

**MODIFIC RI MOLECULARE SI MORFOLOGICE DIRIJATE ALE
CELULELOR SPERMATICE ÎN PROGRESIA SPERMATOGENEZEI****Balan Ion***Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie al Academiei de Științe a Moldovei***Rezumat**

Au fost generalizate și analizate datele cercet rilor contemporane privind influen a unor factori asupra spermatogenezei, în scopul amelior rii fertilit ii spermei de coco . Rezultatele prezentelor cercet ri arat eficacitatea factorilor epigenetici în ameliorarea calitativ a spermei la stimulare în diverse etape ale spermatogenezei. S-a demonstrat necesitatea i beneficiile dezvolt rii în continuare a cercet rilor în reglementarea proceselor spermatogenezei.

Cuvinte - cheie: sperm - fertilitate- antioxidan i- Seleniu- Zinc-vitamine-carnitin - glutatationperoxidaza - superoxididismutaza

Depus în redac ie 10 aprilie 2012

Adresa pentru coresponden : Balan Ion, Institutul de Fiziologie i Sanocreatologie al Academiei de tiin e a Moldovei, str. Academiei, 1, MD-2028 Chi in u , Republica Moldova, e-mail: balanion@rambler.ru, tel. (+373 22) 737138.

Fertilitatea reprezint un proces de prima necesitate i este cea mai important în cre terea p s rilor. Num rul de ou fertile, produse pentru incuba ie elucideaz rentabilitatea final a g inilor de pr sil . Fertilitatea sc zut în reproduc ia p s rilor este considerat , în mare m sur , o problem a efectivului masculin. Exista mai multe cauze de fertilitate sc zut , dintre care, este bine documentat faptul influen ei factorilor alimentari i de vârst , care au un efect negativ asupra succesului de reproducere al coco ilor [51, 104, 114].

În ultimele decenii, cercet rile efectuate în domeniul optimiz rii ra iilor p s rilor, paralel cu complimentarea anorganic a lor s-a eviden iat biodisponibilitatea i activitatea biologic sporit a compu ilor organici. Efectele lor benefice au fost înregistrate în biotehnologiile de reproduc ie a p s rilor agricole i, în special, asupra proceselor de derulare a spermatogenezei i de ameliorare a propriet ilor vitale ale spermatozoizilor. Unele dintre mineralele organice de mare importan pentru nutri ia p s rilor de pr sil sunt seleniul i zincul [3, 86, 87, 102, 120, 122].

În acela i timp, este cunoscut c dezechilibrul dintre concentra ia pro- i antioxidan i are impact negativ asupra calit ii spermei [92]. Aceasta duce la cre terea peroxid rii lipidelor, sc derea mobilit ii i viabilit ii spermei, i, în cele din urm , la infertilitate.

Antioxidan ii biologici bine cunoscu i sunt superoxid dismutaza (SOD) si glutatation peroxidaza (GSH-Px), care au fost bine documentate în literatura de specialitate [22, 51]. În categoria antioxidan ilor chimici, atât produselor naturale cât i sintetice, s-a atras o aten ie deosebit pentru utilitatea lor în reproducere i în gestionarea fertilit ii [2]. S-a accentuat, asupra faptului, c antioxidan ii naturali (vitamina E, acidul ascorbic) i enzimele (SOD i GSH-Px) creeaz în materialul seminal un sistem integral de protec ie contra reac iilor de oxidare specific (ROS) i produselor toxice ale metabolismului [19, 22, 28, 51, 75, 119].

Conform relatiilor academicianului T. Furdui [126] echilibrul fiziologic optimal al fenomenelor biologice ale sistemului reproductiv i intensitatea degradarii funcionale i morfologice a lui, precum i echilibrul dintre producerea ROS i antioxidan ii protectori sunt considerate ca factori ai calitatii materialului seminal i, în special, ai capacitii de fertilizare [92, 116].

Paralel, este cunoscut, c matricele structural al spermatogenezei, care este condi ionat de integritatea organogenezei sistemului reproductiv, se afl în corela ie, atît cu factorii genetici, cît i cu cei epigenetici [123]. Ultimii includ i influen e ale mediului ca factori determinan i ai spermatogenezei (ac iuni teratogenice, remediile farmaceutice, deregl ri alimentare etc). Organismul continuu este supus ac iunilor schimb toare ale mediului, ceea ce poate determina sporirea frecven ei de formare a game ilor anormali [128].

Relatiile dintre ROS i statutul antioxidan ilor în sperma aviar , dintre morfologia i func ionalitatea spermatozoidelor, precum i posibilit ile de modulare ale lor prin diverse mijloace [81, 117], inclusiv i cele nutri ionale, au o importan considerabil [105]. Antioxidan ii, în general, pot fi împ ri i în dou grupe, i anume, enzimatici i non enzimatici, iar rolul lor în materialul seminal aviar este elucidat mai jos [2, 115].

Formarea spermatozoidelor implic o serie de modific ri moleculare si morfologice în celulele germinale masculine, care sunt reprezentate prin celule stem diploide i spermatogonii, al caror stoc este între inut prin mitoze, îndeosebi, în fazele ini iale ale spermatogenezei [79, 123]. Men inerea intensitatii spermatogenezei ca proces fiziologic, care cuprinde totalitatea transform rilor prin care trec spermatogoniile, reprezint una dintre sarcinile prioritare ale sanocreatologiei i se realizeaz prin formarea dirijat i reglementarea statusului fiziologic, inclusiv i al cordului în condi iile variabile ale mediului [130].

Pentru dep irea problemelor de fertilitate din cauza performan ei slabe ale efectivului masculin, mai multe studii au ar tat, c anume influen area proceselor de spermatogenez prin intermediul factorilor esen iali, participan i în spermoproduc ie ar putea reglementa cre terea propriet ilor biologice ale spermatozoidelor [123, 124, 126]. Aplicarea variet ilor mecanismelor de ap rare i de men inere a evolu iei proceselor, care cuprind enzimele antioxidative, biomoleculele i vitaminele, disponibile i benefice pentru derularea reac iilor specifice, ar servi ca una dintre solutiile pentru supravieuirea i func ionarea fiziologic a spermatozoidelor.

Prin urmare, scopul prezentului articol este de a revizui efectul micronutrien ilor esen iali, enzimelor antioxidative i a vitaminelor cu propriet i antioxidative în procesele de spermogenez i ac iunea lor asupra calitatii materialului seminal de coco .

Obiectivele trasate vin în concordan cu principiile dezvoltarii tiinifice ale sanocreatologiei, care prev d elaborarea teoriei i practicii dirijate în formarea i men inerea s n t ii nu numai a organismului integru, dar i a tuturor structurilor morfo-func ionale, inclusiv i a sistemului reproductiv [13,125].

Eficien a activitatii de reproducere a coco ilor se reduce semnificativ la deficien e de micronutrien i (seleniu sau zinc), care apare prin medierea dezvoltarii testiculelor i prin sc derea calitatii materialului seminal [6, 86, 100, 118].

Seleniul

Unul dintre efectele biologice ale seleniului constă în faptul, că este componentul unei proteine, formate din patru subunități identice, fiecare subunitate incluzând un atom de seleniu sub formă de selenocistein. Această proteină, care conține seleniu, intră în compoziția enzimei glutatation-peroxidaza, care este enzima principală de luptă contra excesului producerii radicalilor liberi. Meritul acestei descoperiri îi revine lui Rotruck [33, 34]. Selenocisteina este un seleno-aminoacid în care seleniul a luat locul sulfurului în acest aminoacid, care conține sulf, se numește cistein.

Seleniul este un element esențial care are un rol important în reproducerea păsărilor [5, 17, 49, 101].

Neve J. [67], studiind funcțiile biologice ale seleniului, a constatat că agresiunile care se produc în timpul proceselor metabolice normale sau în timpul unui mare număr de circumstanțe patologice (maladii degenerative, dereglarea spermatogenezei etc.) sunt legate de radicalii liberi și de pericolele pe care aceștia le cauzează. Un deficit de seleniu, chiar neînsemnat, afectează activitatea GSH-Px și duce la peroxidarea membranelor celulare și intracelulare [22, 103]. Permeabilitatea celulară este afectată, inclusiv în numeroase biomolecule, ca de exemplu ADN și ARN continuă să funcționeze, dar din cauza acestor anomalii, deja codul genetic al lor produce anumite devieri [31, 47, 59, 89, 108, 53].

Anume posibilele deteriorări ale ADN pot provoca dereglarea procesului de reproducere. Deteriorarea ADN-ului și proteinelor de legare, de asemenea, poate perturba calitatea materialului seminal [90]. Spermatozoidul cu ADN-ul disfuncțional nu este apt pentru a participa la fecundarea ovulei. Prin urmare, rata de fertilizare scade concomitent cu deteriorarea ADN-ului [98].

La fel și fragmentarea ADN este o cauză, deseori întâlnită, în spermatozoizii infertili. Conținutul ADN fragmentat al spermatozoizilor, corelează negativ cu calitatea spermei [46, 93]. Conform teoriei apoptozei, fragmentarea ADN este inițiată de activarea endonucleazelor [45, 52, 77].

Totodată, conform acestei teorii, defectarea fenomenului menționat este determinat de substituirea histonilor cu protamine în procesul spermatogenezei, ce provoacă condensarea cromatinei și ADN-ului [31, 47, 59, 89, 108, 53].

Ca micronutrient, seleniul are o deosebită importanță în nutriția păsărilor. Sub forma organică, seleniul este legat chimic de un agent chelant, sau ligant, reprezentat de aminoacizi sau peptide. De aici provine și denumirea de minerale sau oligoelemente proteinate [8, 32].

Seleniul organic, ca și majoritatea mineralelor organice are o biodisponibilitate și activitate biologică mult mai mare comparativ cu cea a seleniului anorganic [86, 43].

Seleniul poate determina modificări fiziologice în esuturi, inclusiv și în testicule, ceea ce are o influență directă asupra calității produselor care vor fi destinate consumului uman [14] și calității materialului seminal [48]. Integrarea seleniului organic în lanțul alimentar favorizează un transfer mai mare al seleniului într-o formă ce poate fi asimilat la maximum de către organism [8].

Seleniul interacționează cu un număr mare de minerale, potențial toxice. La niveluri micronutriționale seleniul este capabil de a preveni manifestările toxice ale acestor

substan e, probabil, prin formarea deriva ilor mai pu in toxici sau inactivi. În rezultat, seleniul moduleaz toxicitatea metalelor grele, avînd ca unul dintre efectele benefice asupra organismului diminuarea pericolelor gonadice [3, 4, 21, 85, 112].

Func ia esen ial pe care seleniul o are în organism este cea de component al glutacion-peroxidazei, enzima plasmatic i cito-plasmatic , care interac ioneaz cu radicalii liberi cu efecte negative asupra st rii de s n tate a organismului i reduce excesul producerii lor [56, 57, 73, 74]. De asemenea, seleniul este implicat i în reglarea mai multor sisteme enzimatice, care particip , inclusiv i în desf urarea metabolismului energetic al spermatozoizilor [27].

O alt func ie important a seleniului în organism este condi ionat de rolul antioxidant al lui. Efectul antioxidant al seleniului a fost explicat prin rolul s u ca parte component a enzimei antioxidante GSH-Px [22, 103]. Exist diferite tipuri de selenoproteine, care particip la reglementarea func iilor fiziologice, inclusiv la protec ia antioxidant i stabilizatoare a membranei celulare a spermiului. Recent a fost stabilit c o parte a GSH-Px din form enzimatic convertibil trece în partea structural a spermei. Importan a seleniului reese i din faptul, c seleniul ad ugat în sperm spore te caracteristicile de p strare i mobilitate a spermei i mic oreaz eliberarea totalului de lipide i fosfolipide din spermatozoizi în plasma seminala în timpul p str rii [17]. Ac iunea antioxidant este predeterminat i de interac iunile existente între seleniu i vitamina E prin poten area mecanismelor de protec ie contra peroxid rii fosfolipidelor membranice [22, 35, 103]. Seleniul, component al glutacionperoxidazei, ac ioneaz printr-un mecanism secundar de ap rare ca urmare a incapacit ii vitaminei E de a distruge total peroxizii metabolismului [68, 101]. În calitate de component intracelular al glutacion-peroxidazei, seleniul ac ioneaz împreun cu vitamina E i considerabil reduc stresul celular [19, 91]. Concomitent, exist leg turi strînse între consumul de seleniu i vitamina E i calitatea produselor de pas re [14]. Ca urmare a propriet ilor sale, prezen a suplimentar a seleniului în alimenta ie are influen e benefice asupra amelior rii func ionale a sistemului reproductiv i altor sisteme vitale ale organismului [8, 32].

S-a constatat, c aportul suplimentar de seleniu organic în organism duce la vindecarea infertilit ii masculine i dubleaz capacit ile imune ale celulelor implicate în r spunsul imun [86]. Deosebit de important este i declan area mecanismelor metabolice prin intermediul c ror seleniul manifest propriet i amelioratoare i biologice benefice [21, 50, 65].

Totodat , în caren de seleniu la coco i, scade semnificativ num rul de celule Sertoli si Leydig, care sunt necesare, respectiv, pentru spermatogenez i produc ia de testosteron [20].

Cercet rile anterioare au demonstrat, c deficitul de seleniu provoac sc derea fertilit ii la coco i i afecteaz func ia de reproducere [5]. Selenoproteinele contribuie la stabilizarea spermatozoizilor i, prin urmare, la apari ia deficien ei de seleniu, scade calitatea spermei [49]. Surai i al. [101] au raportat c GSH-Px este enzim dependent de seleniu, care reprezint un component esen ial al sistemului antioxidant al spermei de pas re. Barber i al. [5] au demonstrat c ad ugarea seleniului în materialul seminal de broiler în doze foarte mari (7896 micrograme/l), este nociv i deminueaz indicii calit ii spermei.

Este cunoscut, c deficitul de selen negativ influen eaz mecanismele de ap rare antioxidativ a spermei de coco [103]. Edens i Sefton [20] au demonstrat c , atunci cnd coco ii au fost hr ni i prin suplimentare de seleniu cu 0,2 ppm la ra ia de baz , care coninea seleniu 0,28 ppm, procentul de spermatozoizi normali a crescut iar anomaliile spermilor semnificativ au sc zut.

Prezena seleniului organic n alimenta ia omului are influen e benefice asupra reducerii multor maladii, iar n ra iile alimentare ale p s rilor duce la sporirea semnificativ a productivit ii i ameliorarea func iilor de reproduc ie [4]. Concomitent, conform avantajelor sanocreatologiei, n scopul prevenirii posibilelor ac iuni nocive ale factorilor epigenetici asupra spermatogenezei este necesar de asigurat o alimenta ie integr i de exclus ac iunea factorilor stresogeni din activitatea vital masculin [123, 127].

n contextul interesului crescnd pentru efectele benefice ale alimentelor asupra s n t ii umane, cre rii i men inerii dirijate a statusului fizic, fiziologic, morfologic i psihic al omului [13], rezultatele succesului nregistrat n urma consumului produselor bogate n selen au predeterminat direct propor ional beneficiile aduse s n t ii, decizia cump r torului i intensitatea de profil a produc torului. O preocupare major n Europa reprezint concentra ia seleniului n s nge la popula ia uman . Consumul redus de seleniu din ultimii 20 de ani poate avea influen e asupra cre terii inciden ei infertilit ii i apari ei altor devieri ale organismului. Prin administrarea de seleniu organic n ra iile pentru g inile ou toare, necesarul zilnic (20-100 mcg), recomandat pentru om, se poate asigura prin consumul de dou ou n zi [50].

Suplimentarea hranei cu seleniu organic nu numai c mbun t e te starea de s n tate i productivitatea p s rilor, dar poate servi i ca o surs natural de alimente, care au o importan vital pentru procesele fiziologice ale organismului, respectiv i pentru produc ia de ou i carne de pas re mbog it cu seleniu [48]. Este important deci, n practic , de a se evita prescrierea administr rii unui singur element n doze mari, dar este binevenit administrarea micronutrien ilor ntr-o manier multielementar i ntr-un bun interechilibru [121], care asigur , n acela i timp, i o derulare optim a proceselor de digestie a nutrien ilor n tractul digestiv [131].

Zincul

Un rol nu mai pu in important n func ionarea sistemelor i organelor organismului îl are zincul (Zn). Ca element de baz , acest constituent coordoneaz i particip n reglarea unui num r multiplu de procese biologice i metabolice, care decurg n organism. n particular, Zn este implicat n procesele metabolice i balan a electrolitic , formarea structural a scheletului, cre terea i dezvoltarea organismului, tonusul muscular i activitatea sistemului enzimatic, fortificarea sistemului imun, transferul energetic i metabolismul carbohidra ilor, balan a acido-bazic i altele. n acela i timp, Zn particip n sinteza proteinelor i men inerea compozi ei aminoacizilor esen iali asigurnd func ia de reproducere i a st rii generale echitabile a organismului [9].

Zincul joac roluri importante n diverse activit i biologice, fiind urmate de o gam larg de relat ri tiin ifice, inclusiv i de informa ii disponibile cu privire la func iile sale n spermatogenez . Cercet rile actuale au relevat faptul c Zn se acumuleaz n celulele germinale, n special, n mitocondriile spermatogoniilor i spermatozoizilor [33, 96, 111].

Zincul prin propriet ile sale biologice împiedic atrofierea prematar a timusului, stimuleaz digestia, asimilarea i are un rol important în activitatea organelor reproductive i metabolismul tractului digestiv [6, 40].

Zincul este bine cunoscut ca un element esen ial în activit i biologice ale organismului. În sistemele biologice, Zn este prezent în form de proteine i ionic , joac un rol important în medierea func iei i structurii proteinelor, precum i în men inerea echilibrului fiziologic [24]. Zn se acumuleaz în testicule la nivel identic cu concentra ia lui din alte esuturi vitale ale organismului [25].

Din motivul lipsei constituirii unei rezerve constante de zinc, pentru asigurarea optimal a acestui mineral, organismul se afl în dependen direct de asimilarea necesarului de zinc din alimente. Zn se acumuleaz în testicule în concentra ii ridicate, care sunt comparabile, în special, cu cele din ficat i rinichi [7]. Peste 300 de enzime cu func ii vitale în organism depind de aportul zincului în func ionarea fiziologic a lor. Unele dintre aceste metaloenzime au ca component structural principal ionul de zinc [80]. Printre ele, cele cu roluri vitale esen iale în organism sunt anhidraza carbonic , care produce excre ia CO₂; fosfataza alcalin , care elibereaz fosfa ii anorganici ai metabolismului oaselor; superoxid dismutaza (SOD), care protejeaz celulele contra radicalilor liberi; alcool-dehidrogenaza (ADH), care asigur detoxicarea ficatului de alcool; carboxipeptidaza, implicat în digestia proteinelor alimentare i al. Mai mult, meioza celular fiziologic nu poate avea loc în lipsa unei cantit i optime de zinc, necesar pentru sinteza ADN, ARN i a proteinelor. Zincul este o component structural de leg tur a proteinelor ADN i protejeaz membrana celular contra liz rii ei [86].

În studiile contemporane, inhibarea spermatogenezei si anomaliilor spermei au fost observate în patologiile, care induc deficit de Zn [25, 78]. Deficitul de Zn poate provoca leziuni severe ale testiculelor, cum ar fi, atrofia la nivelul tubilor testiculari i inhibarea spermatidelor [78, 41]. În acela i timp, exist unele relat ri, care denot , c prezen a Zn poate atenua deteriorarea testiculelor, provocat de metalele grele, fluoruri i de c ldur [11]. Aceste constat ri denot faptul, c testiculele ar putea include o surs de Zn-încorporat i, c Zn poate exercita un efect protector contra leziunilor testiculare i joac un rol esen ial în men inerea func iilor reproductive. Cu toate acestea, nu exist nici o dovada de ac iune direct a Zn asupra spermatogenezei.

În compara ie cu spermatogeneza, eficien a Zn asupra mobilit ii spermatozoizilor a fost examinat la diferite vertebrate si nevertebrate [64]. La om, scade mobilitatea spermei, în asociere cu cre terea concentra iei Zn în plasma seminal [36]. Morisawa i Yoshida, de asemenea, au relatat, c Zn în plasma seminal suprim mobilitatea spermei, iar înl turarea lui amelioreaz mobilitatea [11]. Aceste rezultate sugereaz asupra faptului c Zn extracelular afecteaz mobilitatea spermatozoizilor. În plus, s-a raportat c Zn este prezent în mitocondrii i flagelul spermatozoizilor [64, 96], dar nu exist date cu privire la rolul Zn intracelular în func iile vitale ale spermei.

Concomitent, sunt clarificate unele mecanisme de reglementare care stau la baza evolu iei spermatogenezei [61, 62]. Paralel cu investiga iile de distribuie a concentra iei de Zn au fost ar tate efectele inhibatoare ale patru oligoelemente (plumb, molibden, rubidiu, i arseniu) asupra spermatogenezei [110].

Unele studii au ar tat c o concentra ie mare de Zn se determin în testicule la diferite nivele, iar un deficit de Zn inhib spermatogeneza si produce anomalii ale

spermei [37, 58]. În prezent exist unele relat ri, care vizeaz , în detalii, func ia Zn în procesul spermatogenezei. Sorensen i coautorii au demonstrat c Zn este prezent în spermatogoniile i spermatocitele primare [94]. S-a demonstrat, deasemenea, c Zn se acumuleaz în testicule în timpul spermatogenezei precoce si poate juca un rol-cheie în reglementarea prolifer rii spermatogoniilor i în meioza celulelor germinale [24, 61].

Experimental s-a stabilit acumularea Zn în mitocondrii, spermatogonii, spermatide i spermatozoizi. Costello i al. [15] au ar tat c Zn este importat în mitocondriile prostatei i celulelor hepatice, în forma unor complexe de Zn-ligande [15]. Exist numeroase dovezi ale prezen ei sistemului de transport pentru Zn [12]. Zn, la rândul s u, ar putea avea un rol important în func iile mitocondriale i celulele germinale [33, 39]. În plus, Zn a fost depistat i în alte zone ale citoplasmei. Zn se acumuleaz în citoplasm , cât i în spermatogonii, spermatocite [95]. Acest lucru denot c Zn este un element esen ial pentru men inerea celulelor germinale. Prin sondaj fluorescent s-a constatat c Zn se acumuleaz în mitocondriile celulelor germinale i acest lucru poate spori protec ia acestor celule de la apoptoza [106, 38]. Unele studii au demonstrat corela ia dintre Zn i apoptoz i ar t c Zn ar putea func iona ca un antioxidant în celule [106]. Studii suplimentare vor fi necesare pentru stabilirea rolului Zn în integritatea celulelor germinale.

Unele cercet ri au demonstrat, c sub influen a Zn se intensific spermatogeneza, se înnoiesc spermatogoniile, spore te meioza i concentra ia celulelor germinale [60, 61, 62, 63, 72]. Rezultatele cercet rilor au ar tat, de asemenea, c Zn are un rol important în sinteza ADN-ului prin proliferarea celulelor i meiozei. În plus, receptorii hormonilor steroizi - progesteronului, androgenilor, estrogenilor si cei ai Zn reciproc interac ioneaz în ansamblul structurilor lor [26], care nemijlocit sunt implicate în procesul spermatogenezei [82]. Aceste constat ri sugereaz , c în timpul sintezei ADN hormonii steroizi i celulele embrionare pot încorpora Zn pentru a activa o serie de enzime specifice si proteine. Prin urmare, analize de perspectiv vor fi necesare pentru clarificarea rolului Zn cu privire la îndeplinirea func iilor de receptori ai hormonilor steroizi i de factori ai tranzac iilor în timpul spermatogenezei.

O importan deosebit în mobilitatea spermei îi revine Zn intracelular, care preponderent se acumuleaz în mitocondriile spermatice [95] i este important pentru mobilitatea spermei. ATP sintetizat de c tre mitocondrii cu participarea Zn este necesar pentru mobilitatea spermatozoizilor [107]. Paralel, în mobilitatea spermatozoizilor particip i anhidraza carbonic (AC), care se men ine în membranele spermatice. AC catalizeaz hidratarea reversibil a carbonului si regleaz pH-ul în lichidele celulare., care influen eaz mobilitatea spermatozoizilor [62]. AC este o protein Zn-obligatorie, iar activitatea ei este direct dependent de concentra ia de Zn [99].

În concluzie, s-a demonstrat c concentra ia de Zn în testicule cre te în timpul spermatogenezei i, în general, Zn se acumuleaz în celulele germinale, dar nu i în celulele intersti iale Sertoli. În acela i timp, s-a demonstrat c deficitul de Zn determin inhibarea sintezei ADN-ului din celulele germinale i induce un r spuns apoptotic. Deficitul de Zn a suprimat mobilitatea spermatozoizilor în modele experimentale. Aceste rezultate denot c Zn este un element esen ial pentru men inerea i reglementarea, atât a spermatogenezei, cât si a mobilit ii spermatozoizilor. Cu toate acestea, mecanismele de ac iune detaliat a Zn în procesul spermatogenezei, r mân de a fi clarificate în studii

suplimentare. Investiga iile suplimentare vor avea succes în cazul excluderii eficiente a ac iunilor accelerate ale factorilor variabili ai mediului asupra organelor i sistemelor, la care procesele adaptive nu sunt suficiente pentru men inerea homeostazei, ceea ce implicit determin apari ia diverselor deregl ri morfofunc ionale. Aceste obiective pot fi realizate numai în condi iile de creare i men inere dirijat a activit ii statusului morfo-func ional i în cele de aplicare a metodelor de combatere a influen ei nocive a factorilor men iona i asupra activit ii fiziologice a organelor i sistemelor vitale i a organismului integru [129].

Vitamina E

O aten ie deosebit s-a atribuit antioxidantului dietetic, vitaminei E. A fost demonstrat c 88% a vitaminei E din sperma de coco se g se te în spermatozoizi. În func ie de diet , concentra ia vitaminei E in materialul seminal de coco variaz între 0,46 micrograme/ml (f r suplimentarea ra iei cu vitamina E), pân la 1,04 micrograme/ml (cu suplimentarea ra iei cu vitamina E la nivelul de 200 mg/kg) [104].

Vitamina E este format din compu i de tocoferoli i tocotrienoli, importan i, mai cu seam , prin rolul lor în func iile antioxidante, rezistentă la boli i interac iunile cu seleniu în integritatea esutului [100]. În plus, compu ii bioactivi ai vitaminei E sunt, de asemenea, implica i în stabilizarea membranelor, reducerea reac iilor oxidative, detoxicarea metalelor grele, sinteza prostoglandinelor, sinteza si metabolismul unor vitamine i metabolismul aminoacizilor [10, 44].

Potrivit lui Lin i al. [51] fertilitatea i durata de fertilitate sunt însu irile biologice i economice cele mai importante pentru coco i, care pot fi influen ate de factorii de mediu, cum ar fi, temperatura i iluminarea, precum i aportul alimentar al vitaminei E [22]. Vitamina E eficient purific radicalii liberi i interac ioneaz cu ei formând grupe stabile ROOH. În leg tur cu aceasta s-a înaintat ipoteza despre propriet ile vitaminei E de a acorda stabilitate biologic membranei plasmatică a spermatozoidului [101]. Sporirea con inutului de vitamin E în sperm a produs o reducere semnificativ în susceptibilitatea materialului seminal vis-a-vis de peroxidarea lipidelor [51, 68]. Nivelul înalt al vitaminei E în spermatozoizii de coco este condi ionat de diminuarea susceptibilit ii inductive a Fe^{+2} la peroxidarea lipidelor [104].

Suplimentarea ra iei cu vitamina E pentru men inerea i ameliorarea productivit ii pe larg este utilizat în cre terea intensiv a p s rilor, iar rezultatele variaz în func ie de nivelul i durata supliment rii cu vitamina E, rezervele genetice i vârst [91]. Cercet rile au demonstrat, c vitamina E reprezint unul dintre principalele elemente, participante în lan ul antioxidant al membranelor spermatice. Ac iunea de ameliorare a calit ii spermei de c tre vitamina E a fost asociat cu prevenirea reac iei de oxidare în lan [68] i inhibarea peroxid rii lipidelor în sperm [29, 109].

Lin et al. [51] au demonstrat c , vitamina E în concentra ii optime amelioreaz viabilitatea i mobilitatea spermei de coco i spore te concentra ia ei în spermatozoizi, iar utilizarea de lung durat a vitaminei poate duce la efecte adverse. De asemenea, s-a stabilit c caren a de vitamina E duce la sc derea calit ii spermei, iar fertilitatea g inilor spore te concomitent cu suplimentarea ra ie pîn la 160 mg/kg cu acest vitamin [51]. În plus, adausul de seleniu spore te rolul anioxidant al vitaminei E, prin cre terea activit ii GSH-Px, reducând sensibilitatea spermatozoizilor la peroxidarea lipidelor [103].

O alt posibilitate pentru inhibarea peroxidării lipidelor se face prin includerea direct a vitaminei E în solvenții materialului seminal de coco, eficiența crei a fost mult mai joasă decât integrarea ei în rația alimentară [101, 103].

Vitamina C

Vitamina C (acidul ascorbic) este un antioxidant solubil în apă, în mod natural, se sintetizează de către organism. A fost recomandat în hrana păsărilor ca supliment pentru a atenua stresul, deoarece în timpul stresului cerințele organismului în vitamina C pot depăși capacitatea de sinteză a ei [30]. Stresul fiziologic, cum ar fi, căldura, bolile sau suprapopularea poate spori necesitatea organismului în acid ascorbic [69]. Vitamina C este implicat în ciclul aminoacizilor și al metabolismului mineral, precum și participă în sinteza testosteronului [56], care este esențial în funcțiile de reproducere a cocoșilor. Nowaczewski și Kontecka [70] au demonstrat și au documentat faptul, că acidul ascorbic asigură potențialul antioxidant al plasmii seminale în mormine de 65%. Pardue și Thaxton [75] au raportat că suplimentarea cu acid ascorbic (100 ppm/kg de furaj), a accelerat considerabil creșterea greutatei testiculare a cocoșilor reproducători la vârsta de 8 săptămâni. Dobrescu [18] a demonstrat că la suplimentarea cu vitamina C, în rată de 150 ppm/kg de hrană a crescut volumul materialului seminal, concentrația spermei și numărul total de spermatozoizi, precum și s-au redus considerabil aglutinarea gameților în ejaculat.

De asemenea, la complementarea rațiilor cocoșilor cu acidul ascorbic a sporit fertilitatea și a diminuat aglutinarea spermioilor [34], s-a ameliorat productivitatea de reproducere [76], s-au îmbunătățit proprietățile materialului seminal și ale fertilității [54], s-a mărit volumul ejaculatului, concentrația spermei și mobilitatea spermatozoizilor de cocoș [23]. De asemenea, s-a stabilit că vitamina C în rată de 200 mg/kg acționează benefic asupra proprietăților de reproducere a cocoșilor în condiții de stres termic. Cu toate acestea, McDaniel și al. [55] au constatat că administrarea excesivă (500 și 1000 ppm) de acid ascorbic a dus la scăderea capacităților de fertilitate pentru fiecare zi post-însemnare în condiții de stres termic a cocoșilor și au concluzionat, că doar un anumit nivel de acid ascorbic este benefic pentru dezvoltarea normală a spermatogenezei și reproducerea păsărilor.

Carnitina

Carnitina reprezintă un vitamino-aminoacid, sintetizat din metionin și lizină, care acționează ca receptor intercelular pentru activarea acizilor grași [1]. Carnitina posedă proprietăți antioxidante, care protejează membrana spermatozoizilor împotriva toxinelor reactive de oxidare specifică (ROS) [1, 66, 88, 97]. Concentrații mari de carnitină sunt prezente atât în plasma seminală, cât și în spermatozoizi, care reduc peroxidarea lipidelor prin transportul acizilor grași polinesaturați în mitocondrii pentru oxidare și pentru producerea energiei necesare mobilității spermatozoizilor [66, 113]. Carnitina poate proteja alți antioxidanți împotriva potențialelor deteriorări peroxidative, de exemplu, funcționează concomitent cu SOD în protecția membranei lipidice a spermatozoizilor și joacă un rol esențial în reducerea peroxidării lipidelor, protejând celulele de deteriorări peroxidative [28, 97].

Suplimentarea rației cocoșilor cu L-carnitină a înregistrat îmbunătățiri ale indicilor materialului seminal și ai parametrilor de fertilitate prin inhibarea peroxidării lipidelor

din membranele spermatozoizilor de coco [1, 66, 88]. Includerea în ra ia dietetic a L-carnitinei în doz de 250-500 mg/kg a stabilit o sporire semnificativ a num rului de spermatozoizi normali i ameliorarea calit ii spermei de cocos [1, 66, 88]. Nuerman i al. [66] au demonstrat c alimentarea cu L-carnitin în scop de ameliorare a func iilor reproductive ale coco ilor a provocat cre terea num rului de spermatozoizi, iar intensitatea peroxid rii lipidelor i num rul celulelor multinucleate gigante s-a redus. De asemenea, Sarica i al. [88] au confirmat faptul c la includerea a 250 mg/kg sau 500 mg/kg în dieta de baz a masculilor de prepeli e a crescut în mod semnificativ viabilitatea spermei i a sc zut cantitatea de celule multinucleate gigantice în testicule. Adabi i al. [1] au concluzionat c L-carnitina, în ra ia alimentar , în concentra ie de 250 i 500 ppm, a produs rezultate optime în volumul materialului seminal, mobilitatea spermatozoizilor i num rul de spermatozoizi vii, f r efecte semnificative asupra procentului de spermii anormali. Zhai i al. [113] au ar tat c la coco ii albi Livorno, care consumau un timp îndelungat câte 125 ppm L-carnitin s-a înregistrat o cre tere persistent a concentra iei spermei i au sugerat, precum-c , influen a antioxidantiv a L-carnitinei asupra produc iei de sperm începe înainte de debutul pubert ii.

Rolul carnitinei ca antioxidant poate fi explicat prin modul în care aceasta îmbun t e te utilizarea piruvatului, un substrat electiv energetic pentru mobilitatea spermatozoizilor. Carnitina se transform în acetylcarnitin prin carnitin -acil-transferaz (CAT), care reduce raportul acetyl-CoA/CoA cu cre terea produc iei de ATP, p strând mobilitatea înalt a spermatozoizilor [1, 66, 97]. Mai mult decât atât, este bine cunoscut faptul c stabilizarea capului si cozii spermiului are loc în epididim prin formarea disulfidelor intra- i intermoleculare [1]. Acest proces are o importan fundamental pentru mobilitatea spermei, care se realizeaz prin oxidarea proteinelor tiolice (-SH) cu formarea disulfidelor (S-S) i prin cre terea raportului (-SH) i (-SH+S-S). În acest context, este interesant de notificat c , carnitina ac ioneaz ca antioxidant pentru repararea deterior rilor secundare i astfel amelioreaz activitatea glutatationului i atenuiaz ac iunea tiolilor i metioninei [97]. Aceasta denot despre faptul c corela ii majore între carnitin i concentra ia spermatozoizilor pot s existe numai din contul sporirii concentra iei intracelulare a carnitinei.

Glutationperoxidaza

Glutationperoxidaza (GSH-Px) este o enzim important , care joac un rol-cheie în detoxicarea peroxidelor lipidice in sperma de coco [28, 103]. GSH-Px este un antioxidant deosebit datorit rolului s u de conversie a peroxidului de hidrogen în componente mai pu in nocive [51, 71, 22]. Aceast enzim este considerat calitativ superioar catalazei, deoarece men ine sc zut ac iunea celular a H_2O_2 [51]. GSH-Px i vitamina E sunt considerate componentele principale ale sistemului antioxidant i aceste dou componente ac ioneaz eficient, ca sinergiste în procesul de protec ie a spermei de coco împotriva stresului oxidativ [22]. GSH-Px ac ioneaz în concordan cu alte enzime, de exemplu, catalaz i poate modifica statusul unor componente structurale [51].

Acest sistem asigur protec ie împotriva peroxizilor lipidici din membranele celulelor spermatice de coco prin blocarea progresiv a lan ului de peroxidare a lipidelor. Se neutralizeaz , de asemenea, peroxidul de hidrogen, ca ini iator în peroxidarea lipidelor. GSH-Px a fost depistat , atât în plasma materialului seminal, cât i în spermato-

zoizi [103], îns exist particularit i de specie în activitatea i dislocarea GSH-Px în sperma de p s ri. Surai i al. [103] au demonstrat c cea mai mare activitate a GSH-Px se înregistreaz în plasma seminala de curcan i cea mai mic la ra e i g t e.

GSH-Px este o enzim dependent de seleniu i, dac acest microelement este deficitar în ra ie, materialul seminal poate fi vulnerabil la atacul de peroxidare a lipidelor. Surai i al. [103] au demonstrat c la includerea seleniului în ra ia coco ilor cre te în mod semnificativ concentra ia GSH-Px în testicule, spermatozoizi i plasma seminal . Acest efect de protec ie a fost mai pronunat în sperma stocat un oarecare timp, comparativ cu materialul seminal proasp t recoltat. Prin urmare, s-a men ionat c GSH-Px selendependent (Se-GSH-Px), reprezint mai mult de 75% din totalul activit ii enzimatice a spermilor de coco i mai mult de 60% în testiculele de coco . Surai i al. [103] au concluzionat c adaosul de 0,3 mg/kg de seleniu spore te activitatea GSH-Px i îmbun t e te protec ia împotriva peroxidarii lipidelor. De asemenea, autorii [103] au depistat i faptul, c includerea lui în ra ia coco ilor de rasa Rhode Island Red a produs o stimulare semnificativ a activit ii GSH-Px în plasma seminala, spermatozoizi i testicule.

Superoxiddismutaza

Superoxiddismutaza (SOD) este un component important al plasmei seminale i joac un rol esen ial în echilibrul dintre generarea ROS i degradarea purit ii anionului de superoxid [22, 51]. SOD modific anionul de superoxid în peroxid de hidrogen, care ulterior se transform în ap [51]. Sc derea concentra iei de SOD a coincis cu mobilitatea anormal a spermei [16].

Materialul seminal aviar întrune te dou variet i de SOD, forma mitocondrial (Mn-SOD) i forma citoplasmatic (Cu,Zn-SOD). Exist particularit i de specie în activitatea i distribu ia SOD în material seminal al p s rilor. De exemplu, Mn-SOD este principala varietate a acestei enzime în spermatozoizi aviari, variind de la 57% (la coco), la 69% (la alte specii) din totalul SOD [103]. Mn-SOD, prioritar, este prezent în spermatozoizi, în timp ce Cu,Zn-SOD se afl în plasma seminala [103].

SOD este sintetizat i reglementat endogen i func ioneaz în cooperare cu alte enzime, cum ar fi GSH-Px [51]. O cantitate semnificativ de SOD este secretat de epididim. Aceast enzim purific anionul de superoxid extra- i intracelular, precum i inhib peroxidarea lipidelor din membranele spermatice [22, 51]. De asemenea, ac ioneaz împotriva peroxidului de hidrogen prin conjugarea sa cu catalaza sau GSH-Px [42, 51]. SOD preîntâmpin hiperactiva ia i capacita ia prematur cauzate de radicalii de superoxid înainte de ejaculare [16]. Pe baza studiilor in vitro, Froman i Thurston [28] au constatat o cantitate minor de SOD în modelele probelor de material seminal de curcan, examinarea c ror paralel a stabilit o sensibilitate mai înalt la stresul oxidativ comparativ cu sperma de coco .

Concluzii

Ameliorarea fertilit ii masculine a fost în centrul cercet rilor majore din domeniul conserv rii spermei de coco din ultimele decenii. O mai bun în alegere a mecanismelor de derulare a spermatogenezei a predeterminat studierea diver ilor factori, ca produ i de remediere a fertilit ii sc zute. Datele actuale demonstreaz propriet i foarte benefice ale factorilor epigenetici, îns concluzii definitive din studiile existente nu

pot fi f cute numai în derularea spermatogenezei, deoarece nu este singura cauz a infertilit ii coco ilor. Dozele i durata de aplicare a factorilor sunt critice i specifice, mai cu seam , c cercet torii nu au stabilit nivelele necesare ale ac iunilor factoriale concrete, în scopuri fiziologice normale ale spermatogenezei. Unele studii au ar tat, de asemenea, lipsa de eficien a folosirii factorilor esen iali asupra parametrilor spermei. Pe de alt parte, doze de niveluri ridicate au demonstrat, fie nici un efect asupra calit ii materialului seminal sau efecte negative. Indiferent de cele men ionate, exist dovezi ample în avantajele utiliz rii factorilor sus men iona i pentru a îmbun t i calitatea materialului seminal, care a putut fi afectat la expunerea carenelor sau a nivelurilor ridicate a lor în procesul de men inere, reglare, protec ie, stimulare etc la diverse etape evolutive ale spermatogenezei la coco . Drept solu ie ar servi stabilirea optim a tipurilor, dozelor i duratelor de ac iune a factorilor, care ar putea fi utilizate în derularea parametrilor studia i pentru a spori propriet ile biologice ale materialului seminal. În plus, numeroase cercet ri multicentrice i un num r mai mare de probe studiate pe eptele vaste de coco i sunt unele necesit i prioritare pentru a ob ine o imagine ampl în avantajele de perspectiv ale acestei probleme esen iale.

Bibliografia

1. *Adabi S.G. et al.* L.carnitine effects on quantity and quality of African black neck ostrich sperm. // *Journal of Veterinary and Animal Advance*, 2008, 7, 51-55.
2. *Agarwal A. and Prakaran S.A.* Oxidative stress and antioxidants in male fertility: a difficult balance. // *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 2005, 3, 1-8.
3. *Anciuti M.A. et al.* Effect of dietary inorganic by organic selenium (Sel-plex) on performance of broilers / *Proceedings of the 20th Annual Alltech Symposium Re-imagining the Feed Industry*, Kentucky, USA, suppl., 2004, 11, 14.
4. *Arruda J.S. et al.* Influence of replacing dietary inorganic selenium (Sel-plex) on performance of broilers. / *Proceedings of the 20th Annual Altech Symposium Re-imagining the Feed Industry*, Kentucky, USA, suppl., 2004, 11, 13.
5. *Barber S.J. et al.* Broiler breeder semen quality as affected by trace minerals in vitro. // *Poultry Science*, 2005, 84, 100-105.
6. *Bartsevich V.V. et al.* Engineered zinc finger proteins for controlling stem cell fate. // *Stem Cells*, 2003, 21, 632-637.
7. *Bedwal R.S., Bahuguna A.* Zinc, copper and selenium in reproduction. // *Cell Mol Life Sci.*, 1994, 50, 624-640.
8. *Berdanier C.D. et al.* *Advanced Nutrition and Human Metabolism*, 3rd Ed.; Wadsworth Thomson Learning: Belmont CA, 1999, 87-105.
9. *Black M.M.* Zinc deficiency and child development. // *Am J. Clin. Nutr.*, 2000, 68, 4645-4695.
10. *Boa-Amponsem K. et al.* Antibody responses of hens fed vitamin E and passively acquired antibodies of their chicks. // *Avian Diseases*, 2001, 45, 122-127.
11. *Boran C., Ozkan K.U.* The effect of zinc therapy on damaged testis in prepubertal rats. // *Pediatr Surg Int.*, 2004, 20, 444-448.
12. *Chi Z.H. et al.* ZNT7 and Zn²⁺ are present in different cell populations in the mouse testis. // *Histol Histopathol.*, 2009, 24, 25-30.
13. *Ciochină V., Furdul V.* Dezvoltarea fiziologiei i sanocreatolgiei. Rezultate i perspective. // *Buletinul Academiei de tiin e a Moldovei*, 2006, 1, 12-18.
14. *Ciofu C.* Nutri ie si alimentatie. In: *Ciofu E., Pediatrie*, ed. I, 2001, 90-92.

15. Costello L.C. *et al.* Metallothionein can function as a chaperone for zinc uptake transport into prostate and liver mitochondria. // *J Inorg Biochem.*, 2004, 98, 664-666.
16. DeLamirande, E. and Gagnon C. Human sperm hyperactivation in whole semen and its association with low superoxide scavenging capacity in seminal plasma. // *Fertility and Sterility*, 1995, 59, 1291-1295.
17. Dimitrova S.G. *et al.* Effect of organic selenium on turkey semen quality during liquid storage. // *Animal Reproduction Science*, 2007, 100, 311-317.
18. Dobrescu O. Vitamin C addition to breeder diets increase turkey semen production. *Feedstuffs*, 1987, 59, 18.
19. Donoghue A.M. and Donoghue D.J. Effects of water- and lipid-soluble antioxidants on turkey sperm viability, membrane integrity, and motility during liquid storage. // *Poultry Science*, 1997, 76, 1440-1445.
20. Edens F.W. and Sefton A.E. Selenomethionine supplementation to diets of broiler breeders improves performance. // *Poultry Science*, 2002, 81, 91.
21. Edens F.W. *et al.* Influence of selenium yeast (Sel-plex) on performance and carcass yield of broiler males grown in a cage environment. / *Proceedings of the 20th Annual Alltech Symposium Re-imagining the Feed Industry*, Kentucky, USA, suppl. 2004, 11, 31.
22. Eid Y. *et al.* Vitamin E supplementation reduces dexamethasone-induced oxidative stress in chicken semen. // *British Poultry Science*, 2006, 47, 350-356.
23. Elansary E. *et al.* Effect of ascorbic acid on semen characteristics of Alexandria cockerels under hot ambient temperatures. // *Poultry Science*, 1999, 78, 35.
24. Elgazar V. *et al.* Zinc-regulating proteins, ZnT-1, and Metallothionein I/II are present in different cell populations in the mouse testis. // *J Histochem Cytochem.*, 2005, 53, 905-912.
25. El-Tawil A.M. Zinc deficiency in men with Crohn's disease may contribute to poor sperm function and male infertility. // *Andrologia*, 2003, 35, 337-341.
26. Freedman L.P. Anatomy of the steroid receptor zinc finger region. // *Endocrine Rev.*, 1992, 13, 129-145.
27. Froman D.P. Deduction of a model for sperm storage in the oviduct of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). // *Biology of Reproduction*, 2003, 69, 248-253.
28. Froman D.P. and Thurston R.J. Chicken and turkey spermatozoal superoxide dismutase: a comparative study. // *Biology of Reproduction*, 1981, 24, 193-200.
29. Fujihara N. and Howarth J.R.B. Lipid peroxidation in fowl spermatozoa. // *Poultry Science*, 1978, 57, 1766-1768.
30. Gous R.M. and Morris T.R. Nutritional interventions in alleviating the effects of high temperatures in broiler production. // *World's Poultry Science Journal*, 2005, 61, 463-475.
31. Govin J. *et al.* The role of histones in chromatin remodelling during mammalian spermiogenesis. // *Eur J Biochem.*, 2004, 271, 3459-3469.
32. Gropper S.S. *et al.* *Advanced Nutrition and Human Metabolism*, 4th Ed.; Thomson Wadsworth Publishing Co.: Belmont CA, 2005, 600.
33. Guan Z. *et al.* Kinetic identification of a mitochondrial zinc uptake transport process in prostate cells. // *J Inorg Biochem.*, 2003, 97, 199-206.
34. Harris W.P. *et al.* Effect of ascorbic acid medication on semen metal levels. // *Fertility and Sterility*, 1974, 32, 455-459.
35. Hemingway R.G. The influences of dietary intakes and supplementation with selenium and vitamin E on reproduction diseases and reproductive efficiency in cattle and sheep. // *Vet. Res. Comm.*, 2003, 27, 159-174.
36. Henkel R. *et al.* Molecular aspects of declining sperm motility in older man. // *Fert Ster.*, 2005, 84, 1430-1437.
37. Hidirglou M., Knipfel J.E. Zinc in mammalian sperm: A review. // *J Dairy Sci.*, 1984, 67, 1147-1156.

38. Hirano T. *Et al.* Improvement and biological applications of fluorescent probes for zinc, ZnAFs. // *J Am Chem Soc.*, 2002, 124, 6555-6562.
39. Ho L.H. *et al.* Labile zinc and zinc transporter ZnT4 in mast cell granules: Role in regulation of caspase activation and NF- B translocation. // *J Immunol.*, 2004, 172, 7750-7760.
40. Hudson B.P. *et al.* Live performance and immune responses of straight-run broilers: influences of zinc source in broiler breeder hen and progeny diets and ambient temperature during the broiler production period. // *Journal of Applied Poultry Research*, 2004, 13, 291-301.
41. Jankowski-Henning M.A. *et al.* Zinc-deficient rat embryos have increased caspase 3-like activity and apoptosis. // *Biochem Biophys Res Commun.*, 2000, 271, 250-256.
42. Jeulin C. *et al.* Catalase activity in human spermatozoa and seminal plasma. // *Gamete Research*, 1989, 24, 185-196.
43. Khan R.U. Antioxidants and poultry semen quality. // *World's Poultry Science Journal*, 2011, 67, 297-308.
44. Kidd M.T. Vitamins, Minerals and Micronutrients. Biology of breeding poultry. / Poultry science symposium series, 2009, 29, 361-373.
45. Lachaud C. *et al.* Apoptosis and necrosis in human ejaculated spermatozoa. // *Hum Reprod.*, 2004, 19, 3, 607-610.
46. Lara Tamburrino *et al.* Mechanisms and clinical correlates of sperm DNA damage. // *Asian Journal of Andrology*, 2012, 14, 24-31.
47. Leduc F. *et al.* DNA damage response during chromatin remodeling in elongating spermatids of mice. // *Biol Reprod.*, 2008, 78, 324-32.
48. Leng R. *et al.* Comparative metabolic and immune responses of chickens fed diets containing inorganic selenium and Sel-plex M organic selenium. / *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries*, Lyons, T.P. and Jaques K.A. Eds., 2003, 131-145.
49. Leonhard M.S. Why do trace elements have an influence on fertility? // *Tierarztl Prax.*, 2000, 28, 60-65.
50. Levis Sheena E.M. Is sperm evaluation useful in predicting human fertility? // *Reproduction*, 2007, 134, 1, 31-40.
51. Lin Y.F. *et al.* Effects of supplemental vitamin E during the mature period on the reproduction performance of Taiwan native chicken cockerels. // *British Poultry Science*, 2005, 46, 366-373.
52. Marchiani S. *et al.* Characterization of M540 bodies in human semen: evidence that they are apoptotic bodies. // *Mol. Hum. Reprod.*, 2007, 13, 621-631.
53. Marcon L., Boissonneault G. Transient DNA strand breaks during mouse and human spermiogenesis new insights in stage specificity and link to chromatin remodeling. // *Biol. Reprod.*, 2004, 70, 910-918.
54. McDaniel C.D. *et al.* Use of a sperm quality analyzer for evaluating broiler breeder males: Effects of altering sperm quality and quantity on the sperm motility index. // *Poultry Science*, 1998, 77, 888-893.
55. McDaniel C.D. *et al.* An attempt to alleviate heat stress infertility in male broiler breeder chicken with dietary ascorbic acid. // *International Journal of Poultry Science*, 2004, 3, 593-602.
56. McDowel L. R. Vitamins in Animal Nutrition. Academic Press, Inc., San Diego., 1989, SF98, 5, 32.
57. McDowel L. R. Minerals in Animal and Human Nutrition. Academic Press, Inc., San Diego., 1992, QP53, 3, 37.
58. Merker H.J., Günther T. Testis damage induced by zinc deficiency in rat. // *J Trace Element*, 1997, 11, 19-22.
59. Meyer-Ficca M.L. *et al.* Poly (ADP-ribose) polymerases PARP1 and PARP2

modulate topoisomerase II beta (TOP2B) function during chromatin condensation in mouse spermiogenesis. // *Biol. Reprod.*, 2011, 84, 900-909.

60. *Miura T. et al.* Comparative studies between in vivo and in vitro spermatogenesis of Japanese eel (*Anguilla japonica*). // *Zool Sci.*, 2002, 19, 321-329.

61. *Miura T. et al.* Progesterin is an essential factor for the initiation of the meiosis in spermatogenic cell of the eel. // *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103, 7333-7338.

62. *Miura T., Miura C.* Japanese eel: A model for analysis of spermatogenesis. // *Zool Sci.*, 2001, 18, 1055-1063.

63. *Miura T. et al.* Hormonal induction of all stages of spermatogenesis in vitro in the male Japanese eel (*Anguilla japonica*). // *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88, 5774-5778.

64. *Morisawa M., Yoshida M.* Activation of motility and chemotaxis in the spermatozoa: From invertebrates to humans. // *Reprod Med Biol.*, 2005, 4, 101-114.

65. *Narahari D. et al.* Sel-plex spares vitamin E in egg yolk of commercial layers. / *Proceedings of the 20th Annual Altech Symposium Re-imagining the Feed Industry*, Kentucky, USA, suppl., 2004, 11, 18.

66. *Neuman S.L. et al.* The effect of dietary carnitine on semen trait of white leghorn roosters. // *Poultry Science*, 2002, 81, 495-503.

67. *Neve J. et al.* Selenium supplementation in healthy Belgian adults: response in platelet glutathione peroxidase activity and other blood indices. // *Am J Clin Nutr.*, 1988, 48, 1, 139-143.

68. *Niki E.* Function of vitamin E as antioxidant in the membranes, in: Mino M., Nakamura N., Diplock A. & Kayden H. (Eds) *Vitamin E: Its Usefulness in Health and Curing Diseases*. Japan Scientific Societies Press, 1993, 23.

69. *Nockels C.F.* Effects of ascorbic acid on chicken metabolism, in: *Workshop. Ascorbic Acid in Domestic Animals*. Ed. Wegger I., Tagwerker F.J. & Moustgaard J. Royal Danish Agri. Soc. (Copenhagen), 1984, 175-184.

70. *Nowaczewski S. and Kontecka H.* Effect of dietary vitamin C supplement on reproductive performance of aviary pheasants. // *Czech Journal of Animal Science*, 2005, 50, 208-212.

71. *Olafsdottir K. and Reed D.J.* Retention of oxidized glutathione by isolated rat liver mitochondria during hydroperoxide treatment. // *Biochica et Biophysica Acta*, 1988, 964, 377-382.

72. *Olesen C. et al.* Tesmin transcription is regulated differently during male and female meiosis. // *Mol Reprod Dev.*, 2004, 67, 116-126.

73. *Pappas A.C. et al.* Maternal organo-selenium compounds and polyunsaturated fatty acids affect progeny performance and levels of selenium and docosahexaenoic acid in the chick tissues. // *Poultry Science*, 2006, 85, 1610-1620.

74. *Pappas A.C.* The selenium intake of the female chicken influences the selenium status of her progeny. // *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 2005, 142, 465-474.

75. *Pardue S.L. and Thaxton J.P.* Ascorbic acid in poultry: a review. // *World's Poultry Science Journal*, 1986, 42, 107-123.

76. *Peebles E.D. and Brake J.* Relationship of dietary ascorbic acid to broiler breeder performance. // *Poultry Science*, 1985, 64, 2041-2048.

77. *Perdichizzi A. et al.* Effects of tumour necrosis factor-alpha on human sperm motility and apoptosis. // *J Clin Immunol.*, 2007, 27, 152-162.

78. *Prasad A.S.* Zinc deficiency. // *British Med J.*, 2008, 326, 409-410.

79. *Raicu Florina și al.* Rolul proteinelor de legare la ARN în spermatogeneza și infertilitatea masculină. *Progrese în Biotehnologie*. Editura Ars Docendi: 2002, 2, 133-141.

80. *Rana U. et al.* Zinc binding ligands and cellular zinc trafficking: Apo- metallothionein, glutathione, TPEN, proteomic zinc, and Zn-sp1. // *J Inorg Biochem.*, 2008, 102, 489-499.

81. *Roșca N.* Modificările morfofuncționale ale gameilor de tauri și cocoșii în dependen

- de modalitatea stres rii animalelor: Autoref. tezei... de doct. t. biol. Chi in u, 2000, 22.
82. Rossi P. et al. Analysis of the gene expression profile of mouse male meiotic germ cells. // Gene Expr Patterns, 2004, 4, 267-281.
83. Rotruck I. I. Discovery of the role of selenium in glutathione peroxidase. In: Selen. in biology and medicine. Spallholz I., Martin I. L., Ganther H. (eds.), 1981, 10-15.
84. Rotruck J.T. et al. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. // Science, 1973, 179, 588-590.
85. Rutz F. et al. Meeting selenium demands of modern poultry: responses to Sel-plex TM organic selenium in broiler and breeder diets, Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries, Lyons, T.P. and Jaques K.A. Eds., 2003, 147-161.
86. Şara A., Antonina Odagiu. Disponibilitatea probioticelor i mineralelor în cre terea ecologic a animalelor. ProEnvironment, 2008, 2, 89-93.
87. Şara, A. şi al. Efectele utiliz rii mineralelor organice in nutri ia animalelor. Buletin USAMVCN, seria ZB, 2004, 60, 100-103.
88. Sarica S. et al. The effect of dietary L.carnitine supplementation on semen trait, reproductive parameter and testicular histology of Japanese quail breeders. // Journal of Applied Poultry Research, 2007, 16, 178-186.
89. Schlegel P.N., Paduch D.A. Yet another test of sperm chromatin structure. // Fertil Steril., 2005, 84, 4, 854-859.
90. Sharma R.K. and Agarwal A. Role of reactive oxygen species in male infertility. // Journal of Urology, 1996, 48, 835-850.
91. Siegel P.B. et al. Performance of pureline broiler breeders fed two levels of vitamin E. // Poultry Science, 2001, 80, 1258-1262.
92. Sikka S.C. et al. Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. // Journal of Andrology, 1995, 16, 464-468.
93. Simon L. et al. Sperm DNA damage measured by the alkaline Comet assay as an independent predictor of male infertility and in vitro fertilization success. // Fertil Steril., 2011, 95, 2, 652-657.
94. Sørensen M.B. et al. Histochemical tracing of zinc ions in the rat testis. // Mol Hum Reprod., 1998, 4, 423-428.
95. Sørensen M.B. et al. Chelation of intracellular zinc ions affects human sperm cell motility. // Mol Human Reprod., 1999, 5, 338-341.
96. Stoltenberg M. et al. Autometallographic demonstration of zinc ion in rat sperm cell. // Mol Hum Reprod., 1997, 3, 763-767.
97. Stradaoli G. et al. Effect of L.carnitine administration on the seminal characteristics of oligoasthenospermic stallions. // Theriogenology, 2004, 62, 761-777.
98. Sun J.G. et al. Detection of deoxyribonucleic acid fragmentation in human sperm: correlation with fertilization in vitro. // Biology of Reproduction, 1997, 56, 602-607.
99. Supuran C.T. et al. Carbonic anhydrase inhibitors // Med Res Rev., 2003, 23, 146-189.
100. Surai P.F. Mineral and anti-oxidants. In: Taylor-Pickard, J.A. and Tucker, L.A. (eds) Redefining Mineral Nutrition. Nottingham University Press, Nottingham, UK, 2005, 147-177.
101. Surai P.F. et al. Phospholipids fatty acid composition, vitamin E content and susceptibility to lipid peroxidation of duck spermatozoa. // Theriogenology, 2000, 53, 1025-1039.
102. Surai P.F. et al. Selenium distribution in the eggs of ISA Brown commercial layers, Proceedings of the 20th Annual Alltech Symposium Reimaging the Feed Industry, Kentucky, Usa, suppl., 2004, 11, 17.
103. Surai P.F. et al. Effect of vitamin E and selenium supplementation of cockerel diets on glutathione peroxidase activity and lipid peroxidation susceptibility in sperm, testes, and liver. // Biology of Trace Element Research, 1998, 64, 119-132.

104. *Surai P.F. et al.* The relationship between the dietary provision of alpha-tocopherol and the concentration of this vitamin in the semen of chicken: effects on lipid composition and susceptibility to peroxidation. // *Journal of Reproduction and Fertility*, 1997, 110, 47-51.
105. *Surai P.F. et al.* Comparative aspect of lipid peroxidation and antioxidant protection in avian semen, in: Speake, B.K., Sparks, N.H.C. & Surai, P.F. (Eds) *Male Fertility and Lipid Metabolism*, 2003, 211-249.
106. *Truong-Tran A.Q. et al.* The role of zinc in caspase activation and apoptotic cell death. // *Biometals*, 2001, 14, 315-330.
107. *Turner R. M.* Moving to the beat: A review of mammalian sperm motility regulation. // *Reprod Fert Develop.*, 2006, 18, 25-38.
108. *Vilfan I.D. et al.* Formation of native-like mammalian sperm cell chromatin with folded bull protamine. // *J Biol Chem.*, 2004, 279, 9, 20088-20095.
109. *Wishart G.J.* Effects of lipid peroxide formation in fowl semen on sperm motility, ATP content and fertilising ability. // *Journal of Reproduction and Fertility*, 1984, 71, 113-118.
110. *Yamaguchi S. et al.* Effects of lead, molybdenum, rubidium, arsenic, and organochlorines on spermatogenesis in fish: Monitoring at Mekong Delta area and in vitro experiment. // *Aquat Toxicol.*, 2007, 83, 43-51.
111. *Yamaguchi S. et al.* Zinc is an essential trace element for spermatogenesis. // *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106, 26, 10859-10864.
112. *Yaroshenko F.O. et al.* Selenium-enriched chicken production in Ukraine. / *Proceedings of the 20th Annual Alltech Symposium Re-imagining the Feed Industry, Kentucky, USA*, suppl., 2004, 11, 131.
113. *Zhai W. et al.* The effect of dietary L-carnitine on semen traits of White Leghorns. // *Poultry Science*, 2007, 86, 2228-2235.
114. *Zhang X. et al.* Body weight and semen production of broiler breeder males as influenced by crude protein levels and feeding regimens during rearing. // *Poultry Science*, 1997, 78, 190-196.
115. *Балан И.В.* В ... : А ... К ... , 1992, 17.
116. *Борончук Г.В.* - ... : ... , 1998, 32.
117. *Борончук Г.В., Балан И.В.* ... h.: *Tipografia A M*, 2003, 336.
118. *Борончук Г.В., Балан И.В.* - ... h.: *Tipografia A M*, 2008, 633.
119. *Наук В.А.* ... : ... , 1991, 200.
120. *Пономаренко Ю. А. и др.* ... : ... , 2009, 655.
121. *Струтинский Ф. А.*Ch.: *Tipografia A. M*, 2006, 408.
122. *Фисинин В.И. и др.* ... : ... 2003, 375.
123. *Фурдуй Ф. И., Чокинэ В.К., Вуду Г.А. и др.* ... // *Buletinul Academiei de tiin e a Moldovei*. 2002. 2. 30-39.
124. *Фурдуй Ф. И., Чокинэ В.К., Вуду Г.А. и др.*

- . // Buletinul
Academiei de tiin e a Moldovei, 2002, 2, 40-45.
125. Фурдуй Ф. И., Чокинэ В.К., Фурдуй В.Ф.
. // Buletinul Academiei de tiin e a Moldovei, 2008, 1, 4-14.
126. Фурдуй Ф.И.
h.: Tipografia A M, 2005, 16-35.
127. Фурдуй Ф.И.
: , 1986, 240.
128. Фурдуй Ф.И., Чокинэ В.К., Фурдуй В.Ф. и др.
. // Buletinul A M. tiin ele
vie ii, 2005, 1, 4-14.
129. Чокинэ В.К.
h.: Tipografia A M, 2005, 234-242.
130. Чокинэ В.К.
. // Buletinul
Academiei de tiin e a Moldovei, 2002, 45-60.
131. Шептицкий В.А.
. // Buletinul Academiei de tiin e a Moldovei, 2003, 2, 54-69.