

## INFLUENȚA MEDIULUI ZAHAROZĂ, DULCIT, ARGININĂ ȘI VITAMINA B<sub>6</sub> PENTRU CONSERVAREA SPERMEI UMANE

### THE INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL SUGAR, SWEET, ARGININE AND VITAMIN B<sub>6</sub> ON HUMAN SPERM PRESERVATION

*Iulia CAZACOV, ORCID: 0009-0005-1599-281X*

*Ion BALAN, ORCID: 0000-0002-5431-6057*

*Nicolae ROȘCA, ORCID: 0000-0003-4705-5618*

*Vladimir BUZAN, ORCID: 0000-0002-4982-1315*

*Ion MEREUȚA, ORCID: 0000-0002-9711-5351*

*Melania BUCARCIUC, ORCID: 0009-0006-4692*

*Universitatea de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova*

**CZU: 577.1:612.616**

e-mail: iulia.cazacov@mail.ru

e-mail: balanion@rambler.ru

e-mail: nicolaerosca27@gmail.com

e-mail: vladimirbuzan@yahoo.com

e-mail: merutaion@yahoo.com

e-mail: melania.bucarciuc@mail.ru

*Au fost studiați indicii fiziologici care caracterizează sperma sanogenă de om prin conservare cu folosirea argininei și vitaminei B<sub>6</sub> în componența mediului de zaharoză și dulcit. În rezultatul cercetărilor, diluantul cu conținut de vitamina B<sub>6</sub> 1,6 mg și arginină 0,29 mg, pe bază de zaharoză, dulcit-glicerină-gălbenuș și apă distilată după congelare-decongelare a celulelor sexuale umane, posedă indici fiziologici care caracterizează sperma sanogenă procentual (mobilitatea 29,7 %, indicile absolut al supraviețuirii 93,6 % și longevitatea 28,3%) mai sporit comparativ cu lotul martor.*

**Cuvinte-cheie:** arginina, vitamina B<sub>6</sub>, congelare, celule sexuale.

*Physiological indices characterizing sanogenic human sperm were studied by preservation with the use of arginine and vitamin B<sub>6</sub> in the composition of sucrose and dulcete medium. As a result of the research, the diluent containing vitamin B<sub>6</sub> 1.6 mg and arginine 0.29 mg, based on sucrose, dulcete-glycerine-yolk and distilled water after freezing-thawing of human sex cells, possesses physiological indices that characterize sanogenic sperm percentage (mobility 29.7 %, absolute survival rate 93.6% and longevity 28.3%) higher compared to the control group.*

**Keywords:** arginine, vitamin B<sub>6</sub>, freezing, sex cells.

#### INTRODUCERE

Pe plan mondial metoda congelării spermei este destul de răspândită. Spermatozoizii umani sunt mai rezistenți la congelare, comparativ cu spermatozoizii animalelor.

Dar în procesul de crioconservare mobilitatea spermioilor și alți indici după decongelare diminuează în limite destul de variate, în mediu 30-70%. Aceste schimbări ale spermatozoizilor corelează cu variațiile rezistenței acestora la congelare-decongelare, care pot fi optimizate prin metode biotehnologice. Una dintre acestea sunt mediile sintetice crioprotectoare, care asigură obținerea după decongelare a unor indici fiziologici favorabili, cu caracteristici sanogene cu capacități apte de fecundare. Există și medii crioprotectoare cu proprietăți de sporite diferențiată a indicilor fiziologici ai materialului seminal, dintre care sunt mobilitatea, longevitatea și indicele absolut al supraviețuirii gameților masculi după decongelare [2].

În afară de componenții de bază pentru diluarea și congelarea materialului reproductiv este necesar ca în componența acestor medii să fie incluși și polioli. Pentru protejarea celulelor reproductive sunt folosiți polioli cu o masa moleculară sporită, ceea ce ne permite de a obține noi rezultate cu indici fiziologici mai sporiți în procesul de congelare-decongelare [3].

Includerea în componența mediilor de diluare și congelare a substanțelor biologice active, precum ar fi aminoacizii, vitaminele și alte substanțe pot spori calitatea materialului seminal.

