

**ГОМЕОСТАЗ КОНЦЕНТРАЦІЙ КАЛЬЦІЮ, КАЛІЮ, НАТРІЮ СПЕРМИ БУГАЇВ
І МАТКОВО-ВАГІНАЛЬНОГО СЛИЗУ КОРІВ**

Ольга СТАДНИЦЬКА, кандидат сільськогосподарських наук

Григорій СЕДІЛО, доктор сільськогосподарських наук

Василь МАКСИМ'ЮК, кандидат біологічних наук

Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААН

вул. Грушевського, 5, с. Оброшине, Львівський р-н, Львівська обл., 81115, Україна

e-mail: stadnytskaolha@ukr.net

Визначена різниця показників концентрації (мМ) іонів лужних металів (Ca^{2+} , K^+ , Na^+) і вирахованих індексів співвідношень (IC:1) її пар ($\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$, $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$, $\text{Na}^+:\text{K}^+$) у зразках сперми бугаїв та матково-вагінального слизу (МВС) корів української чорно-рябої породи наводить на думку, що здатність спермій до пасивного і/або активного переміщення каналами й протоками статевих органів можна пов'язати з фізико-хімічними процесами пасивної дифузії та активного транспорту речовин, які відбуваються у системі «сперма – МВС». Сила енергії хімічних і електрохімічних градієнтів концентрації та сила іонних pomp осмотичного тиску неорганічних і онкотичного – органічних речовин сприяє переміщенню спермій до місця їх контакту з яйцеклітиною.

На користь запропонованої гіпотези вказують отримані вірогідні ($P < 0,001$) результати стехіометрії параметрів концентрацій Ca^{2+} (10 проти 6) та Na^+ (62 проти 1066 мМ) сперми і МВС, відповідно. Визначену відмінність ілюструють також неоднакові індекси співвідношень концентрації пар іонів. Якщо їх величину у зразках сперми спрямовано від пари $\text{Na}^+:\text{K}^+$ до пари $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ ($1,4:1 \rightarrow 5:1 \rightarrow 6:1$), то у зразках МВС – від $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ до $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ ($8:1 \rightarrow 23:1 \rightarrow 193:1$). Різницю індексів ряду пар ($\text{K}^+:\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{Na}^+:\text{K}^+ \rightarrow \text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$) сперми і МВС спрямовано від меншої до більшої величини ($3:1 < 22:1 < 187:1$). Якщо вираховані зміни виразити відсотками, то відмінність показників у зразках МВС відповідно становить 41; 94 і 97 %, що в 2; 16 і 30 разів більше від зразків сперми. Це може означати, що визначена суттєва різниця фізико-хімічного стану органічних і неорганічних речовин середовища каналів і проток статевих органів корів формує умови, які сприяють активному й пасивному переміщенню спермій каналами й протоками їх статевих органів.

Ключові слова: сперма, матково-вагінальний слиз, гомеостаз концентрації іонів.

Вступ

Зниження рівня запліднюваності яйцеклітин за умов штучного осіменіння і природного парування сучасні дослідники здебільшого пов'язують зі змінами фізико-хімічного стану секретів статевих органів (Lin C. M. et al., 2011; Sanders F. P. et al., 2015). Ступінь їх шкодочинного впливу ініціюють різні форми вірулентної вагінальної й утеральної мікрофлори (Coy P. et al., 2012; Hunter R. H., 2012). Порушення норми співвідношень мікробіоценозу та шкодочинна дія продуктів запальних процесів тканин статевих органів знижують запліднюваність яйцеклітин, ініціюють часткову втрату відтворювальної здатності (Chen Z. et al., 2014; Griffiths S. K., Campbell J. P., 2015; Hwang J. Y. et al., 2019). Підвищується ризик викидня, плід народжується з пониженими параметрами маси тіла (Kipper M., Noque A. M. W., Raqib R., 2010; Lin C. M. et al., 2011; Al-Salec J., 2015; Suliburska J. et al., 2016). У пубертантний період змінюється гормональний статус організму плода (Kipper M., Noque A. M. W., Raqib R., 2010; Hanson, M. L. et al., 2012; Suliburska J. et al., 2016). Середовище МВС змінює рН з кислого рівня на лужний (Zeng X. H., et al., 2013; Huafeng W., Luke L., McGoldrick, Jean-Ju C., 2021),

містить підвищену концентрацію інтерлейкінів (Jones B. et al., 2017).

