякуляти бугая [117].

Отримані результати є важливими для процесів технологічної підготовки еякулятів до заморожування та розморожування сперми, за яких виникає ”окисне навантаження”, що призводить до порушення обмінних процесів, зниження рівня фізіологічних показників та запліднювальної здатності статевих клітин [84].

Припускають, що регуляція клітинного метаболізму здійснюється за участі ацетил-L-карнітину, який знижує негативний ефект за дефіциту кисню [178]. Дія ацетил-L-карнітину реалізується не тільки за рахунок поновлення дефіциту субстратів окиснення, але і за рахунок активації захисних механізмів, пов'язаних із фосфорилуванням регуляторних білків [175].

Додавання L-карнітину до середовища існування сперміїв покращує відновну здатність, зменшує дихальну активність сперміїв, позитивно впливає на метаболізм сперміїв за рахунок збільшення контакту між сперміями та середовищем їх існування, використовуючи для ресинтезу АТФ екзогенні енергетичні субстрати. Наші результати узгоджуються з результатами інших досліджень, які показали покращення фізіологічних показників сперми після додавання L-карнітину (кількість сперміїв, рухливість і життєздатність) [168, 279, 280]. Зважаючи на результати наших досліджень, найефективнішою виявляється його кількість – 30 мг на 100 мл розбавника. При цьому можна припустити, що реалізуються як гідратаційні властивості молекул L-карнітину, так і їх взаємодія з компонентами середовища і мембран через обмін зв'язаної води, які призводить до зменшення механічних пошкоджень у мембрані клітин, що виникають у разі технологічної обробки сперми.

Одними із головних механізмів ефективності L-карнітину ми вважаємо нормалізацію енергопродукції, зниження концентрації вільних жирних

кислот, що є основним субстратом для утворення вільних радикалів, забезпечення збереженості органел та цілісності клітинних мембран. Встановлено, що за дії L-карнітину активується використання ліпідів у субстратному забезпеченні енергетичних процесів організму бугаїв у цілому та сперміїв зокрема. Своєю чергою, нормалізація і підтримання енергетичного метаболізму клітин реалізується за рахунок забезпечення утворення ацетил-КоА в мітохондріях, доставки субстратів окиснення в цикл Кребса й активації механізмів  $\beta$ -окиснення жирних кислот. Тому очевидно, що за дії L-карнітину можливості використання альтернативними метаболічними шляхами різних сполук змінюються, оскільки клітини, в т.ч. спермії для енергетичних потреб окиснюють більш енергоємкі субстрати – жирні кислоти.

Зміни енергетичного та ліпідного обмінів у разі згодовування та додавання до розріджувача сперми L-карнітину, головним чином, зумовлені його участю в реакціях проміжного обміну, модуляцією співвідношення ацил-КоА/КоASH [72], що є визначальним для встановлення балансу у використанні пірувату (глюкози) і жирних кислот як джерела енергії. Так, активація окиснювально-відновних процесів за перорального застосування добавки, з одного боку, забезпечує кисневий обмін і високий субстратний потенціал, а з іншого – ефективну мобілізацію та утилізацію недоокиснених субстратів, що веде до високої інтенсивності окисно-відновних реакцій, до синтезу макроергічних інтермедіатів та активації процесів анаболізму, що, власне, і підтримує ефективність системи антиоксидантного захисту. Очевидно, за участі L-карнітину відбувається незначна перебудова життєво важливих біохімічних систем (за допомогою мобілізаційно-компенсаторних фазових змін) і досягається новий стан, що і забезпечує покращення показників продуктивності бугаїв.

Встановлене за дії L-карнітину збільшення концентрації гемоглобіну, кількості еритроцитів, вмісту глюкози та загального білка, а також збільшення активності ферментів дихального ланцюга та антиоксидантного

захисту в крові бугаїв дослідних груп за більшої швидкості утилізації продуктів ПОЛ. Це є свідченням того, що відповідна інтенсифікація окислювальних процесів підтримується на високому рівні за рахунок спряженості білкового, вуглеводного та ліпідного обмінів. Внаслідок цих взаємодій зростає ефективність синтетичних процесів, які стабільно підтримують високу активність антиоксидантних ферментів і забезпечують баланс між пероксидним окисненням ліпідів та системою антиоксидантного захисту.

Таким чином, за дії L-карнітину в спермі посилюється спряженість окислювальних і синтетичних реакцій, що сприяє підвищенню стабільності та активності клітинних структур і функціональних систем організму. В контексті питання, що розглядається, вагомими слід вважати результати досліджень ряду авторів, які засвідчують, що протективна дія L-карнітину є співставною з ефектами прямого додавання антиоксидантних ферментів до цільної сперми або спермоплазми [184, 232], що дає підстави рекомендувати використання L-карнітину як для покращення якісних показників сперми, так і з метою комплексної терапії при порушеннях репродуктивної функції самців.

## 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 фосфоліпідів 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 діб 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 діб.

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

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аكوпова О.В. Вплив  $\text{Ca}^{2+}$ -індукованого відкриття циклоспорин-чутливої пори на споживання кисню і функціональний стан мітохондрій печінки щурів / О.В. Аكوпова, В.И. Носар, И.Н. Маньковська, В.Ф. Сагач // Укр. біохім. журн. – 2013. – Т. 85, № 5. – С. 37–49.
2. Андреев А.Ю. Метаболизм активных форм кислорода в митохондриях / А.Ю. Андреев, Ю.Е. Кушнарєва, А.А. Старков // Биохимия. – 2005. – Т. 70, № 2. – С. 200–214.
3. Антонов М.П. Исследование липидов эякулята у мужчин с различной патологией (поисковое исследование) / М.П. Антонов, В.В. Жигулина // Проблемы репродукции. – 2011. – № 1. – С. 88–91.
4. Афонина Г.Б. Липиды, свободные радикалы и иммунный ответ / Г.Б. Афонина, Л.А. Куюн. – Киев: НАН Украины, 2000. – 258 с.
5. Барабой В.А. Стресс: природа, биологическая роль, механизмы, исходы / В.А. Барабой. – Киев: Фитосоциоцентр, 2006. – 424 с.
6. Белай И.М., Дунаев В.В., Тишкин В.С. Исследование гиполлипидемических и антиоксидантных свойств пикамилаона и карнитина хлорида / И.М. Белай, В.В. Дунаев, В.С. Тишкин // Український ревматологічний журнал. – 2001. – № 1(3). – С. 55–57.
7. Беленічев І.Ф. Антиоксидантна система захисту організму (огляд). / І.Ф. Беленічев, Є.Л. Левицький, Ю.І. Гунський // Современные проблемы токсикологии. – 2002. – № 3. – С. 24–31.
8. Бітюцький В.С. Корекція процесів перекисного окиснення ліпідів і системи антиоксидантного захисту у поросят-сисунів / В.С. Бітюцький // Наук. вісник Львівської нац. акад. вет. мед. ім. С.З. Гжицького. – 2006. – Т. 7, № 2 (2). – С. 10–16.
9. Богомоллова Р.А. Карнитин – это естественный метаболит коферментный / Р.А. Богомоллова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2006. – Т. 184. – С. 11–21.



10. Богомолова Р.А. Коррекция физиологического состояния свиноматок и перинатальной адаптации поросят карнитином / Р.А. Богомолова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2013. – Т. 213. – С. 50–55.
11. Божедомов В.А. Нормализация акросомальной реакции сперматозоидов в результате комплексной терапии карнитином, фруктозой и лимонной кислотой / В.А. Божедомов, М.А. Николаева, О.В. Теодорович // Проблемы репродукции. – 2003. – Т. 9, № 6. – С. 49–52.
12. Болдырев А.А. Биомембранология: Учебное пособие / А.А. Болдырев, Е.И. Кяйвярайнен, В.А. Илюха – Петрозаводск: Изд-во КарНЦ РАН, 2006. – 226 с.
13. Бочков А.Ю. Продуктивность и пищевые качества яиц кур кросса «УК-Кубань» при включении в состав рационов L-карнитина: Автореф. дисс. на соискание учёной степени канд. с-х. наук: спец. 06.02.08 «Кормопроизводство, кормление сельскохозяйственных животных и технология кормов» / А.Ю. Бочков – Персиановский, 2011. – 24 с.
14. Брода Н.А. Стан системи антиоксидантного захисту організму тільних корів за умов техногенного навантаження та дії коригуючих чинників / Н.А. Брода, Д.І. Мудрак, О.І. Віщур та ін. // Біологія тварин. – 2013. – Т. 15, № 2. – С. 17–23.
15. Бублик В.Н. Коррекция функционального состояния печени поросят L-карнитином / Бублик В.Н., Ладыш И.А., Знагован С.Ю., Баленко С.А. // Вісник Сумського НАУ. – 2009. – Вип. 6 (25). – С. 37–40.
16. Буко І.В. Антиоксидантний статус і редокс-потенціал глутатіону еритроцитів у пацієнтів із гострим коронарним синдромом / І.В. Буко, Л.З. Полонецький, О.Г. Мрочек, А.Г. Мойсейонок // Укр. біохім. журн. – 2014, Т. 86, № 3. – С. 114-124.
17. Буркат В.П. Цитогенетика у розв'язанні селекційних проблем тваринництва / В.П. Буркат, В.В. Дзіцюк // Вісник аграрної науки. – 2004. – № 1. – С. 37–41.
18. Бурлакова Е.Б. Влияние липидов мембран на активность ферментов / Е.Б. Бурлакова, М.И. Джалябова, В.О. Гвахария и др. // Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме. – М.: Наука, 1982. – С. 113–140.