Stabilirea raportului proteine-lipide din membranele plasmatică a celulelor reproductive în procesul congelării-decongelării materialului reproductiv al animalelor agricole este necesar de a include în mediile sintetice, a unor proteine, care formează complexe cu componenții membranelor celulelor reproductive. În această lucrare se descriu unele rezultate obținute în laboratorul nostru despre eficacitatea argininei și vitaminei B<sub>6</sub>, care sporesc stabilizarea indicilor dintre raportul proteine-lipide din membranele plasmatică după decongelarea materialului reproductiv. Includerea argininei în mediile de congelare-decongelare reabilitează mobilitatea celulelor reproductive și participă la stabilizarea acrosomului [4].

În procesul de derulare a spermatogenezei vitaminele grupei B participă la sinteza ADN-ului care accelerează spermatogeneza și sporesc stabilitatea spermatozoizilor [1]. Vitamina B<sub>6</sub> este un cofactor în multe reacții ale metabolismului aminoacizilor, având și un rol important în derularea reacțiilor enzimatice ce au ca efect eliberarea glucozei din glicogen.

Includerea argininei și vitaminei B<sub>6</sub> în componența mediilor sintetice cu conținut de zaharoză și dulcitol vor intensifica proprietățile crioprotectoare ale mediului de congelare-decongelare și vor asigura sporirea indicilor fiziologici ai materialului seminal - mobilitatea, longevitatea și indicele absolut de supraviețuire al gameților masculini după decongelare.

## MATERIAL ȘI METODĂ

Materialul seminal a fost recoltat de la donari sănătoși. Mobilitatea celulelor reproductive de om a fost determinată cu ajutorul microscopului la o mărime de 200 ori, după sistemul de zece baluri. Concentrațiile optime ale compușilor mediului au fost

determinate prin metoda consecutivă a sistemii de doi componenți. Congelarea spermei s-a efectuat pe suprafața unei plăci de fluoroplast în vaporii azotului lichid la temperatura de  $-196^{\circ}\text{C}$  în formă de granule, în volum de 0,1 ml. Decongelarea s-a efectuat în termos-tat biologic la temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$  în flacon, care conținea mediu pentru decongelare, până la decongelarea completă a granulei, timp de 10 sec. Prelucrarea statistică a materialului seminal s-a efectuat cu utilizarea criteriului Student.

### REZULTATE ȘI DISCUȚII

Au fost studiate indicii fiziologici ai materialului seminal uman în procesul de cri-conservare în diferite perioade tehnologice în scopul sporirii criorezistenței celulelor sexuale masculine umane.

S-au studiat indicii fiziologici care caracterizează sperma sanogenă umană cu folosirea argininei aminoacid hidrofil prin conservarea la temperatura de  $22^{\circ}\text{C}$ .

Eficiența mediului cu conținut de glucide zaharoză-dulcit (ZD) și arginină, pentru conservarea spermei umane la temperatura de  $22^{\circ}\text{C}$  este prezentată în tabelul 1.

Tabelul 1

#### Influența argininei în componența mediului zaharoză-dulcit pentru conservarea spermei umane la temperatura de $22^{\circ}\text{C}$ , N=5.

Nr. ord.	Mediile izotonice			Mobilitatea după diluare, (P) M ± m	Indicele absolut al supraviețuirii, (u.c.) M ± m	Supraviețuirea, (ore) M ± m
	Zaharoză-Dulcit	Arginina				
	ml	ml	mg			
1	2	3	4	5	6	7
1	0,0	1,0	0,060	0,0±0,00	0,0±0,00	0,0±0,00
2	0,1	0,9	0,054	0,0±0,00	0,0±0,00	0,0±0,00
3	0,2	0,8	0,048	0,0±0,00	0,0±0,00	0,0±0,00
4	0,3	0,7	0,042	0,0±0,00	0,0±0,00	0,0±0,00
5	0,4	0,6	0,036	0,0±0,00	0,0±0,00	0,0±0,00
6	0,5	0,5	0,030	0,0±0,00	0,0±0,00	0,0±0,00
7	0,6	0,4	0,024	3,4±0,48	8,0 ±2,72	3,4±0,98
8	0,7	0,3	0,018	3,7±0,49	12,7 ±3,39	4,6±1,04
9	0,8	0,2	0,012	4,5±0,25	15,2 ±3,50	5,6±1,30
10	0,9	0,1	0,006	6,2±0,65	76,9±23,06	22,2±5,66
11	Martor 1,0	0,0	-	5,5±1,00	46,2 ±12,32	20,0±5,01