У цьому зв'язку відомо, що активний і пасивний рух спермій каналами й протоками статевих органів забезпечує кількісний та якісний склад речовин сперми самця і матково-вагінального слизу самки (Silva P. F., 2006). Їх внутрішньо- і позаклітинна концентрація відсепаровує неповноцінні клітини. Процеси хемо- і електротаксису переміщують повноцінні спермії із каналу шийки матки у фалопієві труби, де вони вступають в контакт з яйцеклітиною (Böhmer M. et al., 2005; Miki K., Clapham D. E., 2013). Наведене означає, що кількісний та якісний склад секретів самки створює оптимальні умови, які сприяють активному переміщенню спермій до яйцеклітини (Maksymiuk V. et al., 2022). Однак інформації щодо відмінностей гомеостазу пар іонів лужних металів сперми та МВС в опублікованій на сьогодні науковій літературі нами не знайдено.

Тому виявлені зміни параметрів концентрації Ca^{2+} , K^+ , Na^+ сперми за шкодочинної дії екстремальних умов її кріоконсервації до -196 оС та відмінності параметрів водних екстрактів тканин статевих органів, які пов'язані з рухливістю й запліднювальною здатністю спермій



(Maksymiuk V. et al., 2022), спрямували на дослідження особливостей співвідношень концентрації пар іонів сперми бугаїв і МВС ($\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$, $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$, $\text{Na}^+:\text{K}^+$) корів впродовж першої → другої → третьої доби естрального циклу. Їх різностороннє вивчення в майбутньому дозволить: отримати об'єктивну інформацію про особливості позитивного (захисного) й негативного (шкодочинного) впливу фізико-хімічних процесів сперми і МВС на запліднюваність яйцеклітини за дії умов штучного осіменіння і природного парування; сформулювати нові теоретичні постулати і базові положення для оцінювання реакції спермів на шкодочинну дію екзо- і ендогенних факторів.

Матеріали і методи

Особливості концентрації іонів лужних металів (Ca^{2+} , K^+ , Na^+) та рівноважного стану її пар ($\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$, $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$, $\text{Na}^+:\text{K}^+$) сперми бугаїв і концентрації іонів матково-вагінального слизу (МВС) корів проаналізовано середніми показниками сперми трьох груп бугаїв і однієї групи корів української чорно-рябої породи віком 3–9 років по п'ять тварин у кожній. Сперму від бугаїв отримували у штучну вагіну. Відібрані й оцінені методом полум'яної фотометрії зразки отриманих еякулятів мали високі (32–69), середні (25–46) і/або низькі (16–33 мМ) параметри концентрації K^+ . Середні показники об'єму першого і другого еякулятів становили 3–5 см³;

концентрації – 0,8–2 млрд/см³, рухливості спермів – 7–9 балів.

Впродовж парувального сезону (квітень – червень), після виявлених ознак охоти (поведінкове збудження, набухання зовнішніх статевих органів, виділення слизу) 7–9 год. ранку під час першої (24) → другої (48) → третьої (72 год.) доби тічки, рукою з піхви відбирали зразки слизу. Стан відібраних зразків оцінювали показниками об'єму (12–23 см³). Ознаки кольору (прозоро-скляний → молочно білий) і консистенції (густо-в'язка → рідка) оцінювали окомірно.

Виявлені особливості гомеостазу іонів лужних металів зразків сперми і МВС оцінено несистемними абсолютними (IC:1*, мМ) й відносними (IC:1, %) показниками. Оцінку отриманих відмінностей проведено статистичними показниками ($M \pm m$, C_v , P , $\lim$) комп'ютерної програми Microsoft Excel біометричного методу.

Примітка. IC:1* – Частка (або результат) поділу однієї величини показника концентрації Ca^{2+} , K^+ , Na^+ на іншу, де: I – індекс її співвідношень; C – концентрація іонів.

Результати та обговорення

Співставлення середніх рівнів концентрації іонів лужних металів сперми бугаїв і МВС корів (рис. 1) свідчить, що вектор їх величини у зразках обох досліджених об'єктів спрямовано від Ca^{2+} до Na^+ , а саме: Ca^{2+} (10–6) → K^+ (47–47) → Na^+ (62–1066 мМ).

