

## ДІЯ МОНО- І ПОЛІКОМПОНЕНТНИХ РОЗРІДЖУВАЧІВ СПЕРМИ НА ГОМЕОСТАЗ $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{K}^+$ , $\text{Na}^+$ ВІДКРИТИХ СИСТЕМ

Г. Максимюк, З. Воробець, Л. Лаповець, О. Першин

*Львівський національний медичний університет імені Д. Галицького  
вул. Пекарська, 69, Львів 79010, Україна  
e-mail: hanna.maksymjuk@gmail.com*

У відкритих системах типу «середовище-клітина» на етапах технології кріоконсервації сперми (ТКС) необлицьованими гранулами за показниками концентрації та відношень іонів лужних металів вивчали особливості змін їх гомеостазу. Виявили, що ТКС, а саме фізичні та хімічні властивості різних кріопротекторів і полікомпонентних захисних середовищ неоднаково впливають на транспорт макроелементів у спермі. Адаптивна реакція сперматозоїдів нерозрідженої та розрідженої сперми представлена симпортним і антипортним способами руху іонів. Після розрідження, еквілібрації та деконсервації сперми зміни гомеостазу іонів виражені різними абсолютними і відносними показниками концентрації, вмісту та їх відношень.

*Ключові слова:* нативна і кріоконсервована сперма, сперматозоїди, розріджувачі сперми, концентрація, відношення, переміщення і гомеостаз  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ .

Потоком інформації про функціональний стан ізольованих та неізольованих клітин організму живих істот керує градієнт концентрації іонів неорганічних і органічних сполук, який ініціює перебіг їх адаптивної реакції на дію екзо- і ендогенних чинників, корегує процес перетворення одного виду акумульованої енергії в інший, забезпечує постачання поживних речовин у клітини й органи [6, 8–11].

Оскільки наведені ознаки діяльності біофізичних і біохімічних процесів характеризують стан життєво важливих функцій сперматозоїдів, то вважаємо, що відомі на сьогодні базові моделі, які з тих чи інших позицій пояснюють механізм захисної дії кріопротекторів і розріджувачів сперми на функціональну повноцінність клітин, слід доповнити деталізованими знаннями особливостей змін концентрації ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ) та відношень одно- ( $\text{Na}^+:\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+:\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}:\text{Ca}^{2+}$ ) і різноіменних ( $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+:\text{K}^+$ ) пар іонів у відокремлених від організму людини (чоловік) або тварин (плідник, самець), відкритих системах, а саме: свіжоотриманій, розрідженій, еквіліброваній і розмороженій спермі [2–5].

Мета виконаної роботи спрямована на вивчення трансмембранних змін рівноважного стану іонів солей лужних металів у сперматозоїдах за впровадженої у практику технології кріоконсервації сперми в необлицьованих (відкритих) гранулах.

### Матеріали та методи

Для досліджень брали свіжоотримані дуплетні еякуляти клінічно здорових, статевозрілих бугаїв чорно-рябої породи. Два рази на тиждень, з інтервалом 1–2 доби, сперму отримували на штучну вагіну. Рухливість сперматозоїдів в еякулятах була більше 6 балів; концентрація – в межах 0,7–1,8 млрд клітин/см<sup>3</sup>.

Як контроль використовували проби свіжоотриманої нерозрідженої та розрідженої сперми. Деконсервацію гранул нерозрідженої сперми (НС) здійснювали в 2,8%-ному розчині натрію цитрату (НЦ) і без нього (БНЦ). Захисне середовище дослідного (ЗС<sub>д</sub>) розріджувача містило (в 100 мл): 9,0 г лактози, 3,0 см<sup>3</sup> гліцерину, 15 см<sup>3</sup> жовтка курячого

яйця, 6,0 см<sup>3</sup> гепарину і контрольного (ЗС<sub>к</sub>) розріджувача – 11,5 г лактози, 5,0 см<sup>3</sup> гліцерину, 20,0 см<sup>3</sup> жовтка курячого яйця.

Відібрані проби сперми у відношенні 1:1 за 37°C розріджували водними розчинами кріопротекторів (ВРК) [9,0% розчин лактози, 3,0% розчин гліцерину, 3,0% розчин альбуміну сироватки крові бугая (АСКБ), 5,0% розчин диметилсульфоксиду (ДМСО), 6,0% розчин гепарину, 15% емульсія жовтка] оптимальної концентрації та захисними середовищами (ЗС<sub>к</sub> – контроль, ЗС<sub>д</sub> – дослід). Розріджену сперму витримували 4 год у холодильнику за 3–5°C. Після еквілібрації сперму заморожували у формі гранул об'ємом 0,1 см<sup>3</sup> на фторопластовій пластині у парах рідкого азоту. Заморожені гранули зберігали в посудинах Дюара 7–14 діб за -196°C. Розморозували гранули у скляних флаконах за 37°C у водяній бані. У флакони наливали 1,0 см<sup>3</sup> 2,8%-ного натрію цитрату і вносили заморожені гранули. Процес деконсервації гранул вважали закінченим після зникнення кристалів льоду.

Зміни гомеостазу іонів у системі «середовище-клітина» оцінювали за показниками концентрації (мМ) та відношень Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> у середовищах, сперматозоїдах і між ними [6]. Числові вирази (ч.в.) відношень концентрації різноіменних пар (Na<sup>+</sup>:Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>:Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>:K<sup>+</sup>) іонів у середовищах, сперматозоїдах і між ними обчислювали діленням показників високої концентрації Na<sup>+</sup> і K<sup>+</sup> на низьку Ca<sup>2+</sup> та високої Na<sup>+</sup> на низьку K<sup>+</sup>; відношень одноіменних пар (Na<sup>+</sup>:Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>:K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>:Ca<sup>2+</sup>) між середовищами і сперматозоїдами – високої концентрації Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> середовища на низьку сперматозоїдів. Показники відношень різно- та одноіменних пар виразили цілими числами. Інтервал їх змін, залежно від впливу етапів ТКС, зареєстрували у проміжку 1...100:1.

Оцінювання особливостей переміщень іонів у системі «середовище-клітина» наводимо визначеними змінами абсолютних і відносних середніх показників концентрації й відношень Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> за дії різних ВРК та за дії ЗС<sub>д</sub> і ЗС<sub>к</sub>.

