



UDC 636.4.09:616.69:542.943

Значення оксидативного стресу у зниженні репродуктивної здатності кнурів-плідників

В. І. Кошевой, С. В. Науменко

Харківська державна зооветеринарна академія, Харків, Україна

Article info

Received 21.03.2020

Received in revised form
17.04.2020

Accepted
20.05.2020

Kharkiv State Zooveterinary
Academy, Kharkiv, Ukraine
1, Academichna Str., Mala
Danylivka, Dergachi district,
Kharkiv region, 62341

Email:

vsevolod_koshevoy@yahoo.com

Koshevoy, V. I., & Naumenko, S. V. (2020). The impact of oxidative stress in reducing the reproductive capacity of the boar-inseminators. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 5, 246-249. DOI:10.31890/vtpp.2020.05.43

Вивчення значення розвитку оксидативного стресу у зниженні репродуктивної здатності кнурів-плідників було метою даної роботи. Групи тварин було сформовано після проведення андрологічної диспансеризації і оцінки якості еякулятів: контрольна група самців складалася з клінічно здорових тварин, показники якості сперми яких відповідали чинним нормативам; дослідна група – клінічно здорові тварини, показники якості сперми яких були значно зниженими. У групах тварин визначали маркери оксидативного стресу: дієнові кон'югати, малоновий діальдегід та вміст стабільних метаболітів циклу оксиду нітрогену. Відбір проб сироватки крові проводили після отримання еякуляту для дослідження. У кнурів дослідної групи встановлено зниження репродуктивної здатності, що характеризувалося вірогідним зниженням об'єму еякуляту на 14,4 %, концентрації спермій на 10,5 %. Рухливість була значно зниженою порівняно з показниками самців контрольної групи – на 42,9 %. Відмічено зниження кількості рухливих спермій у еякуляті на 55,8 %. Вміст спермій із морфологічними аномаліями було підвищено майже на 21 %. У сироватці крові тварин було встановлено кількість маркерів оксидативного стресу. З отриманих даних видно, що у тварин дослідної групи відмічено наявність оксидативного стресу. Так, вміст дієнових кон'югатів було вірогідно підвищено на 19,2 % ($2,4 \pm 0,04$ мкмоль/л, $p < 0,001$), а малонового діальдегіду на 90,1 % ($0,78 \pm 0,04$ мкмоль/л, $p < 0,001$). Характерним було значне збільшення вмісту стабільних метаболітів циклу оксиду нітрогену на 88,3 % ($7,2 \pm 0,04$ мкмоль/л, $p < 0,001$). За результатами дослідження видно, що у кнурів-плідників зі зниженням репродуктивної здатності наявне вірогідне підвищення вмісту первинних продуктів пероксидації – дієнових кон'югатів і кінцевого продукту перекисного окиснення ліпідів – малонового діальдегіду, а також значне збільшення кількості стабільних метаболітів циклу оксиду нітрогену, що свідчить про розвиток оксидативного стресу у організмі плідників; за розвитку оксидативного стресу у кнурів-плідників спостерігається вірогідне зниження рухливості спермій і значне зменшення кількості рухливих спермій у еякуляті.

Ключові слова: кнур, репродуктивна здатність, сперма, оксидативний стрес, активні форми кисню, дієнові кон'югати, малоновий діальдегід, оксид нітрогену.

Значение оксидативного стресса в снижении репродуктивной способности хряков-производителей

В. И. Кошевой, С. В. Науменко

Харьковская государственная зооветеринарная академия, Харьков, Украина

Изучение значения развития оксидативного стресса в снижении репродуктивной способности хряков-производителей было целью данной работы. Группы животных были сформированы после проведения андрологической диспансеризации и оценки качества эякулятов: контрольная группа самцов состояла из клинически здоровых животных, показатели качества спермы которых соответствовали действующим нормативам; опытная группа – клинически здоровые животные, показатели качества спермы которых были значительно снижены. В