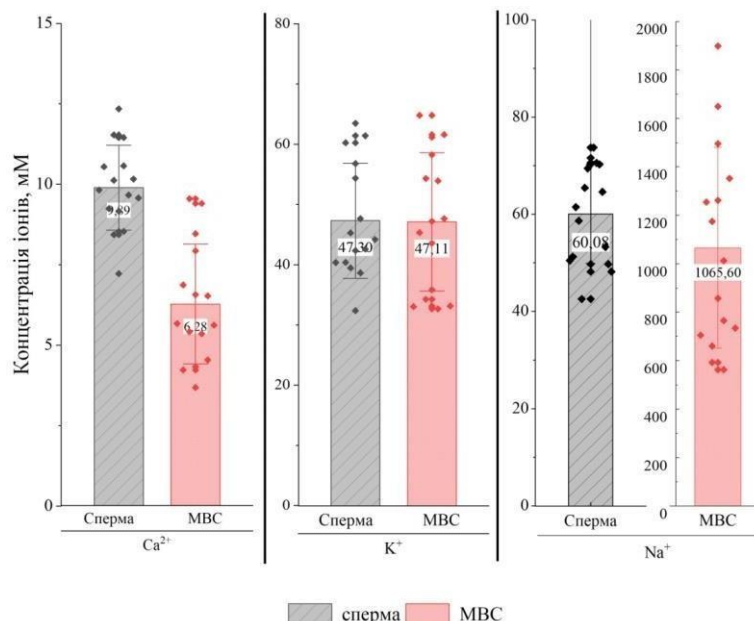


Рисунок 1. Концентрація іонів сперми і матково-вагінального слизу (мМ, n = 15)

Результати виконаних досліджень свідчать, що отримані ліміти концентрації Ca^{2+} еякулятів бугаїв з різною (низька, середня, висока)

концентрацією K^+ та МВС корів першої → другої → третьої доби тічки корів – майже однакові (сперми – 8–12; МВС – 4–10), K^+ – співпадають (сперми – 32–63; МВС – 33–65), але Na^+ – суттєво

різні (сперми – 48–74; МВС – 563–1899 мМ). Якщо різниця межі мінімальних показників концентрації Na^+ у зразках сперми в 1,3 разу нижча від зразків МВС, то різниця її максимальних параметрів зростає до 14 разів. Отриманий діапазон різниці демонструють також визначені мінімальні й максимальні коефіцієнти варіації (Cv) середніх показників концентрацій Ca^{2+} , K^+ , Na^+ , які у зразках сперми (13 → 24) в 1,8–1,6 разу менші від МВС (24 → 39 %).

Відмінність показників концентрації іонів у зразках сперми і МВС представлено високою вірогідною різницею параметрів Ca^{2+} і Na^+ ($P = < 0,001$), але несуттєвою різницею параметрів K^+ ($P = > 0,5$). Знайдена дельта ($\Delta = -0,2$ мМ) різниці концентрації K^+ становить 4 мМ, або 0,5 %; Ca^{2+} (10 проти 6 мМ) на 36 % або в 1,6 разу менша, але Na^+ (62 проти 1004 мМ) на 94 %, або в 17 разів більша ніж сперми.

Низькі рівні концентрації Ca^{2+} (8–12) та середні K^+ (32–63) і Na^+ (48–74 мМ) сперми бугаїв створюють такий рівноважний стан за умов якого вектор індексу її співвідношень спрямовано від $\text{Na}^+:\text{K}^+$ -свої до $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ -свої пари (рис. 2), а саме: $\text{Na}^+:\text{K}^+$ (1,4:1) → $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ (5:1) → $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ (6:1).

Однак у зразках МВС корів впродовж першої → другої → третьої доби тички конфігурація розподілу його величини в наведеному ряду інша. Неоднакові рівні концентрації Ca^{2+} (4–10), K^+ (33–65), Na^+ (563–1899 мМ) зумовлюють інший порядок розміщення індексу співвідношень їх пар. Величина пари $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ (8:1) < $\text{Na}^+:\text{K}^+$ (23:1) < $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ (193:1), що відповідно в 2; 16; 30 разів більше від співвідношень пар іонів сперми.

Найбільш стійким рівноважним станом концентрацій іонів лужних металів у спермі бугаїв очевидно слід вважати гомеостаз пари $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$. Коефіцієнт варіації індексу її співвідношень становить 18 %, $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ зростає до 25, а $\text{Na}^+:\text{K}^+$ – до 32 %. Парам зразків МВС корів характерний цілком інший ряд і величина показників, а саме: $\text{Na}^+:\text{K}^+$ (33) < $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ (40) $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ (59%). Однак слід зазначити, що розбалансованість гомеостазу концентрації іонів $\text{Na}^+:\text{K}^+$ сперми і МВС – однакова середня (32 і 33), але $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ (59 і 25) і $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ (40 і 18 %) зразків МВС в 2,4 і 2,2 разу відповідно більша, ніж зразків сперми.

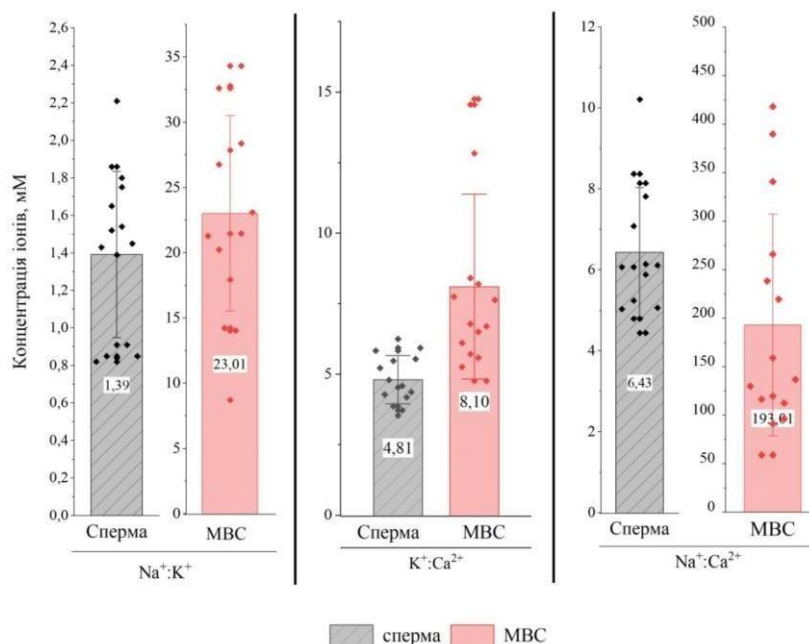


Рисунок 2. Співвідношення концентрації пар іонів сперми і матково-вагінального слизу (IC:1, n = 15)

Якщо взяти до уваги визначені параметри концентрації та вирахованих індексів співвідношень пар іонів (табл.) і опертися на положення давно запропонованих моделей, які обґрунтовують особливості транспорту поживних речовин у біологічних системах типу «клітина –

середовище», то здатність спермій до пасивного і активного переміщення каналами й протоками статевих органів можна пояснити інтенсивністю процесів пасивної дифузії і активного транспорту поживних речовин. У цьому зв'язку слід враховувати і те, що результатом фізико-хімічних

процесів, які відбуваються на межі фаз вода/речовина, є енергія сили іонних pomp. Її величина пов'язана з різницею потенціалів

електрохімічних градієнтів катіонів хімічних сполук.

Таблиця. Різниця показників концентрації та співвідношень пар іонів

Об'єкт досліджень	Стат. показники	Концентрація, мМ			Співвідношення, ІС:І		
		Ca ²⁺	K ⁺	Na ⁺	Na ⁺ :K ⁺	K ⁺ :Ca ²⁺	Na ⁺ :Ca ²⁺
Сперма	М	10	47	62	1,4:1	5:1	6:1
Матково-вагінальний слиз	М	6	47	1066	23:1	8:1	193:1
Різниця показників							
Дельта різниці	±Δ:І	-4	-0,2	+1004	+22:1	+3:1	+187:1
Відсоток різниці	±%	-36	-0,5	+94	+94	+41	+97
Різниця в рази	±х	-2	без змін	+17	+16	+2	+30
Вірогідність різниці	Р	< 0,001	> 0,5	< 0,001	< 0,001	< 0,01	< 0,001

На користь запропонованої гіпотези вказують отримані нами вірогідні ($P < 0,001$) результати стехіометрії параметрів концентрацій Ca²⁺ (10 проти 6) і Na⁺ (62 проти 1066 мМ) досліджених зразків сперми і МВС. Визначену відмінність ілюструють неоднакові індекси співвідношень концентрації пар іонів. У зразках сперми її спрямовано від пари Na⁺:K⁺ до пари Na⁺:Ca²⁺ (1,4:1 → 5:1 → 6:1), але у зразках МВС – від K⁺:Ca²⁺ до Na⁺:Ca²⁺ (8:1 → 23:1 → 193:1). В наведеному ряду (K⁺:Ca²⁺ → Na⁺:K⁺ → Na⁺:Ca²⁺) величину різниці показників сперми і

МВС спрямовано від меншої до більшої величини (3:1 < 22:1 < 187:1). За таких обставин, виражена відсотками, відмінність показників становить 41; 94 і 97 %, що відповідно в 2; 16 і 30 разів більше ніж у спермі. Це вказує на те, що визначена суттєва різниця фізико-хімічного стану органічних і неорганічних речовин середовища каналів і проток статевих органів самки щодо сперми самця формує умови, які сприяють активному й пасивному переміщенню спермій до місця зустрічі з яйцеклітиною.