Результати досліджень представлені середньоарифметичною величиною (М) показників (n=3) змін концентрації та відношень іонів солей лужних металів у середовищах і сперматозоїдах свіжоотриманої нерозрідженої (x<sub>1</sub>), розрідженої (x<sub>2</sub>) еквіліброваної (x<sub>3</sub>) і деконсервованої сперми (x<sub>4</sub>). Абсолютні зміни концентрації іонів визначали за допомогою таких арифметичних дій: після розрідження (x<sub>2</sub> – x<sub>1</sub>), еквілібрації (x<sub>3</sub> – x<sub>2</sub>), деконсервації (x<sub>4</sub> – x<sub>3</sub>) та усіх етапів ТКС (x<sub>4</sub> – x<sub>1</sub>). Відносні зміни вмісту іонів: після розрідження ((x<sub>2</sub> – x<sub>1</sub>)•100%): x<sub>1</sub>, еквілібрації ((x<sub>3</sub> – x<sub>2</sub>)•100%): x<sub>2</sub>, деконсервації ((x<sub>4</sub> – x<sub>3</sub>)•100%): x<sub>3</sub> та усіх етапів ТКС ((x<sub>4</sub> – x<sub>1</sub>)•100%): x<sub>1</sub>. Знаки вектора руху іонів: в клітини – (+); з клітин – (–).

### Результати і їхнє обговорення

Проведені дослідження свідчать, що впроваджені в практичну роботу кріобіологічних і біотехнологічних лабораторій вимоги до ТКС у формі необлицьованих гранул та визначені й апробовані нами оптимальні параметри концентрації різних ВРК і полікомпонентних ЗС (дослід, контроль) зумовлюють неоднакові способи (симпорт, антипорт) переміщення іонів солей лужних металів у системі «середовище-клітина». Вони також є причиною появи різних кількісних (абсолютні, відносні) змін концентрації й відношень Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> у сперматозоїдах (табл. 1–3).

Наслідком впливу еквілібрації сперми є те, що після чотиригодинного витримання проб НС за 37°C концентрація Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> у клітинах стає меншою; в середовищах – більшою (табл. 1). Вказану особливість слід уточнити тим, що характерною ознакою впливу кінцевого етапу ТКС є неоднакова «реакція-відповідь» сперматозоїдів на особливості деконсервації. Якщо гранули розморозувати в розчині без натрію цитрату, тоді Ca<sup>2+</sup> (1,50...2,05 мМ), K<sup>+</sup> (8,82...9,58 мМ), Na<sup>+</sup> (15,89...22,26 мМ) симпортичним способом переміщуються зі середовища у сперматозоїди. Але якщо їх розморозувати в розчині на-

трію цитрату, тоді позаклітинний  $\text{Na}^+$  (15,89...30,94 мМ) переміщується у сперматозоїди. В системі «середовище-сперматозоїди» відбувається антипортний вхід  $\text{Na}^+$  у клітини щодо виходу з них  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{K}^+$ . Отже, за деконсервації гранул, переміщений у клітини  $\text{Na}^+$  витісняє з них  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{K}^+$ , або точніше: – ініційоване підвищенням концентрації на 15,05 мМ антипортне переміщення  $\text{Na}^+$  знижує концентрацію  $\text{Ca}^{2+}$  у сперматозоїдах з 1,50 до 0,73;  $\text{K}^+$  – з 8,82 до 3,45 мМ.

Таблиця 1

Концентрація іонів у середовищах і сперматозоїдах свіжоотриманої та кріоконсервованої сперми, мМ

Умови досліджу	Об'єкти і етапи досліджень							
	середовища				сперматозоїди			
	1	2	3	4	1	2	3	4
	$\text{Ca}^{2+}$							
БНЦ	8,40	8,40	8,61	8,19	1,56	1,56	1,50	2,05
НЦ	8,40	8,40	8,61	9,64	1,56	1,56	1,50	0,73
ВРК	7,01	7,91	7,99	8,67	1,70	1,14	1,00	0,52
ЗСк	6,07	10,46	10,78	11,80	1,91	2,34	2,17	1,02
ЗСд	6,04	9,15	9,46	10,80	1,89	2,10	1,99	0,87
	$\text{K}^+$							
БНЦ	13,92	13,92	13,67	14,21	8,92	8,92	8,82	9,58
НЦ	13,92	13,92	13,67	18,91	8,92	8,92	8,82	3,45
ВРК	20,91	24,16	24,66	27,37	8,23	5,09	4,63	2,07
ЗСк	15,44	20,69	19,83	24,29	6,90	5,42	5,30	2,07
ЗСд	14,85	18,95	19,50	23,85	6,79	5,33	5,19	1,52
	$\text{Na}^+$							
БНЦ	63,61	63,61	64,00	58,31	16,30	16,30	15,89	22,26
НЦ	63,61	63,61	64,00	49,38	16,30	16,30	15,89	30,94
ВРК	69,24	48,50	78,98	51,94	17,58	10,22	9,75	37,80
ЗСк	70,55	84,55	85,18	63,69	22,52	14,80	14,47	36,74
ЗСд	65,50	79,98	79,52	11,80	21,77	14,73	14,48	36,05

**Примітка.** 1 – концентрація іонів у середовищах і сперматозоїдах свіжоотриманої; 2 – розрідженої, 3 – еквіліброваної; 4 – деконсервованої сперми. НЦ – свіжоотримана нерозріджена сперма (гранули деконсервовані без цитрату), БНЦ – свіжоотримана нерозріджена сперма (гранули деконсервовані у цитраті), ВРК – водні розчини кріопротекторів оптимальної концентрації. ЗС<sub>к</sub> – захисне середовище, контроль, ЗС<sub>д</sub> – захисне середовище, дослід.