19. Бурмистрова Т.А. Метаболический синдром и мужское репродуктивное здоровье / Т.А. Бурмистрова, Т.А. Зыкова // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – № 5. – С. 9–14.
20. Буров С. Продуктивность бройлеров при использовании L-карнитина / С. Буров, И. Макарова, А. Овчаров // Птицеводство. – 2007. – № 8. – С. 16–17.
21. Быкова М.В. Про-/антиоксидантный статус в сперматозоидах и семенной плазме мужчин при патоспермии / М.В. Быкова, Н.М. Титова, Е.В. Маркова, А.В. Светлаков // Проблемы репродукции. – 2008. – №3. – С.63–67.
22. Быков И.Л. L-карнитин: общая характеристика, биосинтез, метаболизм и функции в организме млекопитающих / И.Л. Быков, Л.И. Нефедов // Здоровоохранение. – 2000. – №. 8. – С. 35–40.
23. Верткин А.Л. L-карнитин в медицинской практике: доказанные эффекты / А.Л. Верткин // Неврология и ревматология. Приложение к журналу Consilium Medicum. – 2012. – № 1. – С. 83–86.
24. Ветеринарна клінічна біохімія / В.І. Левченко, В.В. Влізло, І.П. Кондрахін та ін. За ред. В.І. Левченка, В.Л. Галяса. – Біла Церква, 2002. – 400 с.
25. Виноградов И.В. Опыт применения карнитина у больных с идиопатической патоспермией / И.В. Виноградов, А.А. Кагито, Л.М. Афанасьева // Проблемы репродукции. – 2009. – №1. – С. 76–79.
26. Гаврилова С.И. Ацетил-L-карнитин (карницетин) в лечении начальных стадий болезни Альцгеймера и сосудистой деменции / С.И. Гаврилова, Я.Б. Калын, И.В. Колыхалов и др. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2011. – Т. 111, № 9. – С. 16–22.
27. Галимов Ш.Н. Влияние L-карнитина на показатели эякулята у мужчин из бесплодных пар / Ш.Н. Галимов, Д.С. Громенко, Э.Ф. Галимова, Ю.Ю. Громенко, И.Р. Исхаков // Урология. – 2012. – № 1. – С. 47–51.
28. Гамидов С.И. Особенности диагностики и лечения бесплодия у мужчин с ожирением / С.И. Гамидов, Р.И. Овчинников, А.Ю. Попова и др. // Фарматека. – 2010. – № 9. – С. 18–23.
29. Голова Н.В. Вплив додавання Селену до раціону з високим вмістом жиру на концентрацію продуктів пероксидного окиснення у плазмі крові, вміст

- Селену в молоці та молочну продуктивність корів / Голова Н.В., І.В. Вудмаска // Біологія тварин. – 2012. – Т. 14, № 1–2. – С. 230–236.
30. Голушко В.М. Применение кормовой добавки карнитина в рационах свиней / В.М. Голушко, Р.П. Сидоренко, В.А. Ситько // Ефективні корми та годівля. – 2009. – № 8. – С. 35–39.
31. Грабовський С.С. Вміст окремих класів ліпідів у крові курчат-бройлерів при передзабійному стресі / С.С. Грабовський // Біологія тварин. – 2013. – Т. 15, № 4. – С. 24–31.
32. Губергриц Н.Б. L-карнитин: от биохимических свойств к клиническому применению / Н.Б. Губергриц, О.А. Голубова, Г.М. Лукашевич // Contemporary gastroenterology. – 2012. – № 2 (64). – С. 114–121.
33. Гула Н. М. Жирні кислоти та їх похідні при патологічних станах / Н.М. Гула, В. М. Маргітич. – К.: Наукова думка, 2009. – 335 с.
34. Гутий Б.В. Вплив препарату «Мевесел» на активність ензимної та неензимної ланок антиоксидантної системи організму бугайців за умов хронічного кадмієвого токсикозу / Б.В. Гутий // Біологія тварин. – 2013. – Т. 15, № 4. – С. 39–46.
35. Данченко О.О. Механізми підтримки прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в тканинах печінки гусей в умовах гіпо- і гіпероксії / О.О. Данченко, Ю.П. Пашенко, Н.М. Данченко, Л.М. Здоровцева // Укр. біохім. журн. – 2012. – Т. 84, № 6. – С. 109–114.
36. Данчук В.В. Пероксидне окиснення у сільськогосподарських тварин і птиці / В.В. Данчук. – Кам'янець-Подільський: Абетка, 2006. – 191 с.
37. Дзівик О.І. Особливості гомеостатичних показників крові та динаміка росту телят, за умов впливу препарату Карнівет–L / О.І. Дзівик, Г.М. Михалусь, О.В. Михалюк, О.І. Котяш // Науково-технічний бюлетень. – 2008. – В. 9, № 4. – С. 214–217.
38. Диниколантонио Д.Д. L-карнитин для вторичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний: систематический обзор литературы и метаанализ / Д.Д. Диниколантонио, К.Д. Лави, Х. Фарес и др. // Русский медицинский журнал. – 2013. – Т. 21, № 12. – С. 651–656.
39. Дробот Л.Б. Активні форми кисню у сигнальній трансдукції / Л.Б. Дробот, А.А. Самойленко, А.В. Воротніков та ін. // Укр. біохім. журн. – 2013. – Т. 85,

№ 6. – С. 209–217.

40. Дубініна О.Ю. Окиснювальний стрес і окислювальна модифікація білків / О.Ю. Дубініна // Медична хімія. – 2001. – № 2. – С. 5–12.

41. Евдокимов В.В. Влияние перекиси водорода и этилметилгидропиридина сукцината на сперматозоиды человека / В.В. Евдокимов, Л.А. Харламова, С.К. Пирутин, В.Б. Туровецкий // Андрология и генитальная хирургия. – 2010. – № 1. – С. 35–37.

42. Евдокимов В.В. Исследование эффекта антиоксидантов на подвижность сперматозоидов и при криоконсервации спермы / В.В. Евдокимов, А.С. Ерохин, В.Б. Туровецкий, Д.Т. Айбяттов // Андрология и генитальная хирургия. – 2009. – № 1. – С. 23–28.

43. Евсеев А.В. Изменение энергетического обмена у животных на фоне введения комплексных соединений цинка (II) и N-ацетилцистеина / А.В. Евсеев // Вестн. Смолен. мед. акад. – 2005. – №1. – С. 24–27.

44. Єршов В.И. Действие сукцината и ингибиторов на дыхательную активность сперматозоидов быка / В.И. Єршов // Бюллетень ВНИИРТСХЖ. – 1982. – Вып. 55. – С.10–12.

45. Єфімов В.Г. Вплив L-карнітину на морфологічні показники крові поросят у період відлучення / В.Г. Єфімов, К.Л. Костюшкевич, К.О. Дідик, Н.В. Алексєєва // Вісник Дніпропетровського ДАУ. – 2011. – № 2. – С. 113–116.

46. Єфімов В.Г. Особливості біохімічних показників крові кнурців після транспортування та в період адаптації за дії L-карнітину та E-селену / В.Г. Єфімов // Науково-технічний бюлетень. – 2010. – Вип. 11, № 2–3. – С. 35–39.

47. Жабин С.Г Капацитация сперматозоидов (обзор литературы) / С.Г. Жабин, Э.А. Трещенков, С.Б. Артифексов и др. // Проблемы репродукции. – 2005. – Вып. 11, № 2. – С. 32–38.

48. Зверева Г.В. Сукцинатдегидрогеназная активность спермы быков и качество спермиев / Г.В. Зверева, Б.Н. Чухрий, Л.А. Клевец // Сельскохозяйственная биология. – 1989. – № 6. – С. 30–34.

49. Зенков Н.К. Окислительный стресс / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньщикова. – Москва : Наука, 2001. – 343 с.
50. Зинченко В.П. Внутриклеточная сигнализация / В.П. Зинченко, Л.П. Долгачева // Пушино: Электронное издательство «Аналитическая микроскопия». – 2003. – 85 с.
51. Зозуля Ю.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга / Ю.А. Зозуля, В.А. Барабой, Д.А. Сутковой. – Москва: Знание, 2000. – 344 с.
52. Ільченко М.О. Взаємозв'язок між фізіологічними та біохімічними показниками сперми кнурів / М.О. Ільченко // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2013. – № 2. – С. 55–57.
53. Іскра Р.Я. Особливості функціонування системи антиоксидантного захисту в еритроїдних клітинах і тканинах свиней за дії хрому хлориду / Р.Я. Іскра, В.В. Влізло // Укр. біохім. журн. – 2013. – Т. 85, № 3. – С. 96–102.
54. Кава С.Й. Запліднювальні здатність сперміїв бугаїв при додаванні у розріджувач еякулятів антиоксидантів / С.Й. Кава, О.Я. Дмитрів, І.М. Кудла та ін. // Наук. вісник Львівської нац. акад. вет. мед. ім. С.З. Гжицького. – 2010. – Т.12, № 3 (45). – С. 75–78.
55. Калачнюк Л.Г. Активність регуляторних ензимів ЦТК у клітині за розладу травної системи / Л.Г. Калачнюк // Біологія тварин. – 2013. – Т. 15, № 3. – С. 31–37.
56. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: Справочник. – Минск: Интерпрессервис, 2003. – 463 с.
57. Канюка О.П. Кількісні зміни основних компонентів еритроцитарної мембрани, що визначають архітекtonіку клітин за нокаутом гену *pttg* / О.П. Канюка, Є.З. Філяк, О.Р. Кулачковський, Ю.Л. Осип, Н.О. Сибірна // Укр. біохім. журн. – 2014. – Т. 86, № 2. – С. 41–49.
58. Кармолиев Р.Х. Свободнорадикальная патология в этиопатогенезе болезней животных / Р.Х. Кармолиев // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2006. – № 7. – С. 36–40.
59. Климов А.Н. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения / А.Н. Климов, Н.Г. Никульчева – СПб: Питер Ком, 1999. – 512 с.

60. 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.
61. 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.
62. 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.
63. 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.
64. 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.
65. 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.
66. Коберська В.А. Особливості енергетичного обміну в чоловічих статевих клітинах / В.А. Коберська, Т.А. Івчук // Наука України. Перспективи та потенціал: зб. матеріалів VI Всеукр. наук.-практ. конф. – Запоріжжя, 2013. – С. 13–16.
67. 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.

68. Кольман Я. Наглядная биохимия / Я. Кольман, К.-Г. Рем; пер. с нем. Л.В. Козлова. – Москва: Мир, 2000. – 469 с.

