

Кыргызстандын саламаттык сактоо илимий-практикалык журналы  
2023, № 3, б. 27-32

Здравоохранение Кыргызстана  
научно-практический журнал  
2023, № 3, с. 27-32

Health care of Kyrgyzstan  
scientific and practical journal  
2023, No 3, pp. 27-32

УДК: 542.943:612.617.6;599.323

## Интактуу келемиштердин эркектик репродуктивдүү системасынын тканындагы экзогендик субстраттардын кычкылданышын талдоо

М.А. Аль Меселмани

*Полесье мамлекеттик университети, Пинск, Беларусь Республикасы*

### МАКАЛА ЖӨНҮНДӨ МААЛЫМАТ КОРУТУНДУ

#### *Негизги сөздөр:*

Кычкылдануу  
Субстрат  
Сукцинат  
Глутамат  
Урук бездери  
Ак келемиштер

*Максаты.* Интактуу келемиштердин эркектик репродуктивдүү системасынын ткандарында кычкылтекти керектөө процесстеринин абалын изилдөө.

*Ыкмасы.* Интактуу келемиштердин урук бездеринде  $t 25\text{ C}^{\circ}$  температурада Хэнкс чөйрөсүндө Кларк электродунун жардамы менен полярографиялык ыкма менен кычкылтекти керектөө параметрлери эндогендик, экзогендик субстраттарда жана 2,4-ДНПнын катышуусунда изилденген.

*Жыйынтыктар.* Эндогендик субстраттарда кычкылтекти керектөөнүн көрсөткүчү ( $V_{\text{end}}$ )  $3,71 \pm 0,09$  нМ  $\text{O}_2/\text{мин мг}$  белокту түздү, ал эми экзогендик субстраттардын катышуусунда сукцинат ( $V_{\text{ac}}$  индикатору) 103% жана ( $V_{\text{glu}}$  көрсөткүчү) - 53% га көбөйдү. глутамат жана урук бездери ингибиторлор натрий амиталына жана натрий малонатына туруктуу экени далилденген.

*Корутунду.* Урук бездеринин ткандарынын препараттары эндогендик субстраттарда ( $V_{\text{end}}$ ) да, экзогендик кычкылдануу субстраттары - сукцинат ( $V_{\text{ac}}$ ) жана глутамат болгондо да кычкылтектин жогорку керектөөсүнө ээ, бул урук безинин иштешин, сперматозоиддердин кыймылдуулугун жана эркектин тукумдуулугун сактоо үчүн чоң мааниге ээ.

## Анализ окисления экзогенных субстратов в ткани мужской репродуктивной системы интактных крыс

М.А. Аль Меселмани

*Полесский государственный университет, Пинск, Республика Беларусь*

#### **Адрес для переписки:**

**Аль меселмани Моханад Ал , 225710,**  
Республика Беларусь, Брестская область, г. Пинск  
ул. Днепровской флотилии, 23  
Полесский государственный университет  
Тел.: +375255470312  
E-mail: drmouhand78@inbox.ru

#### **Contacts:**

Al Meselmani Mohanad Al, 225710,  
Republic of Belarus, Brest region, Pinskst Dnieper flotilla, 23  
Polesie State University  
Phone: + 996 772172471  
E-mail: drmouhand78@inbox.ru

#### **Для цитирования:**

М.А. Аль Меселмани. Анализ окисления экзогенных субстратов в ткани мужской репродуктивной системы интактных крыс. Здравоохранение Кыргызстана 2023, № 3, с.27-32.  
doi.10.51350/zdravkg2023.3.9.3.27.32

#### **Citation:**

M.A. Al Meselmani. Oxidation analysis of exogenous substrates in the tissues of the male reproductive system of intact rats. Health care of Kyrgyzstan 2023, No.3, pp.27-32.  
doi.10.51350/zdravkg2023.3.9.3.27.32

## ИНФОРМАЦИЯ О СТАТЬЕ

## РЕЗЮМЕ

*Ключевые слова:*

Окисление  
Субстрат  
Сукцинат  
Глутамат  
Семенники  
Белые крысы

*Цель.* Изучение состояния процессов потребления кислорода тканями мужской репродуктивной системы интактных крыс.

*Методика.* Изучались параметры поглощения кислорода полярографическим методом с использованием электрода Кларка в среде Хенкса при  $t$  25 °C в семенниках интактных крыс на эндогенных, экзогенных субстратах и в присутствии 2,4-ДФ.

*Результаты.* Показатель потребления кислорода на эндогенных субстратах ( $V_{энд}$ ) составил  $3,71 \pm 0,09$  нМ O<sub>2</sub>/мин мг белка, а в присутствии экзогенных субстратов сукцината (показатель  $V_{як}$ ) он повышался на 103% и (показатель  $V_{глу}$ ) - на 53% при использовании глутамата, а также показано, что семенники являются устойчивыми к ингибиторам амитала натрия и малоната натрия.

*Заключение.* Препараты тканей семенников обладают высоким уровнем потребления кислорода, как на эндогенных субстратах ( $V_{энд}$ ), так и в присутствии экзогенных субстратов окисления – сукцината ( $V_{як}$ ) и глутамата, что имеет большое значение для поддержания функции семенников, подвижности спермы и мужской фертильности.

## Oxidation analysis of exogenous substrates in the tissues of the male reproductive system of intact rats

M.A. Al Meselmani

Polessky State University, Pinsk, Republic of Belarus

## ARTICLE INFO

## ABSTRACT

*Key words:*

Oxidation  
Substrates  
Succinate  
Glutamate  
Testes  
White rats

*Objective.* To study the state of oxygen consumption processes in the tissues of the male reproductive system of intact rats.

*Methods.* The parameters of oxygen uptake were studied by polarographic method using Clark electrode in Hanks medium at  $t$  25 °C in the testes of intact rats on endogenous, exogenous substrates and in the presence of 2,4-DNF.

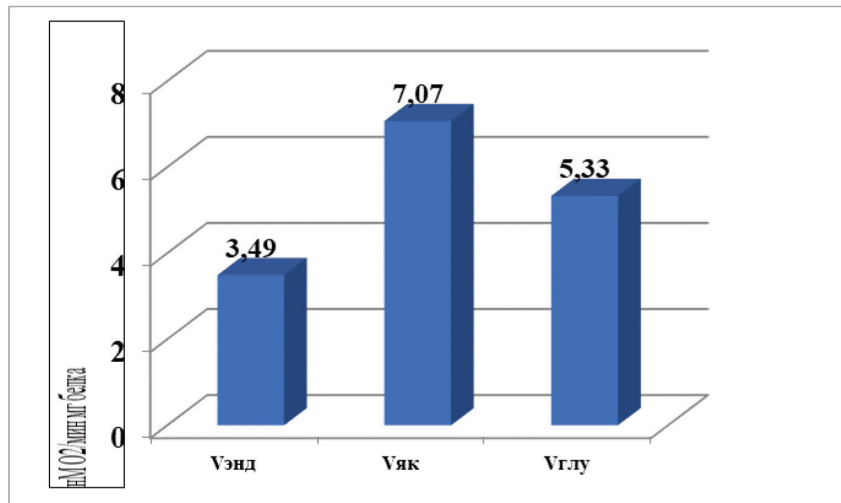
*Results.* The oxygen consumption index on endogenous substrates ( $V_{энд}$ ) was  $3.71 \pm 0.09$  nmol O<sub>2</sub>/min mg of protein, and in the presence of exogenous succinate substrates ( $V_{suc}$ ) it increased by 103% and ( $V_{glu}$  indicator) - by 53% when using glutamate, and it was also shown that the testes are resistant to sodium amytal inhibitors and sodium malonate.

*Conclusion.* Testicular tissue preparations have a high level of oxygen consumption, both on endogenous substrates ( $V_{энд}$ ) and in the presence of exogenous oxidation substrates – succinate ( $V_{suc}$ ) and glutamate, which is of great importance for maintaining testicular function, sperm motility and male fertility.

## Введение

Семенники выполняют несколько основных функций, таких как выработка мужских половых клеток (сперматозоидов) и секреция нескольких эндокринных факторов, включая выработку стероидных и белковых гормонов, которые способствуют

здоровой репродуктивной функции млекопитающих. Поэтому действия половых клеток должны быть скоординированы для выполнения всех этих функций. Метаболическое взаимодействие внутри этих клеток, имеет фундаментальное значение для поддержания энергетических потребностей сперматогенеза и стероидогенеза в семенниках. [1, 2].



**Рис.1.** Скорость поглощения кислорода в семенниках интактных крыс (нмоль O<sub>2</sub>/мин мг белка).

Fig. 1. Rate of oxygen absorption in the testes of intact rats (nmol O<sub>2</sub>/min mg protein).

Источник энергии, который снабжает клетки мужской репродуктивной системы формируется в основном за счет окислительного фосфорилирования в митохондриях [2, 3]. Что касается сперматозоидов млекопитающих, то они также проявляют высокую степень гибкости в отношении предпочитаемых ими метаболических путей [4]. Хотя известно, что сперматозоиды нуждаются в большом количестве аденозинтрифосфата (АТФ) для поддержания своей подвижности и способности к оплодотворению, их основной метаболический путь, ответственный за выработку АТФ, все еще обсуждается, и данные показывают, что митохондриальное окислительное фосфорилирование активно и вносит вклад в емкость и подвижность сперматозоидов человека [5]. Выработка АТФ в клетках семенников в основном происходит в результате фагоцитоза апоптотических зародышевых клеток и остаточных телец посредством поглощения липидов, которые подвергаются бета-окислению [6].

Однако окислительные процессы, протекающие в клетках, приводят к образованию активных форм кислорода (АФК), которые, в свою очередь, могут привести к образованию активных форм азота (RNS). Как АФК, так и RNS могут модифицировать биомолекулы и влиять на липиды, белки и нуклеиновые кислоты [7]. К моменту начала данного исследования, в специальной литературе не обнаружено сведений о процессах поглощения кислорода в семенниках крыс, что стало обоснованием его проведения.

*Целью настоящей работы* явилось изучение состояния процессов поглощения кислорода в семенниках интактных крыс.

### Методика

Объект нашего исследования – 12 белых беспородных крыс-самцов весом 220-240 г. Животные содержались на стандартном рационе вивария.

Препараты семенников получали сразу же после декапитации животных. Извлеченные семенники отмывали охлажденным физиологическим раствором (0-2°C), затем продавливали через сетку с диаметром отверстий 0,5 мм, полученные образцы помещали в охлажденный раствор Хэнкса.

В полученных кусочках изучали параметры поглощения кислорода полярографическим методом с использованием электрода Кларка в среде Хенкса при t 25 °C [8].

Определяли скорость потребления кислорода (скорость дыхания) на эндогенных (Vэнд) и экзогенных (10 ммоль сукцината) субстратах (Vяк), (10 ммоль глутамата) (Vглу) и 100 мкмоль 2,4-ДНФ (Vднф), которую выражали в нМ O<sub>2</sub>/мин мг белка [8, 9]. Измерение содержания белка в пробе проводили биуретовым методом. Наряду с этим, рассчитывали величину стимулирующего действия янтарной кислоты –  $СДяк = Vяк/Vэнд$ ,  $СДглу = Vглу/Vэнд$ , и 2,4-динитрофенола –  $СДднф = Vднф/Vглу$ .

Используя метод ингибиторного анализа, путем добавления в инкубационную среду: ингибитора I-го комплекса дыхательной цепи амитала натрия 2,5 ммоль (Vам) и ингибитора сукцинатдегидрогеназы — малоната натрия 10 ммоль (Vмал), рассчитывали показатели амиталрезистентного дыхания –  $АРД = Vам/Vэнд$  и малонатрезистентного дыхания –  $МРД = Vмал/Vам$  [9, 10, 11].

Полученные данные статистически обрабатывались с помощью статистического пакета «Statistica» for Windows 6.0. Sigmaplot-11 и электронных таблиц Microsoft Excel 2003.

**Табл.1. Параметры поглощения кислорода в интактных семенниках (n=12).**

Table 1. Parameters of oxygen absorption in intact testes (n=12).

Группа	$V_{энд}$	$V_{як}$	$СД_{як}$	$V_{глу}$	$СД_{глу}$
Контроль	$3,49 \pm 0,06$	$7,07 \pm 0,20$	$2,03 \pm 0,09$	$5,33 \pm 0,17$	$1,53 \pm 0,08$

**Табл. 2. Показатели степени сопряжения ТД и ОФ в интактных семенниках (n=12).**

Table 2. Indicators of the degree of conjugation of TD and OF in intact testes (n=12).

Параметры	$V_{энд}$	$V_{днф}$	$СД_{днф}$
Контроль	$3,48 \pm 0,20$	$4,88 \pm 0,11$	$1,38 \pm 0,03$

**Табл. 3. Параметры поглощения кислорода в интактных семенниках при ингибиторах (n=12).**

Table 3. Parameters of oxygen absorption in intact testes with inhibitors (n=12).

Группа	$V_{энд}$	$V_{ам}$	АРД	$V_{мал}$	МРД
Контроль	$3,69 \pm 0,06$	$3,59 \pm 0,13$	$0,97 \pm 0,04$	$3,27 \pm 0,06$	$0,93 \pm 0,02$

### Результаты исследования и их обсуждение

В ходе опытов установлено, что кусочки ткани мужской репродуктивной системы интактных крыс имеют высокий уровень поглощения кислорода как на эндогенных субстратах ( $V_{энд}$ ), так и в присутствии экзогенных субстратов окисления – сукцината ( $V_{як}$ ) и глутамата ( $V_{глу}$ ) (рис. 1).

Высокий уровень потребления кислорода тканями мужской репродуктивной системы свидетельствует о том, что сперматогенез - чрезвычайно активный репликативный процесс, способный генерировать примерно 1000 сперматозоидов в секунду [12]. Высокие скорости клеточного деления, присутствующие этому процессу, подразумевают соответственно высокие показатели потребления кислорода митохондриями зародышевого эпителия.

С точки зрения других авторов, рекомендуется использовать полярографический метод для оценки функции митохондрий животных органов [9,10,11].

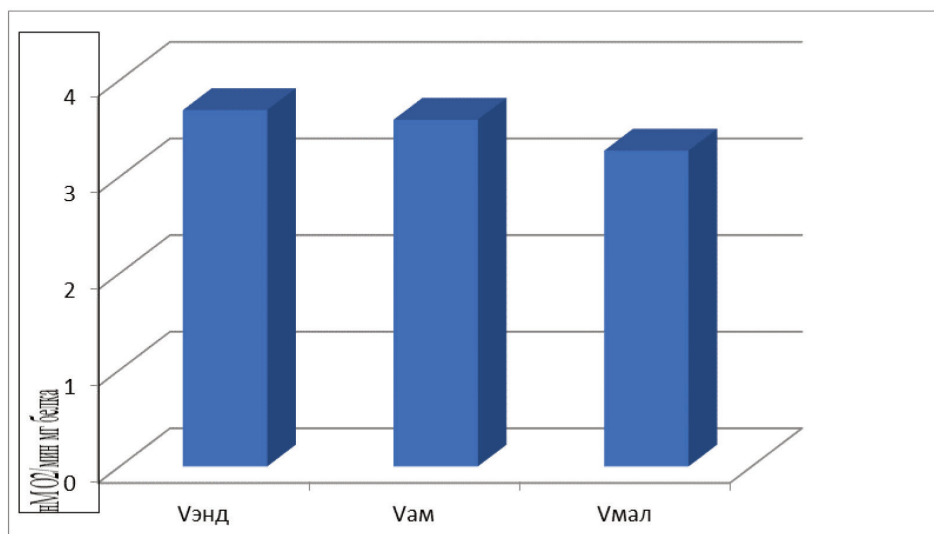
Параметры поглощения кислорода, полученные полярографическим методом на эндогенных субстратах ( $V_{энд}$ ) составили  $3,49 \pm 0,06$  нМ  $O_2$ /мин мг белка, а на экзогенных субстратах ( $V_{як}$  и  $V_{глу}$ ) – показатель потребления кислорода в препаратах семенников при использовании сукцината увеличивался до  $7,07 \pm 0,20$  нМ  $O_2$ /мин мг белка и в присутствии глутамата скорость потребления увеличивалась до  $5,33 \pm 0,17$  нМ  $O_2$ /мин мг белка (табл. 1).

Увеличение поглощения кислорода при экзогенных субстратах, особенно глутамата, объясняется тем, что метаболизм глутамина связан с механизмами клеточного цикла, имеющего особую важность для пролиферации [13, 14].

Для характеристики процессов поглощения кислорода экзогенных субстратах имеют значения также  $СД_{як}$  и  $СД_{глу}$ . Так, если скорость поглощения кислорода тканей семенников при использовании янтарной кислоты повышалась на 103%, то после использования глутамата процесс повышался на 53% (соответственно, показатели  $СД_{як}$  и  $СД_{глу}$  составили  $2,03 \pm 0,09$  и  $1,53 \pm 0,08$ , что, согласно сложившимся в биоэнергетике представлениям, характеризует высокую степень интактности исследуемых предметов.

В связи с этим, при добавлении разобщителя процессов окислительного фосфорилирования 2,4-Динитрофенола было проявлено повышение скорости потребления кислорода на 38% с  $3,48 \pm 0,20$  нМ  $O_2$ /мин мг белка до  $4,88 \pm 0,11$  нМ  $O_2$ /мин мг белка и показатель  $СД_{днф}$  составил  $1,38 \pm 0,03$  (табл. 2).

Метод ингибиторного анализа показал, что гомогенаты тканей мужской репродуктивной системы у интактных животных являются устойчивыми к действию блокатора I-го комплекса электронно-транспортной цепи амитала натрия и к конкурентному ингибитору сукцинатдегидрогеназы (малоната натрия). В их присутствии достоверных изменений в



**Рис. 2. Скорость поглощения кислорода в семенниках интактных крыс при ингибиторах (нмоль O<sub>2</sub>/мин мг белка).**

Fig. 2. Rate of oxygen absorption in the testes of intact rats with inhibitors (nmol O<sub>2</sub>/min mg protein).

скорости поглощения кислорода не отмечено (табл. 3). Так оба показателя ( $V_{ам}$  и  $V_{мал}$ ) составили  $3,59 \pm 0,13$  нМ O<sub>2</sub>/мин мг белка и  $3,27 \pm 0,06$  нМ O<sub>2</sub>/мин мг белка соответственно. Поэтому МРД также, как и АРД фактически не изменялось (рис. 2).

Установлено, что в семенниках функциональная активность и энергический обмен зависят от наличия субстратов биологического окисления [8]. Метод полярографии является основным методом изучения тканевого дыхания (ТД) и окислительного фосфорилирования (ОФ) [10, 11].

Следует отметить, что сукцинатдегидрогеназа является одним из важных ферментов для аэробного дыхания в энергетическом метаболизме семенников. Семенники характеризуются присутствием сукцинатдегидрогеназы в митохондриях их клеток, этим можно объяснить активацию поглощения кислорода в изучаемых семенниках, сопровождающуюся катализацией ферментов в цикле трикарбоновых кислот и аэробных дыхательных цепях. Так, сукцинат-убихинонредуктаза, который катализирует сукцинатдегидрогеназу, переводит восстановительный эквивалент сукцината в убихинон и катализирует окисление сукцината до фумарата [15].

Кроме того, метаболизм и биоэнергетика клеток семенников являются уникальными характеристиками. Клетки Сертоли (КС) – это соматические клетки семенников, которые играют важную роль в поддержании сперматогенеза благодаря их расположению в семенных канальцах.

КС поглощают кислород и глюкозу из кровотока, обеспечивая энергию для развития мужских половых клеток [16]. КС являются основными энергетическими регуляторами сперматогенеза, так как они вырабатывают энергию, необходимую для развития половых клеток, главным образом за счет метаболизма глюкозы, взятой из кровообращения. Однако метаболизм этих клеток очень пластичен, поскольку они также могут метаболизировать липиды и аминокислоты [17].

Данные нашего исследования об активности потребления кислорода в мужской репродуктивной системе соответствуют литературным сведениям, свидетельствующим об активном в метаболическом отношении органе для поддержания функции семенников, подвижности спермы и мужской фертильности [2, 12].

Данные нашего исследования об активности потребления кислорода в мужской репродуктивной системе соответствуют литературным сведениям, свидетельствующим об активном в метаболическом отношении органе для поддержания функции семенников, подвижности спермы и мужской фертильности [2, 12].

## Выводы

1. Ткани мужской репродуктивной системы интактных крыс имеют высокий уровень поглощения кислорода при присутствии эндогенных и экзогенных субстратов янтарной кислоты и глутамата.
2. Максимальное потребление кислорода часто двукратное в образцах ткани семенников отмечается при присутствии экзогенной янтарной кислоты.
3. Гомогенаты тканей интактных семенников являются устойчивыми к действию амитала натрия, блокатора I-го комплекса электронно-транспортной цепи, и малоната натрия конкурентного ингибитора сукцинатдегидрогеназы.

**Жазуучулар ар кандай кызыкчылыктардын чыр жоктугун жарыялайт.**

**Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов. The authors declare no conflicts of interest.**



## Литература / References

1. Ricardo Silva, David F. Carrageta, Marco G. Alves, Pedro F. Oliveira (2022) Testicular Glycogen Metabolism: An Overlooked Source of Energy for Spermatogenesis?, *BioChem*, 2(3), 198-214; <https://doi.org/10.3390/biochem2030014>.
2. Аль Меселмани, М.А (2013) Энергетический обмен в семенниках, *Военная медицина: научно-практический рецензируемый журнал*, 4, :94–101.
3. Medar, M.L.J., Marinkovic, D.Z., Kojic, Z., Becin, A.P., Starovlah, I.M., Kravic-Stevovic, T., Andric, S.A., Kostic, T.S (2020) Dependence of Leydig Cell's Mitochondrial Physiology on Luteinizing Hormone Signaling, *Life*, 11 (1):(19). DOI:10.3390/life11010019.
4. Rodríguez-Gil, J.E., Bonet, S (2016) Current knowledge on boar sperm metabolism: Comparison with other mammalian species. *Theriogenology*, 85(1):4-11. doi: 10.1016/j.theriogenology.2015.05.005.
5. P. Piomboni, R. Focarelli, A. Stendardi, A. Ferramosca and V. Zara (2012) The role of mitochondria in energy production for human sperm motility, *International Journal of Andrology*, 35, 109–124. doi:10.1111/j.1365-2605.2011.01218.x
6. Xiong, W., Wang, H., Wu, H., Chen, Y., Han, D (2009) Apoptotic Spermatogenic Cells Can Be Energy Sources for Sertoli Cells, *Reproduction*, 137(3), 469–479. <https://doi.org/10.1530/REP-08-0343>
7. Juan G. Reyes, Jorge G. Farias, Sebastián Henríquez-Olavarrieta, Eva Madrid, Mario Parraga, Andrea B. Zepeda, Ricardo D. Moreno (2012) The Hypoxic Testicle: Physiology and Pathophysiology, *Oxid Med Cell Longev*, 2012(15), doi:10.1155/2012/929285
8. Кондрашова, М.Н (1973) Принципиальные преимущества полярографического изучения дыхания перед манометрическим, *Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом, АН СССР, Ин-т биол. физики; [редкол.: Г.М. Франк (отв. ред.) и др.]*, 86–93.
9. Абдулкадер, А (2007) Характеристика митохондриального окисления интактной селезенки крыс, *Проблемы здоровья и экологии*, 4 (14): 78-81.
10. Грицук, Н.А, Конопля Е.Ф, Грицук, А.И (2008) Влияние инкорпорации <sup>137</sup>Cs на показатели митохондриального окисления миокарда и динамику электрокардиографических параметров у крыс, *Весті Нацыянальнай Акадэміі навук Беларусі, Серыя медыцынскіх навук*, 2:105–110.
11. Грицук, А.И, Никитина И.А (2010) Влияние острого ионизирующего излучения на тканевое дыхание тимуса, *Медико-биологические проблемы жизнедеятельности*, 1: 50-55.
12. R John Aitken, Shaun D Roman (2008) Antioxidant systems and oxidative stress in the testes, *Oxid Med Cell Longev*, 1(1): 15–24, doi:10.4161/oxim.1.1.6843.
13. Hee Chan Yoo, Ya Chun Yu, Yulseung Sung, Jung Min Han (2020) Glutamine reliance in cell metabolism, *Exp Mol Med*, 52(9): 1496–1516. doi: 10.1038/s12276-020-00504-8.
14. Coloff, J. Patrick Murphy, Craig R. Braun, Steven P. Gygi, Laura M. Selfors, Joan S. Brugge (2016) Differential Glutamate Metabolism in Proliferating and Quiescent Mammary Epithelial Cells, *Cell Metab*, 23(5):867-880. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.03.016>.
15. Shubo Jin, Yuning Hu, Hongtuo Fu, Yufei Wang, Yiwei Xiong, Hui Qiao, Wenyi Zhang, Yongsheng Gong, Yan Wu (2021) Identification and Characterization of the Succinate Dehydrogenase Complex Iron Sulfur Subunit B Gene in the Oriental River Prawn, *Macrobrachium nipponense*, *Front Genet*, 12:698318. doi: 10.3389/fgene.2021.698318. eCollection 2021.
16. Park, Y.-J., Pang, M.-G (2021) Mitochondrial Functionality in Male Fertility: From Spermatogenesis to Fertilization. *Antioxidants*, 10(1): 98. doi: 10.3390/antiox10010098
17. Riera, M.F., Galardo, M.N., Pellizzari, E.H., Meroni, S.B, Cigorraga, S.B (2009) Molecular mechanisms involved in Sertoli cell adaptation to glucose deprivation, *Am J Physiol*. 297(4):E907-14. doi: 10.1152/ajpendo.00235.2009.

## Авторы:

Аль Меселмани Моханад Али, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биоинформатики, Полесского государственного университета, Пинск, Республика Беларусь

## Authors:

Al Meselmani Mohanad Ali, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Biochemistry and Bioinformatics, Polesie State University, Pinsk, Republic of Belarus

Поступила в редакцию 31.10.2023  
Принята к печати 29.11.2023

Received 31.10.2023  
Accepted 29.11.2023