На етапах розрідження й еквілібрації сперми ВРК оптимальної концентрації відбувається симпортний вихід  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  зі сперматозоїдів у середовище. Концентрація  $\text{Ca}^{2+}$  у клітинах знижується від 1,70 до 1,00,  $\text{K}^+$  – від 8,23 до 4,63,  $\text{Na}^+$  – від 17,58 до 9,75 мМ. Після деконсервації гранул у цитраті антипортне переміщення  $\text{Na}^+$  щодо  $\text{K}^+$  і  $\text{Ca}^{2+}$  витісняє з клітин 70–85% відсотків їх початкового вмісту. За цих умов антипортне переміщення іонів змінює концентрацію  $\text{Na}^+$  із 17,58 до 37,80,  $\text{Ca}^{2+}$  – із 1,70 до 0,52,  $\text{K}^+$  – із 8,23 до 2,07 мМ. Отже, збільшення удвічі концентрації  $\text{Na}^+$  у сперматозоїдах після деконсервації гранул пов'язане зі зменшенням концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{K}^+$ , відповідно, в 3 і 4 рази до її початкового рівня в клітинах свіжоотриманої сперми.

Зміна концентрації іонів солей лужних металів на етапах кріоконсервації сперми розрідженої полікомпонентним ЗС<sub>к</sub> дещо інша, ніж розрідженої різними ВРК. Після розрідження сперми концентрація  $\text{Ca}^{2+}$  у клітинах стає більшою на 0,43, а  $\text{K}^+$  і  $\text{Na}^+$ , відповідно, меншою на 1,48 і 7,72 мМ. Отже, на даному етапі ТКС відбувається процес антипортного входу  $\text{Ca}^{2+}$  у клітини щодо виходу з них  $\text{K}^+$  і  $\text{Na}^+$ . Після етапу еквілібрації сперми гомеостаз іонів не зазнає суттєвих змін. Однак після деконсервації гранул концентрація  $\text{Ca}^{2+}$  знижується з 2,17 до 1,02 мМ і  $\text{K}^+$  – з 5,30 до 2,07 мМ, що, відповідно, в 2,1 і 2,6 рази менше, ніж

у сперматозоїдах еквіліброваної сперми. Це призводить до того, що 39% переміщеного  $\text{Na}^+$  зі середовища у сперматозоїди витісняє з них 39% вмісту  $\text{K}^+$  і 47% –  $\text{Ca}^{2+}$ .

Виявлене в  $\text{ЗС}_k$  антипортне переміщення іонів між сперматозоїдами і середовищем ідентичне до  $\text{ЗС}_d$ . Однак при підвищенні у 2,5 разу концентрації  $\text{Na}^+$  (14,48...36,05 мМ) відбувається зниження концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  (1,99...0,87 мМ) у 2,3, а  $\text{K}^+$  (5,19...1,52 мМ) – у 3,4 разу в сперматозоїдах деконсервованих гранул. Зіставлення показників абсолютних і відносних змін гомеостазу іонів вказує на те, що вплив суми оптимальних концентрацій складових  $\text{ЗС}_d$  на інтенсивність обміну  $\text{K}^+$  у системі «середовище-клітина» вищий, ніж у  $\text{ЗС}_k$ ;  $\text{Na}^+$  – менший, ніж  $\text{K}^+$ , а  $\text{Ca}^{2+}$  – менший, ніж  $\text{Na}^+$ .

Особливості реакції статевих клітин на дію екзогенних чинників доповнюють зміни абсолютних (мМ) показників концентрації та відносних (%) вмісту  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  у сперматозоїдах (табл. 2). Динаміка концентрації іонів солей лужних металів свідчить, що чотиригодинне витримання проб нерозрідженої сперми за 37°C несуттєво змінює сформований секреторними клітинами тканин органів відтворення бугая її початковий рівень у сперматозоїдах. Визначені зміни концентрації  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  у клітинах не виходять за межу 0,1...0,4 мМ. Але їхня реакція на дію умов деконсервації гранул у розчині цитрату і без нього – різна.

Таблиця 2

Концентрація макроелементів і її абсолютні та відносні зміни у сперматозоїдах

Умови досліджу	I. Концентрація іонів у сперматозоїдах, мМ											
	$\text{Ca}^{2+}$				$\text{K}^+$				$\text{Na}^+$			
	$x_1$	$x_2$	$x_3$	$x_4$	$x_1$	$x_2$	$x_3$	$x_4$	$x_1$	$x_2$	$x_3$	$x_4$
НЦ	1,56	1,56	1,50	2,05	8,92	8,92	8,82	9,58	16,30	16,30	15,89	22,26
БНЦ	1,56	1,56	1,50	0,73	8,92	8,92	8,82	3,45	16,30	16,30	15,89	30,94
ВРК	1,70	1,14	1,00	0,52	8,23	5,09	4,63	2,07	17,58	10,22	9,75	37,80
$\text{ЗС}_d$	1,91	2,34	2,17	1,02	6,90	5,42	5,30	2,07	22,52	14,80	14,47	36,74
$\text{ЗС}_k$	1,89	2,10	1,99	0,87	6,79	5,33	5,19	1,52	21,77	14,73	14,48	36,05
Умови досліджу	II. Абсолютні зміни концентрації іонів, мМ											
	1	2	3	4	1	2	3	4	1*	2*	3*	4*
НЦ	0,00	-0,06	+0,55	+0,49	0,00	-0,10	+0,76	+0,66	0,00	-0,41	+6,37	+5,96
БНЦ	0,00	-0,06	-0,77	-0,83	0,00	-0,10	-5,37	-5,47	0,00	-0,41	+15,05	+14,64
ВРК	-0,56	-0,14	-0,48	-1,18	-3,14	-0,46	-2,56	-6,16	-7,36	-0,47	+28,05	+20,22
$\text{ЗС}_d$	+0,43	-0,17	-1,15	-0,89	-1,48	-0,12	-3,23	-4,83	-7,72	-0,33	+22,27	+14,22
$\text{ЗС}_k$	+0,21	-0,11	-1,12	-1,02	-1,46	-0,14	-3,67	-5,27	-7,04	-0,25	+21,57	+14,28
Умови досліджу	III. Відносні зміни концентрації іонів, %											
	1	2	3	4	1	2	3	4	1**	2**	3**	4**
НЦ	0,00	-3,85	+36,67	+31,41	0,00	-1,12	+8,62	+7,40	0,00	-2,52	+40,09	+36,56
БНЦ	0,00	-3,85	-51,33	-53,21	0,00	-1,12	-60,88	-61,32	0,00	-2,52	+94,71	+89,81
ВРК	-32,94	-12,28	-48,00	-69,41	-38,15	-9,04	-55,29	-74,85	-41,87	-4,60	+287,69	+115,02
$\text{ЗС}_d$	+22,51	-7,26	-52,99	-46,60	-21,45	-2,21	-60,94	-70,00	-34,28	-2,23	+153,90	+63,14
$\text{ЗС}_k$	+11,11	-5,24	-56,28	-53,97	-21,50	-2,63	-70,71	-77,61	-32,34	-1,70	+148,96	+65,59

**Примітка.** Концентрація іонів у сперматозоїдах свіжоотриманої ( $x_1$ ), розрідженої ( $x_2$ ), еквіліброваної ( $x_3$ ), деконсервованої ( $x_4$ ) сперми.