69. Комбарова Н.А. Применение биологически активных веществ для стабилизации обменных процессов у быков-производителей со сниженной спермопродукцией / Н.А.Комбарова, Ю.П. Фомичев, В.Ф. Гвоздь и др. // Научно-технический бюллетень. – 2008. – Т. 96. – С. 214.

70. Кондратова Ю.А. Порівняльний аналіз якості сперми та вмісту L-карнітину, фруктози, цинку і аскорбату в сім'яній рідині чоловіків з різних регіонів України / Ю.А.Кондратова, А.В. Клепко, С.В. Андрейченко // Фізика живого. – 2010. – Т. 18, №3. – С. 70–74.

71. Кононський О.І. Біохімія тварин / О.І. Кононський. – К.: Вища школа, 2006. – 454 с.

72. Копелевич В.М. Витаминоподобные соединения L-карнитин и ацетил-L-карнитин: от биохимических исследований к медицинскому применению / В.М. Копелевич // Укр. біохім. журн. – 2005. – № 4. – С. 25–45.

73. Копица Н.П. Воспаление и атерогенез. прогностическое значение маркера сосудистого воспаления липопротеин-ассоциированной фосфолипазы A<sub>2</sub> при остром коронарном синдроме / Н.П. Копица, Я.В. Гилева, Н.В. Белая // Вісник ХНУ імені В. Н. Каразіна. – 2012. – № 998. – С. 65–71.

74. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лабораторное дело. – 1991. – № 12. – С. 9–10.

75. Косенко М.В. Репродуктивна функція і андрологічна диспансеризація бугаїв / М.В. Косенко, Б.М. Чухрій, І.Я. Коцюмбас. – Львів, 2007. – 186 с.

76. Коцюмбас І.Я. Активність ферментів та деякі показники ліпідного обміну в сироватці крові телят за умов застосування препарату Карнівет-L / І.Я. Коцюмбас, Н.В. Шкодяк, О.Й. Сободош, Є.М. Голубій // Научно-технический бюллетень. – Львів, 2008. – В. 9, № 4. – С. 27–31.

77. Крепс Е.М. Липиды клеточных мембран. Эволюция липидов мозга. Адапционная функция липидов / Е.М.Крепс.– Л., 1981. – 339 с.
78. Криницька І. Я. Вплив карнітину хлориду на показники білкового обміну у щурів за умов гострого алкогольного отруєння та тлі інтоксикації солями кадмію та свинцю / І.Я. Криницька, І.М. Кліщ, І.Р. Бекус // Медична хімія. – 2006. – Т. 8, № 3. – С. 122–125.
79. Кудрин А.Г. Ферменты крови и прогнозирование продуктивности молочного скота / А.Г. Кудрин. – Мичуринск: Изд-во Мичурин. гос. аграр. ун-та, 2006. – 142 с.
80. Кузин В.М. Карнитина хлорид (25 лет в клинической практике) / В.М. Кузин // РМЖ. – 2003. – № 10. – С. 609–610.
81. Кузьміна Н.В. Зв'язки між активністю і вмістом ізоформ ензимів малат-аспартатного шунта в еякулятах та виживанням сперміїв / Н.В. Кузьміна // Біологія тварин. – 2013 – Т. 15, № 1. – С. 69–77.
82. Кузьміна Н. Активність та вміст ізоформ аспаратамінотрансферази в еякулятах самців і виживання сперміїв / Н. Кузьміна, Д. Остапів, І. Яремчук, Н. Гулеюк, І. Гуменецький // Біологія тварин. – 2012. – Т. 14, № 1. – С.138–143.
83. Кулинский В.И. Структура, свойства, биологическая роль и регуляция глутатионпероксидазы / В.И. Кулинский, Л.С. Колесниченко // Усп. совр. биол. – 1993. – Т. 113, № 1. – С. 107–123.
84. Курбатов А.Д. Криоконсервация спермы сельскохозяйственных животных / А.Д. Курбатов, Е.М. Платов, Н.В. Корбан и др. – Л.: Агропромиздат, 1988. – 256 с.
85. Кургалюк Н.М. Вплив інтервальних гіпоксичних тренувань на антиоксидну систему і перекисне окислення ліпідів при дії гострої гіпоксії і донора оксиду азоту / Н.М. Кургалюк, Т.В. Серебровська // Медична хімія. – 2001. – Т. 3. – С.69–71.
86. Кучеренко Н.Е. Липиды / Н.Е. Кучеренко, А.Н. Васильев. – Киев: Вища школа, 1985. – 257 с.
87. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: Довідник / В.В. Влізла, Р.С. Федорук, І.Б. Ратич та ін.; За ред. В.В. Влізла. – Львів: 2012. – 762 с.



88. Ленинджер А. Основы биохимии / А. Ленинджер. – М. – Мир. – 1985. – Т. 1. – 385 с.
89. Лескова Г.Ф. Дисрегуляция обмена фосфолипидов нейрональных мембран в патологии нервной системы / Г.Ф. Лескова, Г.Н. Крыжановский // Журнал невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2010. – Вып. 6. – С. 102–106.
90. Лобзин С.В. Карнитин и его производные при цереброваскулярных заболеваниях / С.В. Лобзин, В.И. Головкин, Л.О. Попова // Российский семейный врач. – 2013. – Т. 17, № 1. – С. 40–44.
91. Лопухин Ю.М. Холестериноз / Ю.М. Лопухин, А.И. Арчаков, Ю.А. Владимиров, Э.М. Коган – М.: Медицина. – 1985. – 151 с.
92. Лушак В.І. Показники оксидативного стресу. Пероксиди ліпідів / В.І. Лушак, Т.В. Багнюкова, Л.І. Лужна // Укр. біохім. журн. – 2006. – Т. 78, № 5. – С. 113–119.
93. Максимюк Г.В. Вміст різних форм жирних кислот у спермальній плазмі та сперматозоїдах / Г.В. Максимюк // Укр. біохім. журн. – 2014. – Т. 86, № 5. – С.176–178.
94. Маргітіч В.М. Ушкодження ліпідів сперматозоїдів як важливий фактор патогенезу неплідності у чоловіків з олігозооспермією / В.М. Маргітіч, М.Н. Гула, І.І. Горпинченко та ін. // Урологія. – 2001. – №1. – С. 44–50.
95. Маршал В.Дж. Клиническая биохимия: Пер. с англ. – М. – СПб.: „Издательство БИНОМ” – „Невский Диалект”, 1999. – С. 262–273.
96. Мельник В.О. Особливості сперматогенезу та спермопродукції самців / В.О. Мельник, О.О. Кравченко, А.О. Бондар, Д.А. Карпенко // Вісник аграрної науки Причорномор'я. – Миколаїв: МНАУ, 2013. – Вип. 2 (72). – С. 116–122.
97. Мельничук Д.О. Показники ліпідного і фосфоліпідного спектрів плазми крові за репаративної терапії при неонатальній ентеропатології телят / Д.О. Мельничук, В.А. Грищенко // Укр. біохім. журн. – 2005. – Т. 77, № 1. – С. 89–95.
98. Мельничук С.Д. Вплив умов штучного гіпобіозу на енергетичний обмін у щурів / С.Д. Мельничук // Укр. біохім. журн. – 2005. – Т. 11, №3. – С. 131–135.

99. Мембранные белки и фосфолипиды как эффекторы обратного транспорта холестерина / Т.И. Тарховская, О.М. Ипатова, Н.В. Медведева и др. // Биомед. химия. – 2006. – Т. 52, № 2. – С. 113–123.
100. Меркурьева Р.В. Метаболические механизмы отдаленных эффектов химических факторов окружающей среды – канцерогенного, эмбриотоксического, гонадотоксического, мутагенного, геронтологического / Р.В. Меркурьева, Н.Н. Литвинов // Вестн. АМН СССР. – 1985. – № 1. – С. 50–53.
101. Мецлер Д. Биохимия: Химическая реакция в живой клетке / Д. Мецлер. – М.: Мир, 1990. – Т. 2. – 608 с.
102. Мінченко О.Г. Стрес ендоплазматичного ретикулума, його сенсорно-сигнальні системи та роль у регуляції експресії генів за злоякісного росту і гіпоксії / О.Г. Мінченко, А.П. Харькова, Т.В. Бакалець, І.В. Кривдюк // Укр. біохім. журн. – 2013. – Т. 85, № 5. – С. 5–16.
103. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В.М. Моин // Лаб. дело. – 1986. – № 12. – С. 724–727.
104. Мухин В.В. Мембранные механизмы действия алкилирующих цитостатиков / В.В. Мухин, Г.И. Пода, А.И. Луйк и др. // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1990. – № 4. – С. 351–359.
105. Наседкіна Н.В. Активність і вміст ізоформ холінестераз у спермі плідників / Н.В. Наседкіна, Д.Д. Остапів, І.М. Яремчук, С.Б. Корнят // Біологія тварин. – 2014, Т. 16, № 2. – С. 86–92.
106. Наук В.А. Структура и функция спермиев сельскохозяйственных животных при криоконсервации / В.А. Наук. – Кишинев. – „Штиинца“. – 1991. – 198 с.
107. Недошитко Х.Ю. Зміни прооксидантно-антиоксидантної системи печінки щурів за дії етилового спирту та тетрацикліну / Х.Ю. Недошитко // Укр. біохім. журн. – 2013. – Т. 85, № 5. – С. 154–162.
108. Нетюхайло Л.Г. Активні форми кисню (огляд літератури) / Л.Г. Нетюхайло, С.В. Харченко // Молодий вчений. – 2014. – № 9 (12). – С. 131–135.