Висновки

Порівняльний аналіз отриманих результатів свідчить, що впродовж першої – третьої доби тічки рівень концентрації Ca²⁺ (6 проти 10) досліджених зразків матково-вагінального слизу корів української чорно-рябої породи віком 3–9 років вірогідно нижчий, Na⁺ (1066 проти 62) – вищий ($P = < 0,001$) від зразків сперми бугаїв з низькими (16–33) і високими (32–69 мМ) параметрами концентрації K⁺. Однак ліміти мінімальної і максимальної концентрації K⁺ виділених зразків

слизу (32–63) та еякульованої сперми (33–65 мМ) – майже однакові.

В момент природного парування чи штучного осіменіння відмінності гомеостазу концентрацій пар іонів K⁺:Ca²⁺, Na⁺:K⁺ і Na⁺:Ca²⁺, індекс співвідношень яких еякульованої сперми в 2; 16; 30 разів відповідно менший ніж виділеного слизу, створює відповідну різницю осмотичного й онкотичного тиску неорганічних і органічних речовин, енергія сили якого переміщає спермії до місця їх контакту з яйцеклітиною.

Список використаної літератури

Al-Salec J. (2015) Interaction between cadmium (Cd), Selenium (Se) and oxidative stress biomarkers in healthy mothers and its impact on birth anthropometric measures. *Int. J. Hug. Environ. Health*. Vol. 218. № 1. P. 66–90. doi: 10.1016/j.ijheh.2014.08.001.

Böhmer M. et al. (2005) Ca²⁺ spikes in the flagellum control chemotactic behavior of sperm. *EMBO J*. Vol. 24. 2741–2752.

Buhrov A. D. (2013) Identification and selection of cows and heifers in the oestrus: metod. rek. Kharkiv. 115 p. (In Ukrainian).

Chen Z., Myers R., Wei T. et al. (2014) Placental transfer and concentrations of cadmium, mercury, lead and selenium in mothers, newborns, and young children. *Journal of Exposure Science and*

Environmental Epidemiology. Vol. 24. № 5. P. 537–544. doi: 10.1038/jes.2014.26.

Coy P., Garcia-Vazquez, F. A., Visconti, P. E., Aviles, M. (2012) Roles of the oviduct in mammalian fertilization. *Reproduction*. Vol. 144. P. 649–660.

Griffiths, S. K., Campbell J. P. (2015) Placental structure, function and drug transfer. *Continuing Education in Anesthesia Critical Care & Pain*. Vol. 15. № 2. P. 84–89. doi: 10.1093/bjaceaccp/mku013.

Hanson, M. L., Holaskova, I., Elliott, M. et al. (2012) Prenatal cadmium exposure alters postnatal immune cell development and function. *Toxicology Appl. Pharmacol.* Vol. 261. № 2. P. 196–203. doi: 10.1016/j.taap.2012.04.002.

Huafeng Wang, Luke L. McGoldrick, Jean-Ju Chung (2021) Sperm ion channels and transporters

in male fertility and infertility. *Nature Reviews. Urology*. Vol. 18. P. 46–66.

Hunter R. H. (2012) Components of oviduct physiology in eutherian mammals. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* Vol. 87. P. 244–255.

Hwang J. Y. et al. (2019) Dual sensing of physiologic pH and calcium by EFCAB9 regulates sperm motility. *Cell*. Vol. 177. P. 1480–1494.

Jones B., Harendra K., Harihar P. G., Mustapha H. J., Sanjay K. S., Manas K. P. (2017) Endometritis Increases Pro-inflammatory Cytokines in Follicular Fluid and Cervico-vaginal Mucus in the Buffalo Cow. *Animal Biotechnology*. Vol. 28 (3). P. 163–167. <https://doi.org/10.1080/10495398.2016.1244067>.

Kipper, M., Hoque A. M. W., Raqib R. (2010) Accumulation of cadmium in human placenta interacts with transport of micronutrients to the foetus. *Toxicology Lett.* Vol. 192. No. 2. P. 162–168. doi: 10.1016/j.toxlet.2009.10.018.

Lin C. M., Doyle P., Wang D. (2011) Does prenatal cadmium exposure effect foetal and child growth? *Occupational and Environmental Medicine*. Vol. 68. No. 9. P. 641–646. doi: 10.1177/0950268810382044.

Maksymiuk V., Sedilo G., Stadnytska O., Maksymiuk H., Vorobets Z. (2022) Features of the Imbalance in the Mass of Components of the Uterine-

Vaginal Mucus of Cows Due to the Harmful Effects of Endogenous Factors. *Scientific Horizons*. Vol. 25 (3). P. 9–15. [https://doi.org/10.48077/scihor.25\(3\).2022.9-15](https://doi.org/10.48077/scihor.25(3).2022.9-15). (In Ukrainian).

Miki, K., Clapham, D. E. (2013) Rheotaxis guides mammalian sperm. *Curr. Biol.* Vol. 23. P. 443–452.

Silva P. F., Gadella B. M. (2006) Detection of damage in mammalian sperm cells. *Theriogenology*. Vol. 65. P. 958 – 978.

Sanders F. P., Claus Henn B., Wrigth R. O. (2015) Perinatal and childhood exposure to cadmium, manganese, and metal mixtures and effects on cognition and behaviour: a review of recent literature. *Current Environ. Health Rep.* Vol. 2. No. 3. P. 284–294. doi: 10.1007/s40572-015-0058-8.

Suliburska J., Kocylowski R., Komorowicz I., Grzesiak M., Bogdański P., Barańkiewicz D. (2016) Concentrations of Mineral in Amniotic Fluid and Their Relations to Selected Maternal and Fetal Parameters. *Biological trace element research*. Vol. 172(1). P. 37–45. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0557-3>

Zeng X. H., Navarro B., Xia X. M., Clapham D. E., Lingle C. J. (2022) Simultaneous knockout of Slo3 and CatSper1 abolishes all alkalization- and voltage-activated current in mouse spermatozoa. *J. Gen. Physiol.* Vol. 142. P. 305–313.

HOMEOSTASIS OF CONCENTRATIONS OF CALCIUM, POTASSIUM, SODIUM IN SPERM OF BULLS AND UTERINE-VAGINAL MUCUS OF COWS

Olha STADNYTSKA, Hryhorii SEDILO, Vasyl MAKSYMUK
Institute of Agriculture of the Carpathian Region of NAAS

The difference in concentration indicators (mM) of alkali metal ions (Ca^{2+} , K^+ , Na^+) and the calculated ratio indices (RI:1) of their pairs ($\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$, $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$, $\text{Na}^+:\text{K}^+$) in bull semen samples and uterine-vaginal mucus (UVM) of the Ukrainian black-spotted breed cows was determined and suggests that the ability of sperm to passively and/or actively move through the channels and ducts of the genital organs can be associated with the physicochemical processes of passive diffusion and active transport of substances that occur in the "sperm – UVM" system. The power of the energy of chemical and electrochemical concentration gradients and the power of ion pumps of the osmotic pressure of inorganic and oncotic – organic substances promotes the movement of spermatozoa to the place of their contact with the egg cell.

In favor of the proposed hypothesis indicate the obtained probable ($P < 0.001$) results of the stoichiometry parameters of the concentrations of Ca^{2+} (10 vs. 6) and Na^+ (62 vs. 1066 mM) of sperm and UVM, respectively. The determined difference is also illustrated by the unequal indices of ion pair concentration ratios. If their value in sperm samples is directed from the pair $\text{Na}^+:\text{K}^+$ to the pair $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ ($1.4:1 \rightarrow 5:1 \rightarrow 6:1$), then in the samples of UVM – from $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ to $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ ($8:1 \rightarrow 23:1 \rightarrow 193:1$). The difference in indices of a number of pairs ($\text{K}^+:\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{Na}^+:\text{K}^+ \rightarrow \text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$) of sperm and UVM is directed from a smaller to a larger value ($3:1 < 22:1 < 187:1$). If the calculated changes are expressed as percentages, then the difference in indicators in the samples of the UVM, respectively, is 41; 94 and 97 %, which is in 2; 16 and 30 times more than sperm samples. This may mean that the determined significant difference in the physical and chemical state of organic and inorganic substances in the environment of the channels and ducts of the genital organs of cows creates conditions that contribute to the active and passive movement of sperm through the channels and ducts of their genital organs.

Keywords: semen, uterine-vaginal mucus, ion concentration homeostasis.

Отримано: 28.02.24
Погоджено до друку: 14.03.24