группах животных определяли маркеры оксидативного стресса: диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид и содержание стабильных метаболитов цикла оксида нитрогена. Отбор проб сыворотки крови проводили после получения эякулята для исследования. У хряков опытной группы установлено снижение репродуктивной способности, которое характеризовалось достоверным снижением объема эякулята на 14,4 %, концентрации спермиев на 10,5 %. Подвижность была значительно снижена в сравнении с показателями контрольной группы – на 42,9 %. Отмечено снижение количества подвижных спермиев в эякуляте на 55,8 %. Содержание спермиев с морфологическими аномалиями было повышено почти на 21 %. В сыворотке крови животных было установлено количество маркеров оксидативного стресса. Так, содержание диеновых конъюгатов было достоверно повышенным на 19,2 % ($2,4 \pm 0,04$ мкмоль/л, $p < 0,001$), а малонового диальдегида на 90,1 % ($0,78 \pm 0,04$ мкмоль/л, $p < 0,001$). Характерным было значительное увеличение содержания стабильных метаболитов цикла оксида нитрогена на 88,3 % ($7,2 \pm 0,04$ мкмоль/л, $p < 0,001$). Из результатов исследования видно, что у хряков-производителей со снижением репродуктивной способности установлено достоверное повышение содержания первичных продуктов пероксидации – диеновых конъюгатов и конечного продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида, а также значительное увеличение количества стабильных метаболитов цикла оксида нитрогена, что свидетельствует о развитии оксидативного стресса в организме самцов; при развитии оксидативного стресса у хряков-производителей наблюдается достоверное снижение подвижности спермиев и значительное уменьшение количества подвижных спермиев в эякуляте.

Ключевые слова: хряк, репродуктивная способность, сперма, оксидативный стресс, активные формы кислорода, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, оксид нитрогена.

The impact of oxidative stress in reducing the reproductive capacity of the boar-inseminators

V. I. Koshevoy, S. V. Naumenko

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

Boar-inseminators with a decrease of reproductive capacity had a significant increase of the content of primary products of peroxidation – diene conjugates (by 19,2%) and the final product – malondialdehyde (by 90,1%), as well as a significant increase in the number of stable metabolites of the cycle of nitric oxide (by 88,3%), which indicated the development of oxidative stress in animals.

Keywords: boar, reproductive capacity, sperm, oxidative stress, active forms of oxygen, diene conjugates, malondialdehyde, nitric oxide.

Introduction

The actuality of the problem. Reproductive capacity of a male depends on a variety of factors and is under the influence of many negative factors from the external and internal environment. As a rule, it is not capable of an adequate response to the full extent. The mechanisms of action of such influence are determined by the structural and functional organization of the reproductive system (Koshevoy et al., 2015). In recent years researchers have substantiated the role of active forms of oxygen (AFO) and nitrogen (AFN) in the functioning of the male reproductive system (Shekarriz, Thomas, & Agarwal, 1995; Sharma, Pasqualotto, Nelson, Thomas, & Agarwal, 1999; Hammadeh et al., 2006; Desai, Sharma, Makker, Sabanegh, & Agarwal, 2009; Ghareeb, & Sarhan, 2014; Bisht, Faiq, Tolahunase, & Dada, 2017; Barik, Chaturvedula, & Bobby, 2019). In the testes and sperm depending on concentration and other factors AFO and AFN can perform both physiological role and negative effect, causing oxidative stress (OS) accompanied by a decrease of the quality of sperm and its insemination ability (De Lamirande, & O'Flaherty, 2007; Aitken, 2016).

Analysis of recent research and publications. OS is a condition that occurs as a result of an imbalance between oxidative-regenerative processes under the influence of external or internal factors and leads to oxidative modification of molecules, in particular lipids, proteins and DNA (Agarwal, Mulgund, Sharma, & Sabanegh, 2014; Du Plessis, Agarwal, Halabi, & Tvrda, 2015). Lipid peroxidation (LPO) has a negative effect on the sperm quality of males (Agarwal, Makker, & Sharma, 2008; Chornozub, 2013; Pilane, Bopape, Mapeka, & Netshirovha, 2016). There is controversial data regarding the role of the nitric oxide (NO) cycle in the development of reduced reproductive capacity. It is known that high concentrations of NO exert significant cytotoxic properties and activate LPO in seminal plasma

(Doshi, Khullar, Sharma, & Agarwal, 2012). The reproductive capacity of boar-inseminators and the mechanisms of its decline, sperm quality and its biochemical features have been the subject of research by many scientists (Parrilla et al., 2012; Chornozub, 2013; Pilane, Bopape, Mapeka, & Netshirovha, 2016; Dzienkonska et al., 2017).