Деконсервація сперми без цитрату призводить до того, що абсолютні зміни концентрації  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  сперматозоїдів розморожених гранул більші на 0,55, 0,76, 6,37 мМ, відповідно, ніж за еквілібрації сперми. Після деконсервації гранул у цитраті цей показник для  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{K}^+$  менший, відповідно, на 0,77, 5,37, а  $\text{Na}^+$  – більший на 15,05 мМ. Отже, виявлені зміни свідчать, що незахищені криопротекторами сперматозоїди по-різному реагують на дію неоднакових умов етапу ТКС. Якщо деконсервацію проводити без цитрату, то відбувається симпортний рух  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  із середовища у сперматозоїди. Однак, якщо гранули НС розморожувати в цитраті, тоді у системі «середовище-клітина» відбувається антипортний рух  $\text{Na}^+$  у клітини, який витісняє із сперматозоїдів  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{K}^+$ .

Визначені у сперматозоїдах абсолютні зміни концентрації  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  (після розрідження сперми різними ВРК) концентрація стає меншою, відповідно, на 0,56, 3,14, 7,36; після еквілібрації – на 0,14, 0,46, 0,47 мМ) вказують на те, що інтенсивність їх «реакції-відповіді» (симпортний вихід іонів з клітин) у 4, 7, 16 разів менша. Отже, на етапі деконсервації гранул абсолютні зміни концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{K}^+$  в 1,2 разу менші, ніж після розрідження;  $\text{Na}^+$  – в 3,8 разу більші. За увесь процес ТКС концентрація  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{K}^+$  зменшується в 2;  $\text{Na}^+$  – в 3 рази.

Показники абсолютних змін концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  у сперматозоїдах після розрідження сперми  $\text{ЗС}_k$  стають на 0,4...0,2 мМ більшими, ніж після розрідження сперми  $\text{ЗС}_d$ . Але  $\text{K}^+$  і  $\text{Na}^+$  – на 2 і 8...7 мМ меншими. Після чотиригодинного етапу інкубування розрідженої сперми за 37°C концентрація  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  у клітинах зменшується. Визначений за цих умов ліміт змін концентрації іонів становить 0,1...0,3 мМ. Проте, якщо після деконсервації гранул у натрію цитраті за цієї ж температури концентрація  $\text{Ca}^{2+}$  стає меншою на 1,2...1,1, а  $\text{K}^+$  – на 3...4, то  $\text{Na}^+$  – збільшується на 22 мМ. Отже, зміни, що відбуваються в системі «клітина-середовище» після розрідження сперми  $\text{ЗС}_k$ , у 3, 12 і 23 разів більші, ніж після еквілібрації. Наведену особливість відображає ряд, у якому зміни концентрації  $\text{Ca}^{2+} < \text{K}^+ < \text{Na}^+$ . Однак після деконсервації гранул їх концентрація у сперматозоїдах, відповідно, в 7, 27 і 67 разів стає більшою, ніж після еквілібрації розрідженої сперми.

Для абсолютних параметрів концентрації, які визначені після розрідження сперми  $\text{ЗС}_d$ , характерний аналогічний ряд її змін, а саме: концентрація  $\text{Ca}^{2+} < \text{K}^+ < \text{Na}^+$ . Це означає, що визначені показники вказують на дольову участь іонів у процесах, дія яких спрямована на вирівнювання (відновлення, адаптацію до нових умов) їх порушеного гомеостазу в системі «середовище-клітина». Однак, реакція сперматозоїдів за дії  $\text{ЗС}_k$  дещо інша. Якщо після розрідження сперми  $\text{ЗС}_d$  ряд змін концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  в 3 проти 2,  $\text{K}^+$  – у 12 проти 10 разів менший, то  $\text{Na}^+$  – у 23 проти 28 разів більший, ніж після еквілібрації. Зміни концентрації  $\text{Ca}^{2+}$ , що відбуваються після деконсервації гранул, у 7 проти 10 разів більші, ніж після еквілібрації;  $\text{K}^+$  – майже однакові (27 проти 26 разів);  $\text{Na}^+$  – у 67 проти 86 разів менші.

Параметри абсолютних змін концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{K}^+$ , що відбуваються за увесь процес ТКС, у  $\text{ЗС}_d$  – більші;  $\text{Na}^+$  – майже однакові зі змінами після розрідження сперми  $\text{ЗС}_k$ . Зміни концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  після деконсервації гранул розрідженої сперми у  $\text{ЗС}_d$  – дещо більші;  $\text{K}^+$  – менші;  $\text{Na}^+$  – більші, ніж у  $\text{ЗС}_k$ . Отже, зміна параметрів оптимальної концентрації кріопротекторів і додаткове введення до складу  $\text{ЗС}$  гепарину знижують (гальмують) на етапі розрідження сперми інтенсивність перебігу процесів трансмембранного обміну  $\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{K}^+$  і збільшують (стимулюють) –  $\text{Na}^+$ . Після деконсервації гранул, замороженої сперми в  $\text{ЗС}_d$  активуються процеси транспорту  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{Na}^+$ , але знижуються  $\text{K}^+$ .