Din rezultatele obținute și indicate în tabelul 1, se observă că, eficiența argininei în varianta care conține 0,1ml cu concentrația de 0,006g pregătită pe soluție de zaha-

roză-dulcit și 0,9ml mediu de bază. Indicii fiziologici care caracterizează sperma sanogenă sunt mai majorați (mobilitatea 12,7%, indicele absolut al supraviețuirii 64,85% și supraviețuirea în ore 11%) comparativ cu lotul martor.

Un alt studiu, care prevede studierea influenței argininei cu concentrația diminuată în componența diluantului zaharoză-dulcit, pentru conservarea spermei umane la temperatura de 22° C. Rezultatele cercetărilor sunt prezentate în tabelul 2.

Tabelul 2

**Eficiența mediului cu conținut de zaharoză și arginină în concentrații diminuate, pentru conservarea spermei umane la temperatura de 22 °C, N =5.**

Nr. ord.	Mediile izotonice			Mobilitatea după diluare, (P) M ± m	Indicele absolut al supraviețuirii, (u.c.) M ± m	Supraviețuirea, (ore) M ± m
	Zaharoză-Dulcit	Arginina				
		ml	ml			
1	2	3	4	5	6	7
1	0,495	0,005	0,290	6,9±0,11	65,1 ±6,35	22,2±2,63
2	0,490	0,010	0,580	7,2±0,14	78,4 ±8,16	24,0±2,09
3	0,485	0,015	0,870	7,5±0,18	81,6 ±5,47	26,6±0,91
4	0,480	0,020	1,160	7,8±0,14	88,1 ±5,59	28,2±0,82
5	0,475	0,025	1,450	8,0±0,01	93,2±5,64	28,2±0,82
6	0,470	0,030	1,740	8,0±0,01	84,7 ±2,89	27,6±1,04
7	0,465	0,035	2,030	7,9±0,11	81,3 ±4,14	27,0±1,12
8	0,460	0,040	2,320	7,9±0,11	73,2 ±1,70	23,6±2,25
9	0,455	0,045	2,610	7,7±0,22	71,5±2,02	23,6±2,25
10	0,450	0,050	2,900	7,2±0,14	62,6±8,01	16,4±0,27
11	Martor 0,500	0,000	0,000	7,2±0,22	67,2 ±9,84	18,8±2,58

În rezultatul cercetărilor (tabelul 2) am constatat că diluantul ce conține 0,025 ml cu concentrația de 1,45 mg de arginină și 0,475ml de zaharoză-dulcit (varianta 5) au sporit indicii fiziologici care caracterizează sperma sanogenă (mobilitatea cu 11%, indicele absolut al supraviețuirii 38,79 și supraviețuirea în ore 50%), comparativ cu lotul martor.

Pe parcurs s-a studiat acțiunea vitaminei B<sub>6</sub> în componența mediului glucidic cu conținut de zaharoză și dulcit asupra indicilor fiziologici care caracterizează sperma sanogenă la temperatura de 22 °C. Rezultatele cercetărilor sunt prezentate în tabelul 3.

Tabelul 3

Studierea influenței vitaminei B6 în componența mediului zaharoză-dulcit pentru conservarea spermei umane la temperatura de 22 °C, N =5.

Nr. ord.	Mediile izotonice			Mobilitatea după diluare, (P) M ± m	Indicile absolut al supraviețuirii, (u.c.) M ± m	Supraviețuirea, (ore) M ± m			
	Zaharoză-dulcit	Vitamina B6							
	ml	ml	mg						
1	2	3	4	5		6		7	
1	0,0	1,0	10,0	7,9 ±	0,11	145,9 ±	3,73	16,0 ±	0,00
2	0,1	0,9	9,0	7,9 ±	0,11	151,1 ±	3,10	16,0 ±	0,00
3	0,2	0,8	8,0	7,8 ±	0,14	145,4 ±	7,66	16,0 ±	0,00
4	0,3	0,7	7,0	7,8 ±	0,14	152,3 ±	6,95	16,0 ±	0,00
5	0,4	0,6	6,0	8,0 ±	0,00	159,0 ±	8,36	16,0 ±	0,00
6	0,5	0,5	5,0	8,1 ±	0,11	172,8 ±	7,09	23,6 ±	2,20
7	0,6	0,4	4,0	8,1 ±	0,11	197,0 ±	13,84	26,8 ±	0,42
8	0,7	0,3	3,0	8,1 ±	0,11	200,4 ±	14,15	28,4 ±	0,27
9	0,8	0,2	2,0	8,0 ±	0,00	209,6 ±	10,42	29,6 ±	0,27
10	0,9	0,1	1,0	8,0 ±	0,00	204,1 ±	11,18	29,4 ±	0,27
11	Martor 1,0	-	-	7,7 ±	0,22	191,3 ±	12,25	27,2 ±	0,42

Aceste cercetări au demonstrat (tabelul 3) că varianta 9 cu concentrația de 2mg vitamina B<sub>6</sub> în 1ml mediu (0,8ml zaharoză-dulcit și 0,2ml zaharoză-dulcit cu vitamina B<sub>6</sub>) sporesc indicii fiziologici care caracterizează sperma sanogenă (mobilitatea 3,9%, indicile absolut al supraviețuirii 9,57% și supraviețuirea în ore 8,82%) comparativ cu lotul martor.

În continuare, s-a cercetat sinergismul vitaminei B<sub>6</sub> cu concentrația de 2mg (varianta 9) din tabelul 3 și argininei cu concentrația de 1,45mg (varianta 5) din tabelul 2, în componența mediului de glucide zaharoză-dulcit prin conservarea spermei umane la temperatura de 22°C (tabelul 4).

Tabelul 4

**Efectul acțiunii vitaminei B<sub>6</sub> și argininei în componența mediului de glucide zaharoză-dulcit prin conservarea materialului seminal uman la temperatura de 22 °C, N=5.**

Nr. ord.	Mediile izotonice				Mobilitatea după diluare, (P) M±m	Indicile absolut al supraviețuirii, (u.c.) M±m	Supraviețuirea, (ore) M±m
	Zaharoză-dulcit-vit. B6		Zaharoză-dulcit-arginina				
	ml	mg	ml	mg			
1	2	3	4	5	6	7	8
1	0,0	-	1,0	1,45	7,3±0,16	190,2 ±33,24	24,0±0,87
2	0,1	0,2	0,9	1,31	7,3±0,16	195,3 ±42,12	24,0±0,87
3	0,2	0,4	0,8	1,16	7,4±0,21	193,5±38,60	24,0±0,87
4	0,3	0,6	0,7	1,02	7,6±0,27	193,5±32,57	24,0±0,87
5	0,4	0,8	0,6	0,87	7,8±0,45	297,3±43,01	27,0±1,17
6	0,5	1,0	0,5	0,73	8,0±0,06	317,7±58,71	27,4±1,35
7	0,6	1,2	0,4	0,58	8,1±0,11	347,0 ±84,13	27,4±1,35
8	0,7	1,4	0,3	0,44	8,1±0,11	399,5 ±46,38*	28,6±1,26
9	0,8	1,6	0,2	0,29	8,0±0,00	432,4 ±56,03*	29,0±0,94*
10	0,9	1,8	0,1	0,15	7,8±0,14	344,6±76,90	27,6±1,26
11	1,0	2,0	-	-	8,0±0,00	287,4±81,20	21,2±8,76
12	Martor ZD1,0	-	-	-	7,8±0,14	205,7±46,92	25,2±1,34

\*Diferența este statistic autentică

Rezultatele cercetărilor (tabelul 4), ne demonstrează, că în variantele cu concentrațiile de vitamina B<sub>6</sub> 1,4 și 1,6mg și arginină 0,44 și 0,29mg au cei mai sporți indici fiziologici, care caracterizează sperma sanogenă consecutiv (mobilitatea 3,85; 2%, indicii absolut al supraviețuirii 68,67; 110,21% și longevitatea 13,49; 15,8%) comparativ cu lotul martor.

Un alt scop este de a se studia posibilitățile combinării diluanților cu conținut de zaharoză-dulcit-glicerină-gălbenuș-vitamina B<sub>6</sub> și arginină (variantele 1; 8; 9; 11 și 12) pentru congelarea materialului reproductiv uman (tabelul 5).

Tabelul 5

**Influența glucidelor, argininei și vitaminei B6 în componența mediilor crioprotectoare pentru congelarea materialului reproductiv uman, N=5.**

Nr. ord.	Mediile izotonice				Mobilitatea după decongelare, (P) M±m	Indicele absolut al supra-viețuirii, (u.c.) M±m	Supraviețuirea, (ore) M±m
	Zaharoză-dulcit-vit. B6		Zaharoză-dulcit-arginina				
	ml	mg	ml	mg			
1	2	3	4	5	6	7	8
1	-	-	1,0	1,450	3,6±0,21	50,0±5,84	8,6±0,45
2	0,7	1,4	0,3	0,440	4,3±0,14*	92,6 ±8,82*	10,8±0,42*
3	0,8	1,6	0,2	0,290	4,8±0,14*	117,8±11,10**	11,8±0,42*
4	1,0	2,0	-	-	3,5±0,25	45,5±8,65	8,4±0,76
5	Mart. Zaharoză-Dulcit 1,0	-	-	-	3,7±0,14	60,0 ±6,38	9,2±0,22

\*Diferența este statistic autentică

Rezultatul cercetărilor denotă (tabelul 5), că diluantul cu conținut de vitamina B<sub>6</sub> în cantitate de 1,6mg și arginină 0,29mg pe bază de zaharoză-dulcit-glicerină-gălbenuș și apă distilată după congelare-decongelare a materialului reproductiv uman posedă indici fiziologici care caracterizează sperma sanogenă (mobilitatea 29,7%, indicile absolut al supraiețuirii 93,6% și longevitatea 28,3%) mai sporți comparativ cu lotul martor.

Prezența glucidelor, sinergismul argininei și vitaminei B<sub>6</sub> în componența mediilor crioprotectoare pentru materialul reproductiv de om inițiază inhibarea procesului de peroxidare a lipidelor din membranele plasmatiche, diminuează acumularea produselor toxice ale acestui proces, reacționează prin modificarea arhitectonicii structurilor extramembranare și stabilizează indicii fiziologici ai celulelor reproductive decongelate, influențează asupra indicilor morfo-funcționali, asigurând o sanogenitate favorabilă prin prolongarea semnificativă a duratei de activitate a spermatozoizilor, prevenind totodată epuizarea rezervelor energetice proprii.

## CONCLUZII

1. Mediul propus permite de a asigura o valoare majorată stabilă a indicilor fiziologici ai spermei după decongelare.
2. Glucidele zaharoză și dulcitol împreună cu arginina și vitamina B<sub>6</sub> asigură o capacitate crioprotectoare mai sporită la congelarea celulelor sexuale umane.

3. Prezența glucidelor sinergismul aminoacidului arginina și vitamina B<sub>6</sub> în componența mediilor crioprotectoare pentru sperma umană acționează asupra indicilor fiziologici, asigurând o sanogenitate favorabilă semnificativă a duratei de activitate a spermatozoizilor, prevenind epuizarea rezervelor energetice proprii.

#### **Referințe:**

1. Wong, V.Y., Merkus, H.M., Thomas, C.M. et.al. Effects of folic acid and zinc sulfate on male factor sub fertility: double-blind, randomized, Placebo - controlled trial. *Fertile Sterile*, 2002, № 3 (77), p. 491-498.
2. Борончук, Г.В., Балан, И.В. Структурно-функциональные и биохимические изменения в биологических системах при криоконсервации. Кишинэу: 2008, 630 с.
3. Наук, В.А. Структура и функция спермиев сельскохозяйственных животных при криоконсервации. Кишинёв: Штиинца, 1991, 198 с.
4. Шавкун, В.Е., Андрусенко, М.Т. Авторское свидетельство 553974, А 61 Д 7/02. Состав для сохранения перфоратория сперматозоидов, вводимый в разбавитель спермы животных. (СССР). № 2173283/15. Заявлено 12.09.75. Опубл.15.04.77. Бюл.№14. 1 с.