The purpose of the research was to study the impact of the development of oxidative stress in reducing the reproductive capacity of boar-inseminators.

The task of the research was to determine the content of major markers of oxidative stress – diene conjugates (DC), malon dialdehyde (MDA) and stable metabolites of nitric oxide cycle (NO_x) in blood serum of boar-inseminators with decreased reproductive capacity.

Material and research methods

The research was conducted on boar-inseminators (n=18) which belonged to the private farms. Groups of animals were formed after andrological examination and evaluation of the quality of ejaculates: control group of males (n=5) consisted of clinically healthy animals. The sperm quality indicators were in accordance with current standards; clinically healthy animals the sperm quality of which was significantly reduced belonged to the test group (n=5).

In animal groups markers of oxidative stress were identified: primary peroxidation products – DC, final product – MDA; the content of stable metabolites of the nitric oxide cycle. Serum sampling was performed when the ejaculate for the research had been obtained. Spectrophotometric methods were used to determine the concentrations of DC (Stal'naya, & Garnishvili, 1977), MDA (Fedorova, Korshunova, & Larskiy, 1983) and NO_x (Golikov, 2004). The results were statistically processed according to Student's t-test (Rebrova, 2003).

Results and Discussion

Animals with clinical condition abnormalities during andrological examination were not found. The studied ejaculates of boar inseminators had the following indicators: out of 18 estimated samples 10 samples met the current standards (56%), 6 ones did not fully meet all

evaluation criteria (33%), and 2 samples had increased sperm count with morphological anomalies, however they did not deviate from other indicators.

According to the obtained results, we formed groups of animals that differed in sperm quality. The research data is given in table 1.

Table 1

Evaluation of sperm quality of boar-inseminators, (M±m, n=5)

| Indicator | Groups of animals | |
|--|-------------------|--------------|
| | control | test |
| Ejaculate volume, ml | 203,2±3,9 | 173,9±2,0** |
| Sperm concentration, billion / ml | 0,19±0,002 | 0,17±0,0032* |
| Mobility, points | 8,4±0,245 | 4,8±0,374** |
| Number of motile sperm in ejaculate, billion | 32,0±0,874 | 14,1±1,134** |
| Sperm with morphological anomalies,% | 16,2±0,663 | 19,6±0,678* |

Notes: * – p<0,01; ** – p<0,001 – compared to the indicators of the control group.

The boars of the test group had a decrease in reproductive capacity, which was characterized by a possible decrease in ejaculate volume by 14,4%, and sperm concentration by 10,5%. Mobility was significantly reduced compared to the male control group by 42,9%. Accordingly, the number of motile sperm in the ejaculate

was reduced by 55,8%. The content of sperm with morphological anomalies was increased by almost 21%.

The number of oxidative stress markers was established in the blood serum of animals. The obtained results are shown in fig. 1.

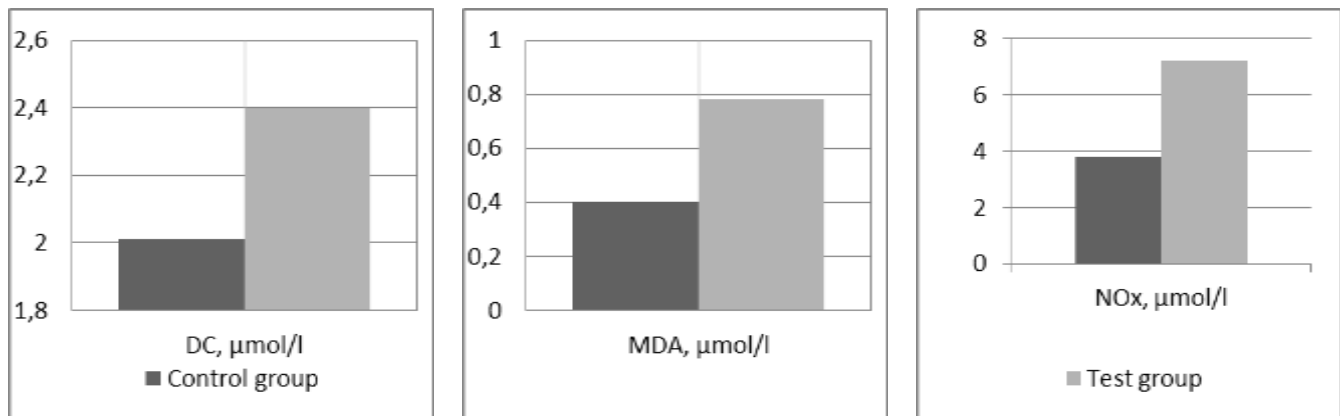


Fig. 1. The content of oxidative stress markers in the blood serum of boar-inseminators