Якщо незахищену кріопротекторами сперму 4 год витримувати за 37°C, то у плазму симпортним способом з клітин переміщається 1...4% вмісту  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ . Вектор руху іонів у системі «середовище-клітина» змінює безцитратна деконсервація гранул, заморожених до -196°C. За цих вимог симпортне переміщення іонів спрямоване із плазми у сперматозоїди. Відносні зміни характеризує встановлений ряд іонів, у якому параметри переміщеного вмісту  $\text{K}^+ < \text{Ca}^{2+} \leq \text{Na}^+$ , що, відповідно, становить 9, 37, 40%. Якщо деконсервацію заморожених гранул нерозрідженої сперми проводити в цитраті, то реакція сперматозоїдів на вплив температури (37°C) і концентрації розчину – інша. Надлишок  $\text{Na}^+$  з цитрату антипортним способом переміщається в клітини (95%) і витісняє з них  $\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{K}^+$ . За цих обставин величину виявлених змін характеризує ряд іонів, показник переміщеного вмісту яких, відповідно, становить 51 і 61% їх вмісту. Отже, в системі «середовище-клітина» вектор їх руху – різноспрямований, а відсоток переміщеного вмісту  $\text{Ca}^{2+} < \text{K}^+ < \text{Na}^+$ .



Дія різних ВРК на трансмембранне переміщення іонів після розрідження сперми виражена симпортним рухом  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  зі сперматозоїдів у середовище. Відносні зміни переміщеного вмісту становлять 33, 38, 42% і виражені рядом, у якому показники  $\text{Ca}^{2+} < \text{K}^+ \leq \text{Na}^+$ . На етапі еквілібрації розрідженої сперми інтенсивність руху іонів знижується, відповідно, в 3, 4, 8 разів, а зміни характеризує ряд, у якому відсоток переміщеного вмісту  $\text{Ca}^{2+} > \text{K}^+ > \text{Na}^+$  (відповідно 12, 9, 5%). Після деконсервації гранул у цитраті відбувається антипортний рух  $\text{Na}^+$  (288%) в клітини щодо  $\text{K}^+$  (55%) і  $\text{Ca}^{2+}$  (48%) – з них. Відносні зміни вмісту іонів у сперматозоїдах суттєво зростають щодо етапу еквілібрації сперми, а саме:  $\text{Na}^+$  – в 58,  $\text{K}^+$  – в 6,  $\text{Ca}^{2+}$  – в 4 рази. Тобто виявлені зміни виражені рядом, у якому відсоток переміщеного вмісту  $\text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Ca}^{2+}$ .

Дія полікомпонентних  $\text{ЗС}_\text{к}$  і  $\text{ЗС}_\text{д}$  на трансмембранний рух іонів після розрідження сперми виражена антипортним переміщенням у клітини неоднакового вмісту  $\text{Ca}^{2+}$  (22 і 11%) щодо виходу з них  $\text{K}^+$  (21%) і  $\text{Na}^+$  (34 і 32%). З цього приводу слід зазначити, що частина переміщеної кількості  $\text{K}^+$  в дослідному і контрольному  $\text{ЗС}$  відповідно менша і однакова,  $\text{Na}^+$  – більша і однакова;  $\text{Ca}^{2+}$  в  $\text{ЗС}_\text{к}$  – у 2 рази більша, ніж у  $\text{ЗС}_\text{д}$ . За 4 год еквілібрації розрідженої сперми зі сперматозоїдів у  $\text{ЗС}$  симпортним способом переміщається лише 2...3% вмісту  $\text{K}^+$  і  $\text{Na}^+$ , але  $\text{Ca}^{2+}$  – 5...19%. Деконсервація гранул, замороженої сперми у  $\text{ЗС}_\text{к}$  і  $\text{ЗС}_\text{д}$ , призводить до того, що із цитрату в сперматозоїди переміщається 154...149% вмісту  $\text{Na}^+$ , який витісняє із розморожених клітин 53...56% –  $\text{Ca}^{2+}$  та 61...71% –  $\text{K}^+$ . За усі етапи ТКС, переміщений у сперматозоїди вміст  $\text{Na}^+$  (63...66%) витісняє з клітин 47...54%  $\text{Ca}^{2+}$  та 70...78% –  $\text{K}^+$ . Отже, найбільші зміни вмісту іонів у сперматозоїдах характерні для  $\text{K}^+$ . Для  $\text{Na}^+$  вони на 10...20% менші, ніж  $\text{K}^+$ , а для  $\text{Ca}^{2+}$  – на 10...20% менші, ніж  $\text{Na}^+$ . Це означає, що за впровадження у виробництво умов ТКС зміни вмісту  $\text{K}^+ > \text{Na}^+ > \text{Ca}^{2+}$ .

Оскільки стан функціональної повноцінності сперматозоїдів пов'язаний із дією на них умов технологічного процесу, фізичних і хімічних властивостей кріопротекторів, то оцінка особливостей змін гомеостазу іонів, які відбуваються у системі «середовище-клітина», потребує аналізу динаміки відношень різноіменних пар ( $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+:\text{K}^+$ ) у сперматозоїдах та різно- ( $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+:\text{K}^+$ ) і одноіменних пар ( $\text{Ca}^{2+}:\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+:\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+:\text{Na}^+$ ) між середовищами свіжоотриманої нативної (плазма) і розрідженої (ВРК,  $\text{ЗС}$ ) сперми та сперматозоїдами (табл. 3).

З цією метою використали відношення  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  нерозрідженої та розрідженої різними ВРК і полікомпонентними ( $\text{ЗС}_\text{к}$ ,  $\text{ЗС}_\text{д}$ ) розріджувачами сперми. Якщо нерозріджену сперму витримувати 4 год за  $37^\circ\text{C}$ , тоді у сперматозоїдах лише на одну частину вмісту (з 10:1 до 11:1) збільшується відношення  $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ , а  $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$  (6:1) і  $\text{Na}^+:\text{K}^+$  (2:1) – залишаються без змін. Однак, якщо сперму заморозити до  $-196^\circ\text{C}$ , а гранули розморозити за  $37^\circ\text{C}$  в цитраті й без нього, тоді реакція сперматозоїдів на дію цих умов – різна. Безцитратне розморожування гранул майже не змінює відношень іонів у клітинах. Лише на одну частину вмісту (із 6:1 до 5:1) зменшуються відношення  $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ , а  $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$  (11:1) і  $\text{Na}^+:\text{K}^+$  (2:1) – залишаються без змін. Реакція сперматозоїдів нерозрідженої сперми на умови деконсервації гранул у розчині цитрату – інша. Надлишок  $\text{Na}^+$  в середовищі суттєво змінює встановлену на етапі еквілібрації сперми рівновагу вмісту іонів у клітинах, а саме: якщо відношення  $\text{Na}^+:\text{K}^+$  стають більшими в 5,  $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$  – в 4 рази, то  $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$  – не змінюються (5:1).