109. Нетюхайло Л.Г. Особенности липидного состава плазматических мембран тканей легких при остром эмоционально-болевым стрессе у крыс / Л.Г. Нетюхайло, Л.М. Тарасенко // Укр. біохім. журн. – 2001. – Т. 73, № 1. – С. 115–117.
110. Никитченко Ю.В. Роль NO-радикалов в регуляции прооксидантно-антиоксидантной системы и выживаемости животных при естественном и ускоренном старении / Ю.В. Никитченко, В.Н. Дзюба, И.В. Никитченко и др. // Укр. біохім. журн. – 2014. – Т. 86, № 5. – С. 185–186.
111. Овсянникова Л.М. Проблемы свободнорадикальной патологии и антиоксидантной терапии / Л.М. Овсянникова, С.М. Алехина, Е.В. Носач // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т. 74, № 46. – С. 230–231.
112. Огородник Н.З. Стан системи антиоксидантного захисту та продуктивність поросят за дії вітамінів А, D<sub>3</sub>, Е, L-аргініну і цинку у формі ліпосомальної емульсії / Н.З. Огородник, О.І. Віщур, І.В. Кичун // Біологія тварин. – 2013. – Т. 15, № 1. – С. 101–107.
113. Околелова Т. L-карнитин в рационах кур / Т. Околелова, Е. Мальцева, О. Просвирякова, Е. Андриянова // Комбикорма. – 2005. – № 7. – С. 51.
114. Оксидативный стресс сперматозоидов в патогенезе мужского бесплодия / В.А. Божедомов, Д.С. Громенко, И.В. Ушакова и др. // Урология. – 2009, № 2. – С. 51–56.
115. Османян А.К. L-карнитин в комбикормах для бройлеров / А.К. Османян, Л.И. Тучемский, Д.Д. Корнеев, А.В. Молчанов // Птица и птицепродукты. – 2013. – № 2. – С. 39–41.
116. Остапів Д.Д. Способи оцінювання якості еякулятів бугаїв та підвищення запліднювальної здатності сперміїв / Д.Д. Остапів. – К., 2008. – 24 с.
117. Остапів Р.Д. Інтенсивність дихання сперми та виживання сперміїв за додавання таурину в розріджені еякуляти бугая / Р.Д. Остапів, В.В. Манько, І.М. Яремчук, Д.Д. Остапів // Біологія тварин. – 2014. – Т. 16, № 3. – С.110–115.
118. Пилипець А.З. Вміст фосфоліпідів у матці корів за різного морфофункціонального стану яєчника / А.З. Пилипець // Біологія тварин. – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 175–179.

119. Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников / А. Плохинский. – М.: Колос, 1969. – 255с.
120. Поліщук Д.С. Карнітин і тилорон у комплексному лікуванні хворих на псоріаз / Д.С. Поліщук, С.Й. Поліщук // Український журнал дерматології, венерології, косметології. – 2009. – № 3. – С. 17–19.
121. Поліщук С.А. Застосування препарату Е-селен для корекції відтворної функції кнурів-плідників / С.А. Поліщук, Т.В. Чернозуб // Наукові праці південного філіалу НУБіПУ „Кримський агротехнологічний ун-т”. – Сімферополь. – 2012, Вип. 148. – С. 463–469.
122. Поліщук С.А. Інтенсивність пероксидного окислення ліпідів та окисної модифікації протеїнів у спермі кнурів- і бугаїв-плідників: матеріали 11-го Укр. біохім. конгр. (Київ, 6-10 жовтня 2014 р.) / С.А. Поліщук, С.І. Цехмістренко, В.А. Коберська // Укр. біохім. журн. – 2014. – Вип. 86. – № 5 (2). – Р. 258.
123. Поліщук С.А. Окиснювальна модифікація білків сперми кнурів-плідників / С.А. Поліщук // Збірник наукових праць ВНАУ. – 2011. – Вип. 10. – С. 97 – 103.
124. Привроцька І.Б. Окислювальний стрес у лейкоцитах крові, про/антиоксидантний статус та жирнокислотний склад ліпідів підшлункової залози за експериментального гострого панкреатиту в щурів / І.Б. Привроцька, Т.М. Кучмеровська // Укр. біохім. журн. – 2013. – Т. 85, № 5. – С. 124–136.
125. Приступа О.І. Функціональний стан печінки у корів за дії препарату «Гепален» / О.І. Приступа, І.М. Петрух, М.Р. Сімонов, В.І. Левченко, В.В. Влізло // Біологія тварин. – 2012. – Т. 14, № 1–2. – С. 436–439.
126. Проказова Н.В. Влияние лизофосфатидилхолина на передачу трансмембранного сигнала внутрь клетки / Н.В. Проказова, Н.Д. Звездина, А.А. Коротаева // Биохимия. – 1998. – Т. 63, № 1. – С. 38–46.
127. Пузыренко А.М. Вплив антигіпертензивних та метаболітотропних препаратів на жирнокислотний склад ліпідів кардіоміоцитів у щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією / А.М. Пузыренко, І.С. Чекман, Т.С. Брюзгіна, Н.О. Горчакова // Укр. біохім. журн. – 2013. – Т. 85, № 4. – С. 67–74.

128. П'ятничко О.М. Вплив препарату Карнівет-L на показники неспецифічної резистентності молодняку ВРХ / О.М. П'ятничко, Н.Е. Лісова, В.П. Бассараб, Г.М. Михалусь, Є.М. Голубій // Науково-технічний бюлетень. – Львів, 2008. – Вип. 9, № 4. – С. 227–230.
129. Романова Л.А., Стальная И.Д. Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоцианата аммония // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина 1977. – С. 64–66.
130. Сазонтова Т.Г. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма / Т.Г. Сазонтова, Ю.В. Архипенко // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2007. – № 3. – С.2–18.
131. Салига Н.О. Активність глутатіонової системи антиоксидантного захисту в щурів за дії L-глутамінової кислоти / Н.О. Салига // Укр. біохім. журн. – 2013. – Т. 85, № 4. – С. 40–47.
132. Салига Ю.Т. Вплив хлорпірифосу на глутатіонову систему та вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у різних органах щурів / Ю.Т. Салига // Біологія тварин. – 2013. – Т. 15, № 2. – С. 122–130.
133. Северин С.Е. Биохимия липидов и их роль в обмене веществ / С.Е. Северин. – М.: Наука, 1981. – 167 с.
134. Сергійчук Ю.Т. Сумісний вплив нікотинаміду, ацетил-L-карнітину та  $\alpha$ -ліпоевої кислоти на дисфункції мозку щурів за цукрового діабету 2-го типу / Ю.Т. Сергійчук, Т.М. Тихоненко, Т.М. Кучмеровська // Укр. біохім. журн. – 2014. – Т. 86, № 5. – С. 205–206.
135. Сидоренко Р.П. Использование питательных веществ корма и продуктивность супоросных свиноматок при введении в их корм L-карнитина / Р.П. Сидоренко, А.В. Корнеев // Актуальные проблемы развития животноводства: сб. науч. тр. – Горки, 2008. – Вып. 11, Ч. 1. – С. 32–38.
136. Сидоренко Р.П. Интенсивность роста и биохимические показатели крови поросят-сосунов при введении в рацион супоросных и подсосных свиноматок L-карнитина / Р.П. Сидоренко, А.В. Корнеев // Свиноводство. – 2010. – № 3. – С. 32–35.

137. Сімонов М.Р. Функціональний стан печінки та активність антиоксидантної системи у високопродуктивних корів, хворих на кетоз, ендометрит та дисфункцію яєчників / М.Р. Сімонов, В.В. Влізло, І.М. Петрух, М.М. Шаран // Наук.-техн. бюл. Інст. біол. твар. і Держ. наук.-досл. контр. інстит. ветпреп. та корм. добавок . – 2014. – Вип. 15, № 1. – С. 100–105.
138. Скок М.В. Нікотинові ацетилхолінові рецептори: специфічні антитіла і функції в гуморальному імунитеті / М.В. Скок, Л.М. Коваль, О.Ю. Лихмус та ін. // Укр. біохім. журн. – 2013. – Т. 85, № 6. – С. 134–143.
139. Скулачев В.П. Явления запрограммированной смерти. Митохондрии, клетки и органы: роль активных форм кислорода / В.П. Скулачев // Соросовский образовательный журн. – 2001. – Т. 7, № 6 – С. 4–10.
140. Слободяник В.И. Коррекция воспроизводительной функции быков-производителей / В.И. Слободяник, С.А. Холев // Ветеринария. – 2000.– № 8. – С. 37–40.
141. Смолянінов К.Б. Біологічна роль поліненасичених жирних кислот / К.Б. Смолянінов, Р.П. Параняк, В.Г. Янович // Біологія тварин. – 2002. – Т. 4, № 1–2. – С. 16–30.
142. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1997. – С. 63–64.
143. Сторожук П.Г. Ферменты прямой и косвенной антирадикальной защиты эритроцитов и их роль в инициации процессов оксигенации гемоглобина, антибактериальной защите и делении клеток // Вестник интенсивной терапии. – 2003. – №3. – С. 8–13.
144. Структурно-функціональний стан плазматичних мембран кардіоміоцитів за умов експериментальної патології / О.Б. Кучменко, Л.С. Мхітарян, Н.М. Орлова, І.Н. Євстратова // Укр. біохім. журн. – 2001. – Т. 73, № 1. – С. 54–59.
145. Тимочко М.Ф. Вільнорадикальні реакції та їх метаболічна роль / М.Ф. Тимочко, Л.І. Кобилінська // Медична хімія. – 1999. – Т. 1, № 1. – С. 19–25.

146. Токарчук К.О. Участь альдегідів в оксидативному стресі в тимоцитах щура *in vitro* // К.О. Токарчук, О.В. Зайцева // Укр. біохім. журн. – 2014. – Т. 86, № 3. – С. 61–68.
147. Тонкослойная и газожидкостная хроматография липидов: методические указания / М.Ф. Стефаник, В.И. Скорохид, О.П. Елисеева и др. – Львов, 1985. – 28 с.
148. Усаченко Л.М. Ліпіди і їх перексиди у крові бугайців за корекції раціонів дефіцитними мікроелементами та їх метіонатами / Л.М. Усаченко, Р.Й. Кравців // Наук. вісник Львівської нац. акад. вет. мед. ім. С.З. Гжицького. – 2006. – Т. 8, № 2 (29), ч. 2. – С. 155–160.
149. Фёдоров А.В. L-карнитин в рационах черных африканских страусов / А.В. Фёдоров, В.Х. Фёдоров // Вестник Донского государственного аграрного университета. – 2013. – № 3 (9). – С. 12–16.
150. Фомичев Ю.П. Комплексное применение холинхлорида, L-карнитина и экостимула-2 в профилактике кетоза у высокопродуктивных молочных коров / Ю.П. Фомичев, Г.В. Довыденков // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2010. – Ч. 2, № 4 (28). – С. 244–248.
151. Хышиктуев Б.С. Особенности изменений фосфолипидного состава семенной жидкости у мужчин с нарушением фертильности / Б.С. Хышиктуев, А.А. Кошмелев // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – № 7. – С. 27–30.
152. Цебржинский О.И. Прооксидантно-антиоксидантная система семенников и спермы / О.И. Цебржинский, В.Ф. Почерняева, Н.А. Дмитренко. – Полтава, 2008. – 101 с.
153. 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.
154. Цехмістренко С.І. Взаємозв'язок вільнорадикальних процесів і морфофункціональних характеристик спермійв кнурів-плідників за дії комплексного препарату «Мультибактерін» / С.І. Цехмістренко, С.А. Поліщук, В.М. Поліщук та

ін. // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: зб. наук. праць. – Біла Церква, 2013. – Вип. 9 (103). – С. 19–23.

155. Цехмістренко С.И. Влияние L-карнитина на активность антиоксидантных ферментов спермы быков / С.И. Цехмістренко, В.А. Коберская // Аграрная наука – сельському хазяйству: сб. ст. – Барнаул, – 2014. – Кн. 3. – С. 222–224.

156. 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.

157. 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.

158. Цехмістренко С.І. Особливості вільнорадикальних процесів у спермі кнурів-плідників / С.І. Цехмістренко, С.А. Поліщук, В.М. Поліщук // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: зб. наук. праць. – Біла Церква, 2012. – Вип. 8 (98). – С. 128 – 131.

159. Чака О.Г. Зміни активності ензимів аеробного окислення у печінці щурів з різним рівнем енергетичного метаболізму після введення екзогенного мелатоніну / О.Г. Чака, Р.В. Янко, Т.М. Заморська // Укр. біохім. журн. – 2014. – Т. 86, № 5. – С. 221–222.

160. Чевари С.Н. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С.Н. Чевари, Т.А. Андян, Я.И. Штрэнгер // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 9 –13.

161. Чухрий Б.Н. Физиологические показатели спермы быков и оплодотворяющая способность сперматозоидов / Б.Н. Чухрий, Л.А. Клевец // Сельскохозяйственная биология. Серия: биология животных. – 1992. – № 6. – С. 50–60.

162. Шаран М.М. Ефективність кріопротекторів рослинного та тваринного походження при заморожуванні сперми бугаїв-плідників / М.М. Шаран,



- С.Г. Шаловило, І.М. Яремчук, Х.М. Гримак // Науковий вісник ЛНУ ветеринарної медицини та біотехнології ім. С.З. Гжицького. – 2011. – Т. 15, № 2 (50). – С. 352–356.
163. Шевантаева О.Н. Роль окислительного стресса в патогенезе нарушений сперматогенеза в постреанимационном периоде / О.Н. Шевантаева, К.Н. Конторщикова, Ю.И. Косюга // Современные технологии в медицине. – 2011. – № 3. – С.27–30.
164. Шостя А.М. Роль активних форм кисню в регуляції сперматогенезу та заплідненні у ссавців / А.М. Шостя // Укр. біохім. журн. – 2009. – Т. 81, № 1. – С. 14–22.
165. Яблонський В.А. Біотехнологічні і молекулярно-генетичні основи відтворення тварин / В.А. Яблонський, С.П. Хомин, В.І. Завірюха та ін. – Львів, ТзОВ «ВФ «Афіша», 2009. – 218 с.
166. Янович В.Г. Біологічні основи трансформації поживних речовин у жуйних тварин / В.Г. Янович – Львів: 2000. – 384 с.
167. Abe A. The measurement of lysosomal phospholipase A<sub>2</sub> activity in plasma / A. Abe, R. Kelly, J.A. Shaymana // J. of Lipid Research. – 2010. – V. 51. – P. 2464–2470.
168. Abd-Allah A. Pro-inflammatory and oxidative stress pathways which compromise sperm motility and survival may be altered by L-carnitine / A. Abd-Allah, G. Helal, A. Al-Yahya et al. // Oxid. Med. Cell. Longev. – 2009. – V. 2. – P. 73–81.
169. Aitken RJ. Superoxide dismutase in human sperm suspensions: relationship with cellular composition, oxidative stress, and sperm function/ RJ. Aitken, DW. Buckingham, A. Carreras and DS. Irvine // Free Radic. Biol. Med. – 1996. – V. 21. – P. 495–504.
170. Agarval A. Prevention of oxidative stress injury to sperm / A. Agarval, S.A. Prabakaran, T.M. Said // Journal of Andrology. – 2005. – V. 26. – N 6. – P. 654–660.
171. Aggerholm A.S. Is overweight a risk factor for reduced semen quality and altered serum sex hormone profile / A.S. Aggerholm, A.M. Thulstrup, G. Toft et al. // Fertil. Steril. – 2008. – N 90. – P. 619–626.
172. Amaral A. The Expression of polymerase gamma and mitochondrial transcription factor A and the regulation of mitochondrial DNA content in mature human sperm / A. Amaral // Human Reproduction. – 2007. – V. 22, N 6. – P. 1585–1596.
173. Andrew S. Effect of myxothiazol on Leydig cell steroidogenesis: inhibition of luteinizing hormone-mediated testosterone synthesis but stimulation of basal

steroidogenesis / S. Andrew, A.S. Midzak, J. Liu, B.R. Zirkin, H. Chen // *Endocrinology*. – 2007. – V. 148, N 6. – P. 2583–2590.

174. Antioxidant intake is associated with semen quality in healthy men / B. Eskenazi, S.A. Kidd, R. Marks et al. // *Hum. Reprod.* – 2005. – V. 20, N. 4. – P. 1006–1012.

175. Arrigoni-Martelli E. Carnitine protects mitochondria and removes toxic acyls from xenobiotics / E. Arrigoni-Martelli, V. Caso // *Drug Exp Clin Res.* – 2001. – V. 27. – P. 27–49.

176. Awda B. J. Reactive oxygen species and boar sperm function / B. J. Awda, M. Mackenzie-Bell, M. M. Buhr // *Biol. Reprod.* – 2009 – V. 81, N 3. – P. 553–561.

177. Bance J.E. Phosphatidylserine and Phosphatidyl ethanolamine in mammalian cells: two metabolically related aminophospholipids syndrome / J.E. Bance // *J. Lipid Res.* – 2008. – N 49. – P. 1377–1387.

178. Barhwal K. Hypoxia-induced deactivation of NGF-mediated ERK1/2 signaling in hippocampal cells: neuroprotection by acetyl-L-carnitine / K. Barhwal, S. Hota, D. Prasad et al. // *J. Neurosci Res.* – 2008. – V. 86, N 12. – P. 2705–2721.

179. Barth A.D. Fertility aspects in yearling beef bulls grazing endophyte-infected tall fescue pastures / A.D. Barth, C.L. Waldner // *Reproduction, Fertility and Development*. – 2005. – V. 17, N 4. – P. 479–486.

180. Bidzinska B. Effect of different chronic intermittent stressors and acetyl-L-carnitine on hypothalamic beta-endorphin and GnRH and on plasma testosterone levels in male rats / B. Bidzinska, F. Petraglia, S. Angioni et al. // *Neuroendocrinology*. – 1993. – V. 57. – P. 985–990.

181. Brookes P.S. Mitochondria: regulators of signal transduction by reactive oxygen and nitrogen species / P.S. Brookes // *Free Radical Biol. Med.* – 2002. – V. 33, N. 6. – P. 755–764.

182. Calò L. Antioxidant effect of L-carnitine and its short chain esters. Relevance for the protection from oxidative stress related cardiovascular damage / L. Calò, E. Pagnin, P. Davis et al. // *International Journal of Cardiology*. – 2006. – V. 107, N 1. – p. 54–60.

183. Chen S.J. Influence of reactive oxygen species on human sperm functions and fertilizing capacity including therapeutical approaches / S.J. Chen, J.P. Allam, Y.G. Duan // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2013. – 288 (1). – P. 191–199.

184. Chi H.J. Protective effect of antioxidant supplementation in sperm-preparation medium against oxidative stress in human spermatozoa / H.J. Chi, J.H. Kim, C.S. Ryu et al. // *Hum. Reprod.* – 2008. – V. 23, N 5. – P. 1023–1028.
185. Chikobava G.I. The role of oxygen-nitrogen stress in pathogenesis of amoebiasis / G. I. Chikobava, T.V. Sanikidze // *Georgian Med News.* – 2006. – V. 131. – P. 96–99.
186. Correlation between seminal carnitine and functional spermatozoal character is ticsin men with semen dysfunction of various origins / M. De Rosa, B. Boggia, B. Amalfietal. // *Drugs R.D.* – 2005. – V. 6, N 1. – P. 1–9.
187. Costa M. L-carnitine in idiopathic asthenozoospermia: a multicenter study. Italian Study Group on Carnitine and Male Infertility / M. Costa, D. Canale, M. Filicori, S. D'Lddio, A. Lenzi // *Andrologia.* 1994. – V. 26, N 3. – P. 155–159.
188. Cross N.L. Phosphatidylcholine enhances the acrosomal responsiveness of human sperm / N. L. Cross // *J Androl.* – 1994. – V. 15. – P. 484–488.
189. De Lamirande E. A positive role for the superoxide anion in the triggering of human sperm hyperactivation and capacitation / E. De Lamirande, C. Gagnon // *International J. of Andrology.* – 1993. – V. 16. – P. 21–25.
190. De Rosa M. Correlation between seminal carnitine and functional spermatozoal characteristics in men with semen dysfunction of various origins / M. De Rosa, B. Boggia, B. Amalfi et al. // *Drugs R. D.* – 2005. – V. 6. – P. 1–9.
191. Di Paolo G. Phosphoinositides in cell regulation and membrane dynamics / G. Di Paolo, P. De Camilli // *Nature.* – 2006. – V.12. – P. 651–657.
192. Eaton S. Mammalian mitochondrial  $\beta$ -oxidation / S. Eaton, K. Bartlett, M. Pourfarzam // *Biochem J.* – 1996. – V. 320. – P. 345–357.
193. Ecroyd H.W. Endogenous redox activity in mouse spermatozoa and its role in regulating the tyrosine phosphorylation events associated with sperm capacitation / H.W. Ecroyd, R.C. Jones, R.J. Aitken // *Biol. Reprod.* – 2003. – V. 69. – P. 347–354.
194. Eder K. Effect of L-carnitine supplementation on performance parameters in gilts and sows / K. Eder, A. Ramanau, H. Kluge // *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* – 2001. – V. 85. – P. 73–80.

195. Edwards S.E. Effects of extracellular adenosine 5'-triphosphate on human sperm motility / S.E. Edwards, M.G. Buffone, G.R. Knee // *Reproductive Sciences*. – 2007. – V. 14, N 7. – P. 655–666.
196. Eric S.G. Long-chain Acyl-CoA dehydrogenase deficiency as a cause of pulmonary surfactant dysfunction / S.G. Eric, F.A. John, S.B. Sivakama // *J. Biol. Chem.* – 2014. – V. 289. – P.10668–10679.
197. Erkkila, K. Regulation of human male germ cell death by modulators of ATP production / K. Erkkila // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2006. – V. 290, N. 6. – P. 1145–1154.
198. Fernandez-Santos M.R. Sperm characteristics and DNA integrity of iberian red deer (*cervus elaphus hispanicus*) epididymal spermatozoa frozen in the presence of enzymatic and nonenzymatic antioxidants / M.R. Fernandez-Santos, F. Martinez-Pastor, V. Garcia-Macias et al. // *J. Androl.* – 2007. – V. 28. – N 2. – P. 294–305.
199. Ferrusola O. C. Effect of cryopreservation on nitric oxide production by stallion spermatozoa / O.C. Ferrusola, G.L. Fernandez, M.B. Garcia et al. // *Biol. Reprod.* – 2009. – V. 81, N 6. – P. 1106–1111.
200. Finclding C.J. Membrane cholesterol and the regulation of signal transduction / C.J. Finclding, P.E. Fielding // *Biochem. Soc. Trans.* – 2004. – V. 32, N 1. – P. 65–69.
201. Flora S.J. Role of free radicals and antioxidants in health and disease / S.J. Flora // *Cell. Mol. Biol.* – 2007. – V. 53, N. 1. – P. 1–2.
202. Folch J. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues / J. Folch, M. Lees, G. Stauley // *J. Biol. Chem.* – 1957. – V. 226. – P. 497.
203. Gaczarzewicz D. Plasma membrane changes during the liquid storage of boar spermatozoa: a comparison of methods. / D. Gaczarzewicz, M. Piasecka, J. Udala et al. // *Acta Vet. Hung.* – 2010. – V. 58, N 1. – P. 105–116.
204. Garcia-Rosello E. Influence of sperm pretreatment on the efficiency of intracytoplasmic sperm injection in pigs / E. Garcia-Rosello, C. Matas, S. Canovas, et al. // *J. Androl. March.* – 2006. – V. 27, N 2. – P. 268–275.

205. Gil-Guzman E. Differential production of reactive oxygen species by subsets of human spermatozoa at different stages of maturation / E. Gil-Guzman, M. Ollero, M.C. Lopez et al. // *Hum. Reprod.* – 2001. – V. 16. – P. 1922–1930.
206. Gómez-Amores L. L-carnitine attenuates oxidative stress in hypertensive rats/ L. Gómez-Amores, A. Mate, J. Miguel-Carrasco et al. // *NutrBiochem.* – 2007. – V. 18, N 8. – P. 533–440.
207. Gomez E. Development of an image analysis system to monitor the retention of residual cytoplasm by human spermatozoa: correlation with biochemical markers of the cytoplasmic space, oxidative stress, and sperm function / E. Gomez, D.W. Buckingham, J. Brindle et al. // *J. Androl.* – 1996. – V.17. – P. 276–287.
208. Habeck M. Stimulation, inhibition, or stabilization of Na,K-ATPase caused by specific lipid interactions at distinct sites / M. Habeck, H. Haviv, A. Katz et al. // *J. Biol. Chem.* – 2015. – V. 290. – P. 4829–4842.
209. Haidl G. Disturbances of sperm flagella due to failure of epididymal maturation and their possible relationship to phospholipids / G. Haidl, B. Badura, K.D. Hinsch et al. // *Hum Reprod.* – 1993. – V. 8. – P.1070–1073.
210. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress / B. Halliwell // *Biochem. Soc. Trans.* – 2007. – V. 35, N 5. – P. 1147–1150.
211. Helton E. Metabolic aspects of myocardial disease and a role for L-carnitine in the treatment of childhood cardiomyopathy / E. Helton, R. Darragh, P. Francis et al. // *Pediatrics.* – 2001. – V. 105. – P. 1260–1270.
212. Hu J.H. The cryoprotective effects of ascorbic acid supplementation on bovine semen quality / J.H. Hu, W.Q. Tian, X.L. Zhao et al. // *Anim. Reprod. Sci.*– 2010. – V.121, N 1–2. – P.72–77.
213. Irat A. Effects of L-carnitine treatment on oxidant/antioxidant state and vascular reactivity of streptozotocin-diabetic rat aorta / A. Irat, F. Aktan, G. Ozansoy // *J Pharm Pharmacol.* – 2003. – V. 55, N. 10. – P. 1389–1395.
214. Jacobs S. Praxiserfahrungen mit L-Carnitin. *Lohmann Informatiobn* / S. Jacobs // *Lohmann Information.* – 2001. – V. 4. – P. 23–27.

215. Jeulin C. Role of free L-carnitine and acetyl-L-carnitine in post-gonadal maturation of mammalian spermatozoa / C. Jeulin, L. Lewin // *Human Reproduction Update*. – 1996. V. 2. – P. 87–102.
216. Jones L.L. Acylcarnitines: role in brain / L.L. Jones, D.A. McDonald, P.R. Borum // *Prog. Lipid Res.* – 2010. – V. 49. – P. 61–75.
217. Jones R.J. Plasma membrane structure and remodelling during sperm maturation in the epididymis / R.J. Jones // *Reprod. Fertil. Suppl.* – 1998. – V. 53. – P. 73–84.
218. Kang J.X. Protective effects of free polyunsaturated fatty acids on arrhythmias induced by lysophosphatidylcholine or palmitoylcarnitine in neonatal rat cardiac myocytes / J.X. Kang, A. Leaf // *Eur. J. Pharmacol.* – 1996. – V. 297, N 1–2. – P. 97–106.
219. Kapoor D. Rosiglitazone increases bioactive testosterone and reduces waist circumference in hypogonadal men with Type 2 diabetes / D. Kapoor, K.S. Channer // *Diabetes Vasc. Dis. Res.* – 2008. – V. 5, N 2. – P.135-137.
220. 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.
221. Lan Tu N. Translocator protein global knock-out mice are viable with no effects on steroid hormone biosynthesis / N. Lan Tu, M. Kanako, R. Pulak et al. // *J. Biol. Chem.* – 2014. – V. 289. – P. 27444–27454.
222. Laxalt A. M. Phospholipid signalling in plant defence / A. M. Laxalt, T. Munnik // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2002. – V 5. – P. 332–338.
223. Lei S. Sustained high protein-tyrosine phosphatase 1B activity in the sperm of obese males impairs the sperm acrosome reaction / S. Lei, Z. Qipeng, Xu Binqiang et al. // *J. Biol. Chem.* – 2014. – V. 289. – P. 8432–8441.
224. Liochev S.I. The effects of superoxide dismutase on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formation / S.I. Liochev, I. Fridovich // *Free Radic Biol Med.* – 2007. – V. 42, N 10. – P. 1465–1469.
225. Liu J. Age-associated mitochondrial oxidative decay: Improvement of carnitineacetyltransferase substrate-binding affinity and activity in brain by feeding old rats acetyl-l-carnitine and/or r-a-lipoic acid / J. Liu, D. Killilea, B. Ames // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2002. – V. 99. – P. 1876–1881.

226. Lopez C.S. Role of anionic phospholipids in the adaptation of *Bacillus subtilis* to high salinity / C.S. Lopez, A.F. Alice, H. Heras et al. // *Microbiology*. – 2006. – V. 152. – P. 605–616.
227. Lusiak W. Effect of the concentration of carnitine on acetylcarnitine production by rat heart mitochondria oxidizing pyruvate / W. Lusiak, K. Lilly, P. Toth, L. Bieder // *Nutrition*. – 1988. – V. 4, N 3. – P. 215–219.
228. Lu Z. Prolonged fasting identifies heat shock protein 10 as a sirtuin 3 substrate: elucidating a new mechanism linking mitochondrial protein acetylation to fatty acid oxidation enzyme folding and function / Z. Lu, Y. Chen, A.M. Aponte et al. // *J. Biol. Chem.* – 2015. – V. 290. – P. 2466–2476.
229. MacDonald G.A. Lipid peroxidation in hepatic steatosis in humans is associated with hepatic fibrosis and occurs predominately in acinar zone 3 / G.A. MacDonald, K.R. Bridle, P.J. Ward et al. // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2001. – V. 16, N 6. – P. 599–606.
230. Manchekar M. Phospholipid transfer protein plays a major role in the initiation of apolipoprotein B-containing lipoprotein assembly in mouse primary hepatocytes / M. Manchekar, Y. Liu, Z. Sun, P.E. Richardson, N. Dashti // *J. Biol. Chem.* – 2015. – V. 290. – P. 8196–8205.
231. Manoj P. Mitochondria-associated endoplasmic reticulum membrane (MAM) regulates steroidogenic activity via steroidogenic acute regulatory protein (StAR)-voltage-dependent anion channel 2 (VDAC2) interaction / P. Manoj, K. Jasmeet, J.P. Kevin et al. // *J. Biol. Chem.* – 2015. – V. 290. – P. 2604–2616.
232. Martínez-Pastor F. Reactive oxygen species generators affect quality parameters and apoptosis markers differently in red deer spermatozoa / F. Martínez-Pastor, E. Aisen, M. Fernández-Santos et al. // *Reproduction*. – 2009. – V. 137. – P. 225–235.
233. Matsuoka T. Preserving mafa expression in diabetic islet  $\beta$ -cells improves glycemic control in vivo / T. Matsuoka, H. Kaneto, S. Kawashima et al. // *J. Biol. Chem.* – 2015. – V. 290. – P. 7647–7657.
234. Mitchell M. Disruption of mitochondrial malate-aspartate shuttle activity in mouse blastocysts impairs viability and fetal growth / M. Mitchell, K.S. Cashman, D. Gardner et al. // *Biology of Reproduction*. – 2009. – V. 80. – N 2. – P. 295–301.

235. Mitochondrial lipid peroxides and antioxydant enzymes in colorectal adenocarcinoma tissues / O. Kanbalgi, G. Ozdemirier, T. Bulut et al. // *Gastroenterology*. – 2001. – V. 59, N 4. – P. 205.
236. Mitochondria-related male infertility / Kazuto Nakada, Akitsugu Sato, Kayo Yoshida et al. // *Proc Nat. Acad Sci USA*. – 2006. – V. 103 (41), N. 10. – P. 15148–15153.
237. Moawad A.R. L-carnitine supplementation during vitrification of mouse germinal vesicle stage–oocytes and their subsequent in vitro maturation improves meiotic spindle configuration and mitochondrial distribution in metaphase II oocytes / A.R. Moawad, B. Xu, S.L. Tan, T. Taketo // *Hum. Reprod*. – 2014. – V. 29, N 10. – P. 2256–2268.
238. Nadroo G.A. Studies on transaminases and phospatases in semen plasma of Jersey and crossbred bulls / G.A. Nadroo, V.B.Saxena, S.S. Tripathi // *Indian. Veter. J.* – 1987. – V. 64. – P. 1053–1056.
239. Noblanc A. Glutathione peroxidases (Gpx) at work on epididymal spermatozoa: an example of the dual effect of reactive oxygen species on mammalian male fertilizing ability / A. Noblanc, A. Kocer, E. Chabory et al. // *Journal of Andrology*. – 2011. – V. 25. – P 12–16.
240. Nulton-Persson Amy C. Modulation of mitochondrial function by hedrogene peroxide / C. Nulton-Persson Amy, I.Szwede Luke // *J. Biol. Chem.* – 2001. – V. 276, N 26. – P. 23357–23361.
241. O'Flaherty C.M. Reactive oxygen species requirements for bovine sperm capacitation and acrosome reaction / C.M. O'Flaherty, N.B. Beorlegui, M.T. Beconi // *Theriogenology*. – 1999. – V. 52, N 2. – P.289–301.
242. Ojano-Dirain C. Glutathione and respiratory chain complex activity in duodenal mitochondria of broilers with low and high feed efficiency / C. Ojano-Dirain, M. Iqbal, T. Wing et al. // *Poult. Sci.* – 2005. – V. 84, N 5. – P. 782–788.
243. Payne A.H. Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones / A.H. Payne, D.B. Hales // *Endocrine Rev.* – 2004. – V. 25, N. 6. – P. 947–970.
244. Ramanau A. Supplementation of sows with L-carnitine during pregnancy and lactation improves growth of the piglets during the suckling period through



increased milk production / A. Ramanau, H. Kluge, J. Spilke, K. Eder // *Journal of Nutrition*. – 2004. – V. 134. – P. 86–92.

245. Rebouche C. Kinetics, pharmacokinetics, and regulation of L-carnitine and acetyl-L-carnitine metabolism / C. Rebouche // *Ann N Y Acad Sci*. – 2004. – V. 1033. – P. 30–41.

246. Reitmann S.A. Colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases / S. Reitmann, S. Frankel // *Amer. J. Clin. Path.* – 1957. – V. 28, N 1. – P. 56–63.

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

248. Rivlin J. Role of hydrogen peroxide in sperm capacitation and acrosome reaction / J. Rivlin, J. Mendel, S. Rubinstein, N. Ektovitz, H. Breitbart // *Biol. Reprod.* – 2004. – V. 70. – P. 518–522.

249. Robert Noland C. Carnitine insufficiency caused by aging and overnutrition compromises mitochondrial performance and metabolic control / C. Robert Noland, R. Timothy Koves, E. Sarah Seiler et al. // *J. Biol. Chem.* – 2009. – V. 284, N 34. – P. 22840–22852.

250. Roca M.J. Survival and in vitro fertility of boar spermatozoa frozen in the presence of superoxide dismutase and/or catalase / M.J. Roca, M.A. Rodriguez, G. Gil et al. // *J. Androl.* January. – 2005. – V. 26, N 1. – P.15–24.

251. Roland H. The hypoxic testis and post-meiotic expression of PAS, domain proteins / H. Roland, A. Wenger // *Seminars in Cell & Developmental Biology*. – 2005. – V. 16. – P. 547–553.

252. Rubens P.A. Nutraceuticals in reproduction of bulls and stallions / P.A. Rubens, D.F. Silva, M. A. Alonso et al. // *Revista Brasileira de Zootecnia*. – 2010. – V. 39. – P. 393–400.

253. Sanocka D. Reactive oxygen species and sperm cells / D. Sanocka, M. Kurpisz // *Reproductive Biology and Endocrinology*. – 2004. – V. 2, N 12. – P. 12–26.

254. Scibior D. Catalase: structure, properties, functions / D. Scibior, H. Czeczot // *Postepy. Hig. Med. Dosw.* – 2006. – V.60. – P. 170–180.

255. Schlame M. The biosynthesis and functional role of cardiolipin / M. Schlame, D. Rua, M.L. Greenberg // *Prog. Lipid. Res.* – 2000. – V. 39, N 3. – P. 257–288.

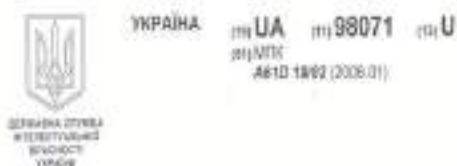
256. Schober D. Influence of cryopreservation on mitochondrial functions in equine spermatozoa / D. Schober, C. Aurich, H. Nohl, L. Gille // *Theriogenology*. – 2007. – V. 68, N 5. – P. 745–754.
257. Scott V. Novel Transcriptional Activities of Vitamin E: Inhibition of Cholesterol Biosynthesis / V. Scott, T. Varsha, K. Kumar et al. // *Biochemistry*. – 2008. – V. 47, N 2. – P. 744–752.
258. Shamsi M.B. Antioxidant levels in blood and seminal plasma and their impact on sperm parameters in infertile men / M.B. Shamsi, S. Venkatesh, R. Kumar, N.P. Gupta et al. // *Indian. J. Biochem. Biophys.* – 2010. – V. 47, N 1. – P. 38–43.
259. Silva-Adaya D. Excitotoxic damage, disrupted energy metabolism, and oxidative stress in the rat brain: antioxidant and neuroprotective effects of L-carnitine / D. Silva-Adaya, V. Pérez-De La Cruz, M. Herrera-Mundo et al. // *J. Neurochem.* – 2008. – V.105, N 3. – P. 677–689.
260. Singh A.K. Quantitative chromatographic analysis of inositol phospholipids and related compounds / A.K. Singh, Y. Jiang // *J. Chromatogr. B.* – 1995. – 671, N 1–2. – P. 255–280.
261. Shamsi M.B. Antioxidant levels in blood and seminal plasma and their impact on sperm parameters in infertile men. / M.B. Shamsi, S. Venkatesh, R. Kumar et al. // *Indian. J. Biochem. Biophys.* – 2010. – V.47. – N 1. – P.38–43.
262. Sharan M. Qualitative indicators of ram-sires thawed sperm, frozen in different periods of sexual activity/ M. Sharan, V. Vlizlo, C. Grymak// *International Scientific Conference: Molecular Research in Animal Science.* – Krakow, 2014. – P. 96.
263. Stottrup B.L. Nonequilibrium behavior in supported lipid membranes containing cholesterol / B.L. Stottrup, S.L. Veatch, S.L. Keller // *Biophys. J.* – 2004. – V. 86, N. 5. – P. 2942–2950.
264. Strain G.W. The effect of bariatric surgery on the abnormalities of the pituitary-gonadal axis in obese men / G.W. Strain, B. Zumoff // *Surg. Obes. Relat. Dis.* – 2006. – N 2 (2). – P.75–77.

265. Takashi B. Phosphatidic acid (PA)-preferring phospholipase A1 regulates mitochondrial dynamics / B. Takashi Baba, K. Yuriko, A. Nagisa et al. // *J. Biol. Chem.* – 2014. – V. 289. – P. 11497–11511.
266. Takehiko U. The extracellular A-loop of dual oxidases affects the specificity of reactive oxygen species release / U. Takehiko, S. Megumi, N. Yuzuru // *J. Biol. Chem.* – 2015. – V. 290. – P. 6495–6506.
267. Thomas Charpentier H. Membrane-induced allosteric control of phospholipase C- $\beta$  isozymes / H. Thomas Charpentier, L. Gary Waldo, O. Matthew Barrett et al. // *J. Biol. Chem.* – 2014. – V. 289. – P. 29545–29557.
268. Thomson L.K. Cryopreservation-induced human sperm DNA damage is predominantly mediated by oxidative stress rather than apoptosis / L.K. Thomson, S.D. Fleming, R.J. Aitken et al. // *Hum. Reprod.* – 2009. – V. 24. – P. 2061–2070.
269. Tremellen K. Oxidative stress and male infertility – a clinical perspective / K. Tremellen // *Hum. Reprod. Update.* – 2008. – V. 14. – P. 243–258.
270. Turner T. Oxidative stress: a common factor in testicular dysfunction / T. Turner, J. Lysiak // *J. Androl.* – 2008. – V. 29. – P. 488–498.
271. Vanacker H. Oxidative modifications to cellular components in plants / H. Vanacker, L. Sandalio, A. Jimenez et al. // *Journal of Experimental Botany.* – 2006. – Vol. 57, N. 8. – P. 1747–1758.
272. Vernon Richard G. Lipid metabolism during lactation: A review of adipose tissue-liver interactions and the development of fatty liver / G. Vernon Richard // *J. Dairy Res.* – 2005. – V. 72, N. 4. – P. 460–469.
273. Virmani A. The protective role of L-carnitine against neurotoxicity evoked by drug of abuse, methamphetamine, could be related to mitochondrial dysfunction / A. Virmani, F. Gaetani, S. Imam et al. // *Ann N Y Acad Sci.* – 2002. – V. 965. – P. 225–232.
274. Vlizlo V. Isoenzyme spectrum of superoxide dismutase at oxygenation of bulls' sperm / V. Vlizlo, N. Kuz'mina, I. Yaremchuk, R. Ostapiv, D. Ostapiv // 26th World Buiatrics Congress, Santiago (14-18 november) – 2010. – P. 23–25.
275. Wang Y. L-carnitine: safe and effective for asthenozoospermia / Y. Wang, S. Yang, C. Qu et al. // *Zhonghua Nan Ke Xue.* – 2010. – V. 16. – P. 420–422.

276. Weber S. Aldo-keto reductase 1B15 (AKR1B15): a mitochondrial human aldo-keto reductase with activity toward steroids and 3-keto-Acyl-CoA conjugates / S. Weber, J.K. Salabei, G. Möller et al. // *J. Biol. Chem.* – 2015. – V. 290. – P. 6531–6545.
277. Xianglan Q. Essential role of mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$  uniporter in the generation of mitochondrial pH gradient and metabolism-secretion coupling in insulin-releasing cells / Q. Xianglan, N. Tuyet Thi, C. Seong-Kyung et al. // *J. Biol. Chem.* – 2015. – V. 290. – P. 4086–4096.
278. Xu Y. Sphingosylphosphorylcholine and lysophosphatidylcholine: G protein-coupled receptors and receptor-mediated signal transduction / Y. Xu // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2002. V. 1582, N. 1–3. – P. 81–88.
279. Yari A. Cadmium toxicity in spermatogenesis and protective effects of L-carnitine in adult male rats / A. Yari, M.H. Asadi, H. Bahadoran, H. Dashtnavard, H. Imani, M.R. Naghii // *Biological Trace Element Research.* – 2010. – V. 137, N. 2. – P. 216–225.
280. Yeste M. A diet supplemented with L-carnitine improves the sperm quality of Pietrain but not of Duroc and Large White boars when photoperiod and temperature increase / M. Yeste, S. Sancho, M. Briz et al. // *Theriogenology.* – 2010. – V. 73. – P. 577–586.

## **ДОДАТКИ**

Додаток А



ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: 02014/11/01	(73) Заявник(и): Центрально-Східний Інститут (ІА), Кабінетний Вісник Альфа-інститут (ІА)
(22) Дата подання заявки: 08.10.2014	(75) Підзаявник: Центрально-Східний Інститут, вул. Лесі Українки, 150, м. Київ, м. Київська область, 02070 (ІА); Кабінетний Вісник Альфа-інститут, вул. Першотравнева, 3, м. Київ, м. Київська область, 01007 (ІА)
(24) Дата набуття сили: 10.04.2015	(74) Представник: Кабінетний Вісник Альфа-інститут
(46) Публікація: 10.04.2015, Бюлетень № 14	

СПОСІБ ПОКРАЩЕННЯ ЯКОСТІ СПЕРМОЗОРАТКІ БУГАЙ

(57) Резюме:  
Спосіб покращення якості спермозоратки бугаїв у вирощуванні Лепіткою в місцевості Сторж у м. Київ, обласна територія «Лепітка» з розрахунку 20 особ./г, у середньому, у середньому, у середньому.

UA 98071 U

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: 02014/11/01	(73) Заявник(и): Центрально-Східний Інститут (ІА), Кабінетний Вісник Альфа-інститут (ІА)
(22) Дата подання заявки: 08.10.2014	(75) Підзаявник: Центрально-Східний Інститут, вул. Лесі Українки, 150, м. Київ, м. Київська область, 02070 (ІА); Кабінетний Вісник Альфа-інститут, вул. Першотравнева, 3, м. Київ, м. Київська область, 01007 (ІА)
(24) Дата набуття сили: 10.04.2015	(74) Представник: Кабінетний Вісник Альфа-інститут
(46) Публікація: 10.04.2015, Бюлетень № 14	

СПОСІБ ПОКРАЩЕННЯ ЯКОСТІ СПЕРМОЗОРАТКІ БУГАЙ

(57) Резюме:  
Спосіб покращення якості спермозоратки бугаїв у вирощуванні Лепіткою в місцевості Сторж у м. Київ, обласна територія «Лепітка» з розрахунку 20 особ./г, у середньому, у середньому, у середньому.

UA 98510 U

## Додаток В

ЗАТВЕРДЖУЮ

Голова правління ПрАТ  
«Українська генетична компанія»

В.М. Кузьмін

Київ, 2013 року

АКТ

## про впровадження (використання) наукової розробки

Ми, що нижче підписалися, голова правління ПрАТ «Українська генетична компанія» с. Оліївка, Житомирського району, Житомирської області Кузьмін В.М., лікар ветеринарної медицини Євтух Б.С. і технолог Новицький О.А. склали даний акт про те, що у вказаному господарстві (установі) проведено впровадження (використання) закінченої наукової розробки: «Біохімічне обґрунтування застосування L-карнітину для корекції енергетичного та ліпідного обміну в спермі бугаїв». З метою покращення якісних та кількісних показників сперми бугаїв, підвищення запліднювальної здатності спермій згодовували добавку до раціону «Карніпас» в кількості 20 г/гол. Тривалість впровадження наукової розробки 75 днів.

В результаті додавання добавки біокомплексної дії плідникам, підвищуються фізіологічні показники якості сперми бугаїв.

Згідно з результатами впровадження отержано фактичний економічний ефект: у бугаїв дослідної групи збільшується кількість спермодоз на 14,8 % та підвищується запліднювальна здатність сперми на 5,9 %.

Акт складений у двох примірниках

Представники господарства (установи)

Голова правління ПрАТ «UGC»

Ветеринарний лікар

Технолог

Кузьмін В.М.

Євтух Б.С.

Новицький О.А.

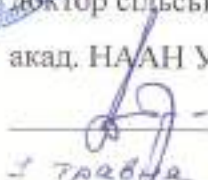


## Додаток С

**ЗАТВЕРДЖУЮ:**




Перший проректор Національного  
університету біоресурсів і  
природокористування України  
доктор сільськогосподарських наук,  
акад. НААН України, професор

 - І.І. Ібатуллін  
1 травня 2015 року

### КАРТА ЗВОРОТНОГО ЗВ'ЯЗКУ

Викладені в інформаційному листі дані здобувача кафедри органічної та біологічної хімії Білоцерківського НАУ Коберської В.А. за темою «Біохімічне обґрунтування застосування L-карнітину для корекції енергетичного та ліпідного обмінів у спермі бугаїв», які викладені в інформаційному листі використовуються в навчальному процесі при викладанні курсів «Біохімія тварин» використовуються в методичній і науково-практичній роботі на кафедрі біохімії тварин якості і безпеки сільськогосподарської продукції імені академіка М.Ф. Гулого Національного університету біоресурсів і природокористування України.

Матеріали розглянуті та схвалені на засіданні кафедри біохімії тварин якості і безпеки сільськогосподарської продукції ім. академіка М.Ф. Гулого Національного університету біоресурсів і природокористування України (протокол № 11 від 1 квітня 2015 р.).

В.о. завідувача кафедри біохімії тварин  
якості і безпеки сільськогосподарської продукції  
імені академіка М.Ф. Гулого НУБіПУ,  
доктор вет. наук, професор,  
академік академії наук вищої освіти України  В.А. Томчук



## Додаток Д

**ЗАТВЕРДЖУЮ:**



### КАРТА ЗВОРОТНОГО ЗВ'ЯЗКУ

Викладені в інформаційному листі здобувача В.А. Коберської матеріали дисертаційної роботи за темою «Біохімічне обґрунтування застосування L-карнітину для корекції енергетичного та ліпідного обмінів у спермі бугаїв» використовуються в навчальному процесі при викладанні курсів «Біохімія», «Харчова хімія» та наукових дослідженнях на кафедрі хімії та біотехнології Таврійського державного агротехнологічного університету.


Матеріали розглянуті та схвалені на засіданні кафедри хімії та біотехнології (протокол № 7 від 22 квітня 2015 р.).


Завідувач кафедри  
к.с.-г.н., доцент

М.О. Колесніков

Додаток Д<sub>1</sub>

ЗАТВЕРДЖУЮ:

Ректор Вінницького національного  
аграрного університету  
  
В.А. Мазур  
«16» вересня 2015 року



## КАРТА ЗВОТНОГО ЗВ'ЯЗКУ

Матеріали дисертаційної роботи Вікторії Альдмилівни Коберської за темою «Біохімічне обґрунтування застосування L-карнітину для корекції енергетичного та ліпідного обміну в спермі бугаїв», які викладені в інформаційному листі використовуються в навчальному процесі при викладанні курсів «Біологічна, фізична і колоїдна хімія», «Годівлі сільськогосподарських тварин», «Біотехнології» та наукових дослідженнях на кафедрі годівлі с.-г. тварин та водних біоресурсів Вінницького національного аграрного університету.

Матеріали розглянуті та схвалені на засіданні кафедри годівлі с.-г. тварин та водних біоресурсів ВНАУ (протокол № 3 від 16 вересня 2015 р.).

Завідувач кафедри годівлі с.-г. тварин  
та водних біоресурсів ВНАУ,  
доктор с.-г. наук, професор



А.В. Гуцол