According to the obtained data, the animals of the test group underwent oxidative stress. Thus, the content of primary products of peroxidation – diene conjugates (DC) was significantly increased by 19,2 % (2,4±0,04 µmol/l, p<0,001), and the final product of LPO – malon dialdehyde (MDA) by 90,1 % (0,78±0,04 µmol/l, p<0,001). There was a significant increase of the stable metabolites content of the nitric oxide cycle (NO_x) by 88,3% (7,2±0,04 µmol/l, p<0,001).

According to the results of research it was determined that the main reason of the decrease of the reproductive capacity of boar-inseminators was the deterioration of sperm quality, in particular the sperm motility indicator and a significant decrease of the number of motile sperm in the ejaculate, which was a consequence of increased production of AFC and AFA that was proved by the accumulation of oxidative stress markers in the blood serum of males.

Conclusion

According to the obtained results we can conclude the following:

1. Boar-inseminators with a decrease of reproductive capacity had a significant increase of the content of primary products of peroxidation – diene conjugates (by 19,2 %) and the final product of LPO – malon dialdehyde (by 90,1 %), as well as a significant increase in the number of stable metabolites of the cycle of

nitric oxide (by 88,3 %), which indicated the development of oxidative stress in animals.

2. Due to the development of oxidative stress boar-inseminators had a significant decrease of sperm motility (by 42,9 %) and a significant decrease in the number of motile sperm in the ejaculate (by 55,8 %).

Prospects for further research. The authors of the article are interested in the study of the state of antioxidant protection, hormonal background in boar-inseminators with reduced reproductive capacity due to oxidative stress and the development of modern methods of its correction.

References

- Agarwal, A., Makker, K., & Sharma, R. (2008). Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 59(1), 2–11. DOI: [10.1111/j.1600-0897.2007.00559.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2007.00559.x)
- Agarwal, A., Mulgund, A., Sharma, R., & Sabanegh, E. (2014). Mechanisms of oligozoospermia: an oxidative stress perspective. *Syst. Biol. Reprod. Med.*, 60(4), 206–216. DOI: [10.3109/19396368.2014.918675](https://doi.org/10.3109/19396368.2014.918675)
- Aitken, R. J. (2016). Oxidative stress and the etiology of male infertility. *J Assist Reprod Genet*, 33, 1691–1692. DOI: [10.1007/s10815-016-0791-4](https://doi.org/10.1007/s10815-016-0791-4)
- Barik, G., Chaturvedula, L., & Bobby, Z. (2019) Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility: An interventional study. *J Hum ReprodSci*, 12, 204–209. DOI: [10.4103/jhrs.JHRS_135_18](https://doi.org/10.4103/jhrs.JHRS_135_18)

- Bisht, S., Faiq, M., Tolahunase, M., & Dada, R. (2017). Oxidative stress and male infertility. *Nat Rev Urol*, 14, 470–485. DOI:[10.1038/nrurol.2017.69](https://doi.org/10.1038/nrurol.2017.69)
- Chornozub, T. V. (2013). Vplyv stanu antyoksydantnoi systemy na yakist spermy knuriv-plidnykiv ta yoho korektsiia: avtoreferat. *Sumskiy natsionalnyi ahrarniy universytet*, 18 p. [in Ukrainian].
- De Lamirande, E., & O'Flaherty, C. (2007). Sperm activation: Role of reactive oxygen species and kinases. *Biochimica et biophysica acta*, 1784, 106–115. DOI:[10.1016/j.bbapap.2007.08.024](https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2007.08.024)
- Desai, N., Sharma, R., Makker, K., Sabanegh, E. & Agarwal, A. (2009). Physiologic and pathologic levels of reactive oxygen species in neat semen of infertile men. *FertilSteril.*, 92 (5), 1626–1631. DOI:[10.1016/j.fertnstert.2008.08.109](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.08.109)
- Doshi, S. B., Khullar, K., Sharma, R. K., & Agarwal, A. (2012). Role of reactive nitrogen species in male infertility. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 10, 109–120. DOI:[10.1186/1477-7827-10-109](https://doi.org/10.1186/1477-7827-10-109)
- Du Plessis, S. S., Agarwal, A., Halabi, J., & Tvrda, E. (2015). Contemporary evidence on the physiological role of reactive oxygen species in human sperm function. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 32 (4), 509–520. DOI:[10.1007/s10815-014-0425-7](https://doi.org/10.1007/s10815-014-0425-7)
- Dziekonska, A., Swiader, K., Koziorov, M., Mietelska, K., Zasiadczyk, Ł., & Kordan, W. (2017). Effect of boar ejaculate fraction, extender type and time of storage on quality of spermatozoa. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 20, 1, 77–84. DOI:[10.1515/pjvs-2017-0011](https://doi.org/10.1515/pjvs-2017-0011)
- Fedorova, T. N., Korshunova, T. S. & Larskiy, E. G. (1983). Reaktsii s tiobarbiturovoy kislotoy dlya opredeleniya malonovogo dial'degida krovi metodom flyuorimetrii. *Laboratornoedelo*, 3, 25–28. [in Russian].
- Ghareeb, D. A., & Sarhan, E. M. E. (2014). Role of oxidative stress in male fertility and idiopathic infertility: causes and treatment. *J Diagn Tech Biomed Anal*, 2, 1 DOI:[10.4172/2469-5653.1000107](https://doi.org/10.4172/2469-5653.1000107)
- Golikov, P. P. (2004). *Oksidazota v klinikenootlozhnyh zabolevaniy*. Moskva, 180 p. [in Russian].
- Hammadeh, M. E., Radwan, M., Al-Hasani, S., Micu, R., Rosenbaum, P., Lorenz, M., & Schmidt, W. (2006). Comparison of reactive oxygen species concentration in seminal plasma and semen parameters in partners of pregnant and non-pregnant patients after IVF/ICSI. *Reprod. Biomed. Online*, 13 (5), 696–706. DOI:[10.1016/S1472-6483\(10\)60661-X](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60661-X)
- Koshevoi, V. P., Naumenko, S. V., Koshevoi, V. I., Maliukin, Yu. V., Klochkov, V. K., & Kavok, N. S. (2015). Kompiuterniy monitorynhpokaznykivstrukturno-funktsionalnohostanuorhanivreproduktyvnoisystemy u samtsiv pry defitsytikarotynu (vitaminu A) ta tsynku, *Problemyzooinzhenierii ta veterynarnoimedytyny*, 31 (2), 61-71. [in Ukrainian]
- Parrilla, I., delOlmo, D., Sijes, L. et al. (2012) Differences in the ability of spermatozoa from individual boar ejaculates to withstand different semen-processing techniques. *Animal Reproduction Science*, 132 (1–2), 66–73. DOI:[10.1016/j.anireprosci.2012.04.003](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.04.003)
- Pilane, C., Bopape, A., Mapeka, H., & Netshirovha, R. (2016). Assesment of the Susceptibility of boar semen to Oxidative Stress. *Open Journal of Animal Sciences*, 6, 123–130. DOI:[10.4236/ojas.2016.62015](https://doi.org/10.4236/ojas.2016.62015)
- Rebrova, O. Yu. (2003). *Statisticheskyy analiz meditsinskikh dannykh (primenenie paketa prikladnykh program STATISTICA)*. Moskva, 312 p. [in Russian].
- Sharma, R. K., Pasqualotto, F. F., Nelson, D. R., Thomas, Jr A. J., & Agarwal, A. (1999). The reactive oxygen species-total antioxidant capacity score is a new measure of oxidative stress to predict male infertility. *Hum. Reprod.*, 14 (11), 2801–2807. DOI:[10.1093/humrep/14.11.2801](https://doi.org/10.1093/humrep/14.11.2801)
- Shekarri, M., Thomas, Jr A.J. & Agarwal, A. (1995). Incidence and level of seminal reactive oxygen species in normal men. *Urology*, 45 (1), 103–107. DOI:[10.1016/S0090-4295\(95\)97088-6](https://doi.org/10.1016/S0090-4295(95)97088-6)
- Stal'naya, N. O., & Garnishvili, T. G. (1977). *Sovremennyye metody v biokhimi*. Moskva, pp. 66–68. [in Russian].