Після розрідження сперми ВРК оптимальної концентрації та її витримування 4 год за  $37^\circ\text{C}$  відношення різноіменних пар іонів у сперматозоїдах також не змінюються. Якщо ж гранули розморозити в цитраті, то відношення  $\text{Na}^+:\text{K}^+$  стають більшими в 9,  $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$  – в 7 разів;  $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$  – зменшуються лише на одну частину вмісту (із 5:1 до 4:1). Це означає, що реакція клітин на дію властивостей ВРК та умов етапу деконсервації гранул виражена рядом пар, у якому числові вирази відношень  $\text{Na}^+:\text{K}^+ > \text{Na}^+:\text{Ca}^{2+} > \text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ .

Таблиця 3

Відношення пар іонів свіжоотриманої та кріоконсервованої сперми, ч.в.

Об'єкти досліджень	Сперма і етапи ТКС	Умови досліджу	Пари і відношення іонів					
			Різноіменні			Одноіменні		
			Na <sup>+</sup> :Ca <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup> :Ca <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup> :K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup> :Ca <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup> :K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup> :Na <sup>+</sup>
Сперматозоїди	БНЦ		10:1	6:1	2:1	—	—	—
	НЦ		10:1	6:1	2:1	—	—	—
	Свіжоотримана	ВРК	10:1	5:1	2:1	—	—	—
		ЗС <sup>к</sup>	12:1	4:1	3:1	—	—	—
		ЗС <sup>д</sup>	11:1	4:1	3:1	—	—	—
	БНЦ		—	—	—	—	—	—
	НЦ		—	—	—	—	—	—
	Після розрідження	ВРК	9:1	5:1	2:1	—	—	—
		ЗС <sup>к</sup>	6:1	2:1	3:1	—	—	—
		ЗС <sup>д</sup>	7:1	3:1	3:1	—	—	—
	БНЦ		11:1	6:1	2:1	—	—	—
	НЦ		11:1	6:1	2:1	—	—	—
Після еквілібрації	ВРК	10:1	5:1	2:1	—	—	—	
	ЗС <sup>к</sup>	7:1	2:1	3:1	—	—	—	
	ЗС <sup>д</sup>	7:1	3:1	3:1	—	—	—	
БНЦ		11:1	5:1	2:1	—	—	—	
НЦ		42:1	5:1	9:1	—	—	—	
Після деконсервації	ВРК	73:1	4:1	18:1	—	—	—	
	ЗС <sup>к</sup>	36:1	2:1	18:1	—	—	—	
	ЗС <sup>д</sup>	41:1	2:1	24:1	—	—	—	
БНЦ		41:1	9:1	7:1	5:1	2:1	2:1	
НЦ		41:1	9:1	7:1	5:1	2:1	4:1	
Свіжоотримана	ВРК	41:1	12:1	8:1	4:1	2:1	4:1	
	ЗС <sup>к</sup>	37:1	8:1	10:1	3:1	2:1	3:1	
	ЗС <sup>д</sup>	35:1	8:1	10:1	3:1	2:1	3:1	
БНЦ		—	—	—	—	—	—	
НЦ		—	—	—	—	—	—	
Після розрідження	ВРК	69:1	21:1	15:1	7:1	5:1	8:1	
	ЗС <sup>к</sup>	36:1	9:1	16:1	4:1	4:1	6:1	
	ЗС <sup>д</sup>	38:1	9:1	15:1	4:1	4:1	5:1	
БНЦ		43:1	9:1	7:1	6:1	2:1	4:1	
НЦ		40:1	9:1	7:1	6:1	2:1	4:1	
Після еквілібрації	ВРК	79:1	25:1	17:1	8:1	5:1	8:1	
	ЗС <sup>к</sup>	39:1	9:1	16:1	5:1	4:1	6:1	
	ЗС <sup>д</sup>	40:1	10:1	15:1	5:1	4:1	5:1	
БНЦ		28:1	7:1	6:1	4:1	1:1	3:1	
НЦ		68:1	26:1	14:1	13:1	5:1	2:1	
Після деконсервації	ВРК	100:1	53:1	25:1	17:1	13:1	1:1	
	ЗС <sup>к</sup>	62:1	24:1	31:1	12:1	12:1	2:1	
	ЗС <sup>д</sup>	67:1	27:1	38:1	12:1	16:1	2:1	

**Примітка.** БНЦ – гранули сперми, деконсервовані без натрію цитрату, НЦ – гранули сперми, деконсервовані у натрію цитраті, ВРК – водні розчини кріопротекторів оптимальної концентрації, ЗС<sub>к</sub> – захисне середовище, контроль, ЗС<sub>д</sub> – захисне середовище, дослід.

Реакцію сперматозоїдів на дію ЗС виявили уже на першому етапі ТКС. Після розрідження сперми рівень концентрації складових ЗС<sub>к</sub> зменшує відношення Na<sup>+</sup>:Ca<sup>2+</sup> і K<sup>+</sup>:Ca<sup>2+</sup> в 2; ЗС<sub>д</sub> – в 1,6 і 1,3 рази. Але їх склад і умови етапу не змінюють відношень Na<sup>+</sup>:K<sup>+</sup>. За період еквілібрації стан рівноваги вмісту іонів у сперматозоїдах не зазнає суттєвих змін. Проте інтенсивність їх відповіді на деконсервацію гранул – різна. Зміни відношень іонів у клітинах розрідженої сперми ЗС<sub>к</sub> менші, ніж розрідженої ЗС<sub>д</sub>. При цьому ЗС<sub>к</sub> збільшує відношення Na<sup>+</sup>:Ca<sup>2+</sup> – в 5, Na<sup>+</sup>:K<sup>+</sup> – в 6; ЗС<sub>д</sub> – в 6 і 8 разів щодо етапу еквілібрації, але відношення K<sup>+</sup>:Ca<sup>2+</sup> в ЗС<sub>к</sub> і ЗС<sub>д</sub> залишаються без змін. Слід також зазначити, що адаптація клітин до змін гомеостазу іонів у різних ВРК та полікомпонентних захисних середовищах відбувається за

подібною схемою. Зміни у сперматозоїдах після деконсервації гранул, розрідженої сперми ВРК і ЗС, виражені різними величинами відношень ряду пар, у якому показник рівноваги концентрацій  $\text{Na}^+:\text{K}^+ > \text{Na}^+:\text{Ca}^{2+} > \text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ .

Повну і об'єктивну оцінку дії біофізичних і біохімічних процесів на функціональний стан сперматозоїдів здатний забезпечити лише детальний аналіз змін гомеостазу між клітиною і середовищем. Тому заключний етап аналізу результатів досліджень спрямували на оцінку змін між середовищами монокомпонентних ВРК і полікомпонентних ЗС (дослід, контроль) і сперматозоїдами.

Якщо у сперматозоїдах, залежно від дії вимог етапів ТКС і властивостей складових плазми, ВРК і ЗС, ліміти відношень різноіменних пар  $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$  становлять 2...6:1,  $\text{Na}^+:\text{K}^+ - 2...24:1$ ,  $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+} - 6...73:1$ , то між середовищем і сперматозоїдами вони, відповідно, в 4–9 (7...53:1), 2–3 (6...38:1), 1–5 (28...100:1) разів – вищі. Для відношень одноіменної пари  $\text{Na}^+:\text{Na}^+$  (1...8:1) визначили найменші ліміти їх мінімальних і максимальних значень. Відношення  $\text{Ca}^{2+}:\text{Ca}^{2+}$  (1...16:1) і  $\text{K}^+:\text{K}^+$  (3...17:1) – у 2 рази більші та майже однакові.

Деконсервація гранул НС без цитрату призводить до того, що відношення різно- та одноіменних пар іонів між плазмою і сперматозоїдами стають в 1–2 рази меншими. Якщо ж деконсервацію гранул проводити в цитраті, то відношення різно- ( $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+:\text{K}^+$ ) і одноіменних ( $\text{Ca}^{2+}:\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+:\text{K}^+$ ) пар у 2–3 рази збільшуються;  $\text{Na}^+:\text{Na}^+$  – у 2 рази зменшуються.

Вплив етапів розрідження, еквілібрації, деконсервації сперми та фізико-хімічних властивостей ВРК збільшує відношення різноіменних пар іонів в 1–2 рази. При цьому вектор змін відношень одноіменних пар спрямований від пари  $\text{Ca}^{2+}:\text{Ca}^{2+}$  (1–2) до  $\text{K}^+:\text{K}^+$  (у 2–3 разів) та від пари  $\text{K}^+:\text{K}^+$  (2–3) до  $\text{Na}^+:\text{Na}^+$  (в 2–8 раз). Це означає, що за кріоконсервації сперми у відкритих гранулах зміни гомеостазу іонів в системі «ВРК-сперматозоїди» виражені рядом, у якому відношення  $\text{Ca}^{2+}:\text{Ca}^{2+} < \text{K}^+:\text{K}^+ < \text{Na}^+:\text{Na}^+$ .

Реакція клітин на дію ЗС виражена неоднаковими змінами відношень різно- та одноіменних пар. Найменші зміни характерні для  $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$  (1–2); дещо більші –  $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$  (1–3) і найбільші –  $\text{Na}^+:\text{K}^+$  (у 2–3 рази до свіжоотриманої). Ліміти змін гомеостазу іонів одноіменних пар кріоконсервованої сперми також різні:  $\text{Na}^+:\text{Na}^+$  – в 2–3;  $\text{Ca}^{2+}:\text{Ca}^{2+}$  – в 1–4;  $\text{K}^+:\text{K}^+$  – у 2–8 разів більші, ніж свіжоотриманої. З цього приводу слід зазначити, що вплив умов деконсервації та фізичних і хімічних властивостей складових ЗС на відношення усіх трьох різноіменних пар та одноіменної  $\text{Ca}^{2+}:\text{Ca}^{2+}$  – однаковий, а на одноіменних  $\text{K}^+:\text{K}^+$  і  $\text{Na}^+:\text{Na}^+$  – різний. Дію контрольного ЗС характеризують відношення  $\text{K}^+:\text{K}^+$  і  $\text{Na}^+:\text{Na}^+$ , які у 3–6 і 1,5–3,0 рази більші, ніж свіжоотриманої сперми; в дослідному ЗС – вони, відповідно, більші в 4–8 і 1,5–2,5 разу.

Визначені після деконсервації гранул замороженої сперми у полікомпонентних ЗС ліміти відношень різноіменних пар становлять:  $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+} - 24...27:1$ ,  $\text{Na}^+:\text{K}^+ - 31...38:1$ ,  $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+} - 32...67:1$ ; одноіменних –  $\text{Ca}^{2+}:\text{Ca}^{2+} - 12:1$ ,  $\text{K}^+:\text{K}^+ - 12...16:1$ ,  $\text{Na}^+:\text{Na}^+ - 2:1$ . Отже, динаміка показників концентрації іонів солей лужних металів між плазмою та штучно створеними середовищами ВРК і ЗС вказує на те, що адаптивна «реакція-відповідь» клітин на дію екзогенних чинників ініціює в системі «середовище-клітина» появу таких біофізичних і біохімічних процесів, діяльність яких майже не впливає на гомеостаз різно- ( $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{Na}^+:\text{K}^+$ ) і одноіменних пар ( $\text{Ca}^{2+}:\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{Na}^+:\text{Na}^+$ ), але суттєво змінює величину відношень  $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{K}^+:\text{K}^+$ .

Адаптивна реакція сперматозоїдів НС та розрідженої ВРК і ЗС на дію умов ТКС неблицьованими гранулами – різна. Розрідження сперми ВРК є причиною симпортного руху  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  з клітин; полікомпонентними ЗС – антипортного руху  $\text{Ca}^{2+}$  в клітини щодо  $\text{K}^+$  і



Na<sup>+</sup> з них. Після етапу еквілібрації нерозрідженої та розрідженої ВРК і ЗС сперми у системі «середовище-клітина» виявили несуттєвий симпортний рух Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> з клітин. Деконсервація заморожених гранул НС без натрію цитрату ініціює симпортний рух Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> у клітини; деконсервація гранул НС та розрідженої ВРК і ЗС у цитраті – антипортний рух Na<sup>+</sup> у клітини щодо K<sup>+</sup> і Ca<sup>2+</sup> з них. Результатом обмінних процесів є суттєва зміна гомеостазу різноіменних пар іонів у сперматозоїдах та між середовищем і сперматозоїдами. Ліміт відношень частин їх вмісту в сперматозоїдах становить: K<sup>+</sup>:Ca<sup>2+</sup> – 2...6:1, Na<sup>+</sup>:K<sup>+</sup> – 2...24:1, Na<sup>+</sup>:Ca<sup>2+</sup> – 6...73:1; між середовищем і сперматозоїдами – 7...53:1, 6...38:1, 28...100:1, що в 3–4 рази більше. Середні значення показників динаміки гомеостазу іонів одноіменних пар Na<sup>+</sup>:Na<sup>+</sup><Ca<sup>2+</sup>:Ca<sup>2+</sup><K<sup>+</sup>:K<sup>+</sup>. Отже, виражена симпортним і/або антипортним способами переміщення іонів адаптивна реакція сперматозоїдів залежно від ТКС та фізичних і хімічних властивостей кріопротекторів різних ВРК і полікомпонентних ЗС змінює абсолютні й відносні показники концентрації іонів солей лужних металів, що є причиною дисбалансу їх початкової рівноваги у клітинах та між середовищем і клітинами.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Буркат В. П., Гузеватий О. С., Седіло Г. М. та ін. Технологія одержання сперми і способи оцінки життєздатності сперматозоїдів // Методична розробка. Оброшино, 2006. 42 с.
2. Максимюк Г. В., Воробець Д. З., Борис Ю. Б., Бойко М. І. Зв'язок концентрації іонів Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> з біологічною повноцінністю сперматозоїдів // Медична хімія. 2003. Т. 5. № 3. С. 85–89.
3. Максимюк Г. В., Воробець З. Д., Беседін В. М. Активність Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> і Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> - АТФаз та вміст K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> і Ca<sup>2+</sup> у спермі чоловіків при нормо- і олігоспермії // Вісн. Київ. ун-ту. Сер. біол. 2001. Вип. 34. С. 8–10.
4. Максимюк Г. В. Особливості гомеостазу жирних кислот у системі «клітина-середовище» // Світ медицини та біології. 2007. № 4. С. 14–18.
5. Максимюк Г. В. Вміст і співвідношення Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> у тканинах organa genitalia scrotum bovina // Біологічні студії / Studia Biologica. 2010. Т. 4. № 2. С. 91–96.
6. Мартиросов С. Бионасосы – работы клетки? М.: Радио и связь, 1981. 144 с.
7. Максимюк Г. В., Воробець З. Д., Максим'юк В. М. та ін. Оцінка впливу умов кріоконсервації на гомеостаз Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> у сперматозоїдах і спермальній плазмі // Клінічна та експериментальна патологія. 2005. Т. 4. С. 116–120.
8. Oxender D. Molecular Aspects of Membrane transport // Liss. 1977. 920 p.
9. Pradip K. A quick assay for Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase specific activity // Z. Naturforsch. 2002. Vol. 57c. P. 562–564.
10. Riegel C. E., Lee J., Turnbull J. L. A Continuous Spectrophotometric Assay for Aspartate Transcarbamylase and ATPases // Analytical Biochem. 1997. Vol. 246. P. 86–95.
11. Wallick E. T., Lane L. K., Schwartz A. Biochemical Mechanism of the Sodium Pump // Annu. Rev. Physiol. 1979. Vol. 41. P. 397–411.

Стаття: надійшла до редакції 30.09.13

доопрацьована 19.11.13

прийнята до друку 24.12.13

**AFFECT OF MONO- AND MULTICOMPONENT SPERM DILUENTS  
ON  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  HOMEOSTASIS OF OPEN SYSTEMS****H. Maksymjuk, Z. Vorobets, L. Lapovez, O. Pershyn***Danylo Halytsky Lviv National Medical University  
69, Pekarska St., Lviv 79010, Ukraine  
e-mail: hanna.maksymjuk@gmail.com*

We studied changes of alkali metal ions homeostasis using the values of their concentrations and ratio in the open systems such as «environment-cell» at the stages of sperm cryopreservation method by granules. It was found that cryopreservation, namely, physical and chemical properties of different cryoprotectants and multicomponent protective environments affect the macroelements transport in sperm differently. Adaptive response of not diluted and diluted sperm is represented with a symport and antiport ways of the ions motion. After dilution, equilibration and reactivation of sperm the changes in ion homeostasis are expressed in different absolute and relative concentrations, content and their ratio.

*Keywords:* native and cryopreserved sperm, sperm, sperm diluent, concentration, ratio, motion and homeostasis of  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ .

**ДЕЙСТВИЕ МОНО- И ПОЛИКОМПОНЕНТНЫХ РАЗРЕДИТЕЛЕЙ СПЕРМЫ  
НА ГОМЕОСТАЗ  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  ОТКРЫТЫХ СИСТЕМ****А. Максимьюк, З. Воробец, Л. Лаповец, О. Першин***Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого  
ул. Пекарская, 69, Львов 79010, Украина  
e-mail: hanna.maksymjuk@gmail.com*

В открытых системах типа «среда-клетка» на этапах технологии криоконсервации спермы (ТКС) необлицованными гранулами по показателям концентрации и отношений ионов щелочных металлов ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ) изучали особенности изменений их гомеостаза. Обнаружили, что на действие условий ТКС, физических и химических свойств разных криопротекторов и поликомпонентных защитных сред адаптивная реакция сперматозоидов неразбавленной и разбавленной спермы представлена симпортным и антипортным способами движения ионов. После разбавления, эквilibрации и деконсервации спермы изменения гомеостаза ионов выражены неодинаковыми абсолютными и относительными показателями их концентрации, содержимого и отношений.

*Ключевые слова:* нативная и криоконсервированная сперма, сперматозоиды, разредители спермы, концентрация, отношения, перемещение и гомеостаз  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ .