

# Biokemijski pokazatelji u sjemennoj plazmi životinja i ljudi

---

Švub, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:264825>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-10**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -  
Repository of PHD, master's thesis](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET

IVANA ŠVUB

**BIOKEMIJSKI POKAZATELJI U SJEMENOJ  
PLAZMI ŽIVOTINJA I LJUDI**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2018.

Naziv zavoda ili klinike: Zavod za fiziologiju i Klinika za porodništvo i reprodukciju

Predstojnik: prof. dr. sc. Suzana Milinković-Tur

prof. dr. sc. Marko Samardžija

Mentori: prof. dr. sc. Marko Samardžija

doc. dr. sc. Ivona Žura Žaja

Članovi Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. izv. prof. dr. sc. Silvijo Vince
2. prof. dr. sc. Marko Samardžija
3. doc. dr. sc. Ivona Žura Žaja
4. doc. dr. sc. Ivan Folnožić (zamjena)

## **ZAHVALA**

Zahvaljujem svojim mentorima prof. dr. sc. Marku Samardžiji i doc. dr. sc. Ivoni Žura Žaja što su omogućili izradu ovog diplomskog rada pod svojim vodstvom. Hvala vam na izdvojenom vremenu i svoj potrebnoj literaturi, kao i na vašim stručnim i kvalitetnim savjetima koji su doprinijeli izradi ovog rada.

Veliko hvala obitelji i svim prijateljima koji su tijekom cijelog studiranja bili moja velika potpora. Najveću zahvalnost iskazujem roditeljima i braći na svesrdnoj podršci u svim trenucima školovanja.

# SADRŽAJ

|                                      |    |
|--------------------------------------|----|
| <b>1. UVOD</b> .....                 | 1  |
| <b>2. LIPIDI</b> .....               | 4  |
| 2.1. Triacilgliceroli .....          | 4  |
| 2.2. Fosfolipidi .....               | 6  |
| 2.3. Kolesterol .....                | 7  |
| <b>3. BJELANČEVINE</b> .....         | 11 |
| 3.1. Kisela fosfataza .....          | 12 |
| 3.2. Alkalna fosfataza .....         | 13 |
| 3.3. Gama glutamil transferaza ..... | 14 |
| 3.4. Laktat dehidrogenaza .....      | 15 |
| 3.5. Kreatin kinaza .....            | 16 |
| <b>4. MINERALI</b> .....             | 20 |
| 4.1. Kalcij .....                    | 20 |
| 4.2. Magnezij .....                  | 22 |
| 4.3. Cink .....                      | 24 |
| <b>5. ZAKLJUČCI</b> .....            | 27 |
| <b>6. LITERATURA</b> .....           | 28 |
| <b>7. SAŽETAK</b> .....              | 38 |
| <b>8. SUMMARY</b> .....              | 39 |
| <b>9. ŽIVOTOPIS</b> .....            | 40 |

## **POPIS KRATICA**

**ACP:** kiselna fosfataza (engl. *acid phosphatase*)

**ALP:** alkalna fosfataza (engl. *alaline phosphatases*)

**AST:** aspartat aminotransferaza (engl. *aspartate aminotransferase*)

**CK:** kreatin kinaza (engl. *creatine kinase*)

**CM:** hilomikroni (engl. *chylomicrons*)

**GGT:** gama-glutamil transferaza (engl. *gamma glutamil transferase*)

**LDH:** laktat dehidrogenaza (engl. *lactate dehydrogenase*)

**VLDL:** lipoproteini vrlo male gustoće (engl. *very low density lipoprotein*)

## 1. UVOD

Sjeme se sastoji od spermija i sjemene plazme (Slika 1.). Sjemeni plazma je tekućina koja nastaje miješanjem produkata akcesornih spolnih žlijezda te u manjoj mjeri produkata testisa, epididimisa i sjemenovoda. Isto tako, sadrži razne biokemijske komponente: glukozu, fruktozu, kolesterol, bjelančevine, metabolite, antioksidativne enzime te minerale i vitamine koji su nužni za održivost i pokretljivost spermija, njihovu zaštitu, transport i preživljavanje u ženskom spolnom sustavu te sposobnost oplodnje. Tijekom ejakulacije spermiji prolazi kroz sjemenovode, mokraćnicu te se spajaju s plazmom iz žlijezda tvoreći sjeme (DABROVICH i sur., 2014.).

Sjemeni plazma dobiva sve više na važnosti, kako se ustanovilo da spermiji, njihova brojnost i pokretljivost, nisu jedino mjerilo uspjeha oplodnje. Veliku ulogu ima i pri razrjeđivanju i krioprezervaciji sjemena te kasnije na pokretljivost i sposobnost oplodnje spermija. Također je spermijima izvor hrane, siguran medij za transport prilikom kojeg pruža zaštitu od oksidacijskog stresa te osigurava nutrijente potrebne za kapacitaciju i oplodnju. Vitalnost i gibljivost spermija ovisi o metaboličkim procesima pri kojima se razgradnjom ugljikohidrata, masti i bjelančevina oslobađa energija.

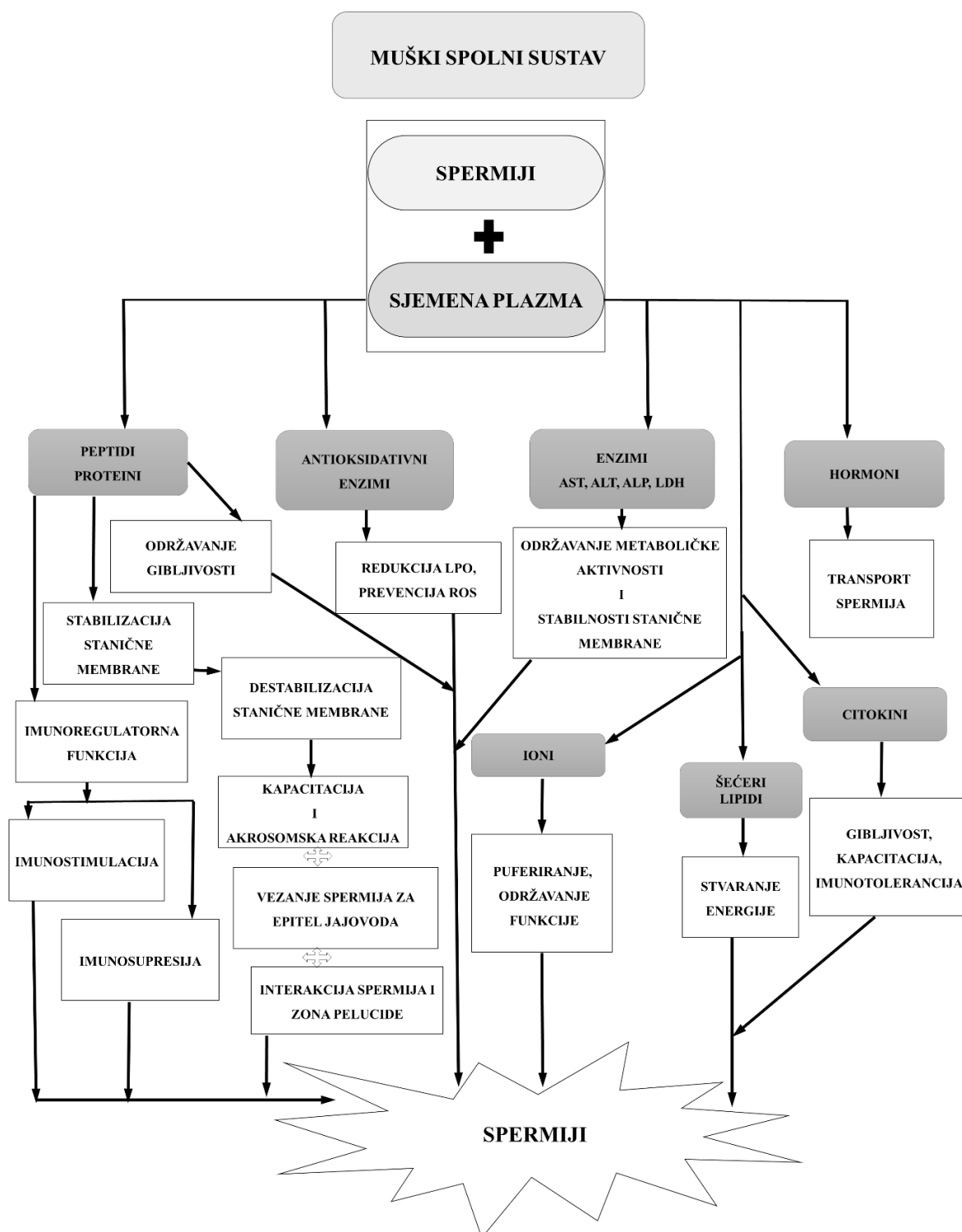
Biokemijski sastav i volumen sjemene plazme varira, razlike su prije svega ovisne o vrsti zbog različitih aktivnosti određenih akcesornih spolnih žlijezda. Nadalje, razlike se javljaju unutar vrste i pasmine, a čak niti ista jedinka nema uvijek jednaki sastav sjemene plazme. Na to često utječu vanjski čimbenici kao što su: hranidba, smještaj, mikroklimatski uvjeti te razdoblje u godini, posebice u sezonski poliestričnih životinja.

Biokemijski pokazatelji u sjemeni plazmi su mjerilo funkcije ili disfunkcije testisa i akcesornih spolnih žlijezda ili se odnose na kakvoću sjemena i rasplodnu učinkovitost ili neplodnost (ŽURA ŽAJA, 2015.). Prostata izlučuje sekret bogat proteolitičkim enzimima, lipidima i citratima. Sekret sjemenih vrećica i prostate je alkalni što je važno za aktivaciju i preživljavanje spermija u kiselj sredini ženskog spolnog sustava. Bulbouretralne žlijezde izlučuju galaktozu, salicilnu kiselinu i mukozu koji služe kao lubrikanti te omogućuju uspješniji transport spermija.

Nekoliko istraživanja u različitim vrstama ustvrdilo je sljedeće funkcije sjemene plazme: 1) aktivaciju i povećanje gibljivosti spermija, 2) puferiranje, koje osigurava optimalni osmotski i hranjivi medij, 3) prevenciju prijevremene aktivacije tijekom fiziološkog

transporta spermija te stabilizaciju stanične membrane, 4) zaštitu spermija od fagocitoze i razaranja u upalnim procesima, 5) reguliranje transporta i eliminacije odumrlih spermija, 6) poboljšanje interakcije spermija i jajne stanice (JUYENA I STELLETTA, 2012.), 7) stimulaciju imunskog sustava sluznice maternice za neutralizaciju patogena, a da pri tome tolerira spermije i zametke (RODRIGUEZ-MARTINEZ i sur., 2011.) (Slika 1.).





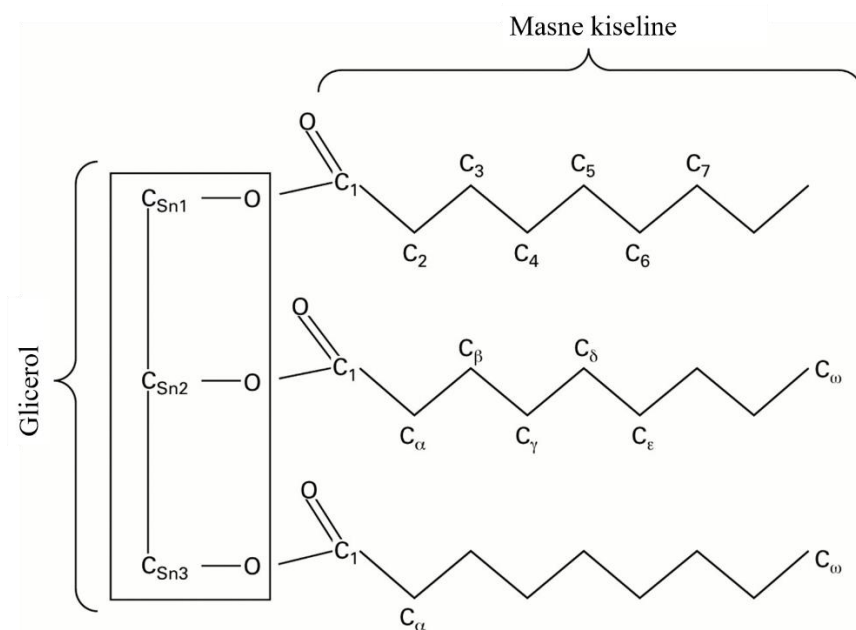
**Slika 1.** Kratki prikaz funkcije sjemene plazme i njenih biokemijskih komponenti. Prikaz je usmjeren na glavne biokemijske komponente, njihove funkcije u sjemennoj plazmi te utjecaj na spermije. Kratice: AST, aspartat aminotransferaza; ALT, alanin aminotransferaza; ALP, alkalna fosfataza; LDH, laktat dehidrogenaza; LPO, lipidna peroksidacija; ROS, reaktivni kisikovi spojevi (prema JUYENA i STELLETTA, 2012.).

## 2. LIPIDI

Lipidi se u ejakulatu nalaze unutar stanične membrane spermija i dio su sjemene plazme ključni za funkciju spermija. U lipide pripadaju triacilgliceroli, fofolipidi, kolesterol, diacilglicerol i voštani esteri. Lipidi u ejakulatu, a posebice fosfolipidi i kolesterol imaju važnu funkciju u strukturi i funkciji stanične membrane spermija (CROSS, 1998.). Sudjeluju i u metabolizmu i kapacitaciji spermija, hiperaktivaciji i akrosomskoj reakciji te oplodnji jajne stanice (JUYENA i STELLETTA, 2012.). U nedostatku supstrata za glikolizu, endogeni i egzogeni lipidi imaju znatnu funkciju u opskrbi spermija energijom za njihovu pokretljivost i održivost. Lipidi se u sjemenoj plazmi sintetiziraju u prostati, epididimisima i spermijima (PICKETT i KOMAREK, 1966., JACYNO i sur., 2009.).

### 2.1. Triacilgliceroli

Triacilgliceroli su esteri glicerola i masnih kiselina, nastaju vezanjem tri masne kiseline na tri hidroksilne skupine glicerola (Slika 2.). Pripadaju u skupinu jednostavnih i neutralnih masti. Funkcija u organizmu im je pohrana energije, a koriste se i u sintezi drugih masti poput kolesterola. Zbog netopljivosti u vodi, triacilgliceroli se vežu za jednu od dvije podskupina lipoproteina, lipoproteine vrlo male gustoće (engl. *very low density lipoprotein*, VLDL) ili hilomikrone (engl. *chylomicrons*, CM) koji im omogućuju intravaskularni transport (HEEREN i sur., 1999.).



Slika 2. Građa triacilglicerola

Žlijezde muškog reproduktivnog sustava izlučuju triacilglicerole u sjemenu plazmu (VIGNON i sur., 1992.). Inkubacija humanih spermija u sjemenjnoj plazmi ukazuje da spermiji u aerobnim uvjetima koriste triacilglicerole za svoj metabolizam (BEER-LJUBIĆ i sur., 2009.). ARGOV i sur. (2007.) su dokazali prisutnost receptora za lipoproteine vrlo male gustoće (VLDLr) na spermijima bikova, što ukazuje na mehanizam kojim spermiji koriste izvanstanične lipide.

ABDEL AZIZ i sur. (1983.) su odredili koncentraciju fruktoze, slobodnih masnih kiselina i aktivnosti lipaze u sjemenu normospermatičnih, oligospermatičnih i azospermatičnih muškaraca neposredno i dva sata nakon likvefakcije ejakulata. Koncentracija fruktoze i slobodnih masnih kiselina znatno se smanjila, dok je koncentracija triacilglicerola značajno porasla, što je bilo izraženije u spermi normospermatičnih muškaraca u odnosu na oligospermatične, a u azospermatičnih je potpuno izostala. Nadalje, navode da spermiji rabe fruktozu i slobodne masne kiseline za opskrbu energijom ili ih inkorporiraju u triacilglicerol.

SEBASTIAN i sur. (1987.) navode da je neplodnost povezana s povećanjem koncentracije većine podskupina neutralnih lipida u sjemenu. Spermiji oligospermatičnih muškaraca su imali značajno veću koncentraciju triacilglicerola u odnosu na normalne spermije, dok je značajno veća koncentracija triacilglicerola nađena u sjemenjnoj plazmi azospermatičnih muškaraca u odnosu na plodne muškarce. Ustvrđena je negativna korelacija između koncentracije neutralnih lipida u ejakulatu i plodnosti.

KULKA i sur. (1984.) nisu ustvrdili značajnu razliku u koncentraciji triacilglicerola u spermijima i sjemenjnoj plazmi među skupinama normospermatičnih, oligospermatičnih, azospermatičnih, teratospermatičnih i astenospermatičnih muškaraca.

U istraživanju ČEVIK i sur. (2007.) ustvrdili su značajnu razliku u koncentraciji triacilglicerola u sjemenjnoj plazmi između skupina bikova pasmine smeđe švicarsko govedo. Koncentracija triacilglicerola bila je značajno veća u skupini normospermatičnih bikova u odnosu na skupinu bikova s oligospermijom.

GUTZMIRIL (2013.) je ustvrdio pozitivnu korelaciju koncentracije triacilglicerola u sjemenjnoj plazmi nerasta s ukupnim brojem i brojem gibljivih spermija u jedinici volumena ejakulata te negativnu korelaciju koncentracije triacilglicerola u sjemenjnoj plazmi s volumenom ejakulata.

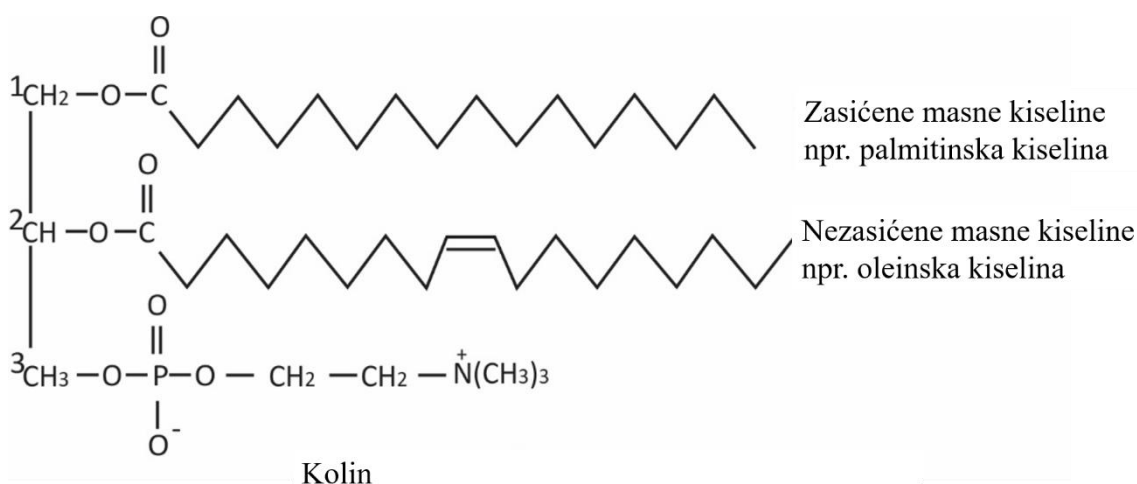
KELSO i sur. (1997.) su u sjemenjnoj plazmi starijih bikova ustvrdili manju koncentraciju triacilglicerola nego u mlađih, dok je u spermijima mlađih bikova bila gotovo dvostruko manja koncentracija triacilglicerola u odnosu na starije. Dobiveni se rezultati

moгу protumačiti većom inkorporacijom triacilglicerola u spermije starijih bikova, što prouzroči smanjenje koncentracije triacilglicerola u sjemenoj plazmi starijih bikova (ARGOV i sur., 2007.).

Dosadašnja istraživanja o funkciji triacilglicerola u muškoj plodnosti su oskudna u odnosu na fosfolipide i kolesterol. Najnovija su istraživanja usmjerena prema analizi masnokiselinskog sastava pojedinih lipida spermija i sjemene plazme u animalnoj i humanoј andrologiji.

## 2.2. Fosfolipidi

Fosfolipidi su važna skupina spojeva koja izgrađuje staničnu membranu te pripadaju u strukturne i složene lipide. Građeni su od glicerola i dvije masne kiseline vezane za hidroksilnu skupinu, za treću hidroksilnu skupinu veže se fosfat na kojeg se veže jedna od organskih skupina (Slika 3.).



Slika 3. Građa fosfolipida (kolin)

Membranske lipide, posebice fosfolipide i kolesterol, sintetiziraju glatka endoplazmatska mrežica i Golgijev aparat. Njihova se sinteza odvija uz citosolnu površinu membrane. Proces sinteze fosfolipida i sterola uključuju mitohondrije i peroksisome (FAGONE i JACKOWSKI, 2009.). Fosfolipide izlučuju epididimisi i prostata (VIGNON i sur., 1992.).

Fosfolipidi su sastavni dio membrana stanica pa tako i membrane spermija te su najzastupljeniji lipidi sjemena. Polovica je fosfolipida u sjemenoj plazmi slobodna, dok je druga polovica vezana za lipoproteine. Odnos kolesterola i fosfolipida važan je pokazatelj kapacitacijsko-dekapacitacijskih procesa (MONTAGNON i sur., 1990.).

Fosfolipidi služe spermijima za proizvodnju energije u odsustvu topljivih ugljikohidrata (JUYENA i STELLETTA, 2012.). Spermiji, čak u određenim uvjetima, mogu zamjenjivati lipide iz izvanstaničnog okoliša (CEROLINI i sur., 2001.). Lizofosfolipidi su skupina jednostavnih fosfolipida, koji su uključeni u biosintezu stanične membrane, a imaju funkciju i u akrosomalnoj egzocitozi (ROLAND, 1998., CEROLINI, 2001.).

U sjemenoj plazmi azospermičnih i oligospermičnih muškaraca je smanjena koncentracija ukupnih fosfolipida, kao i spermija oligospermičnih muškaraca. Ustvrđena je pozitivna korelacija između koncentracije fosfolipida u sjemenoj plazmi i broja spermija, odnosno plodnosti muškaraca (SEBASTIAN i sur., 1987.).

U istraživanju HUACUJA i sur. (1981.) navode nižu koncentraciju fosfolipida u sjemenoj plazmi azospermičnih muškaraca u odnosu na muškarce s plodnom spermom. Ustvrđili su izmjenu kolesterola i fosfolipida između spermija i sjemene plazme, sa značajnom korelacijom u sustavu lipida u sjemenoj plazmi s onom u spermija.

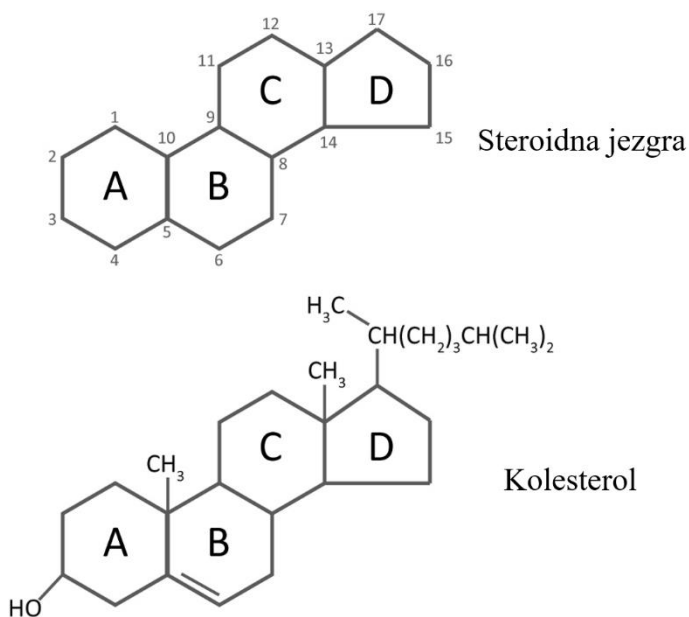
AM-IN i sur. (2011.) su među skupinama nerasta s lošom i dobrom gibljivošću spermija ustvrđili statistički značajnu razliku u koncentraciji ukupnih lipida, fosfolipida i kolesterola. Njihove su koncentracije pozitivno korelirale s gibljivošću i održivošću spermija, udjelom spermija normalne morfologije i stanične membrane.

### **2.3. Kolesterol**

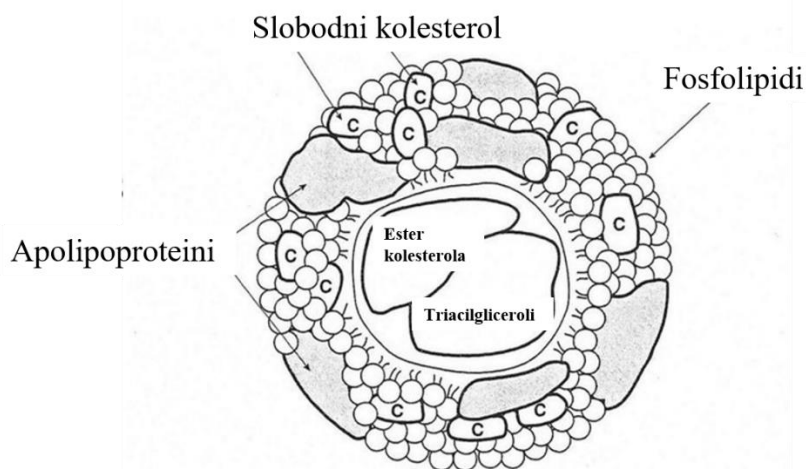
Kolesterol je jednostavni lipid iz skupine steroida. Steroidi su esteri masnih kiselina i sterolskih alkohola. Građeni su od četiri međusobno povezana ugljikova prstena te postranog lanca građenog od osam ugljikovih atoma (Slika 4.). Kolesterol je netopljiv u vodi, u serumu i sjemenoj plazmi se veže na bjelančevine tvoreći lipoproteine, lipoproteine vrlo male gustoće, lipoproteine male gustoće ili lipoproteine velike gustoće koji im omogućavaju transport u organizmu (BEER-LJUBIĆ i sur., 2009.) (Slika 5.). Veći dio kolesterola se sintetizira u jetri, a testisi, jajnici i nadbubrežna žlijezda ga sintetiziraju manjim dijelom, dok se jedan dio kolesterola unosi hranom u organizam (SHARPE i sur., 2006.).

Kolesterol je glavni sterol u ejakuliranom sjemenu sisavaca te se ponajprije nalazi u staničnoj membrani. Velika se količina kolesterola sintetizira u epididimisima, odakle se tijekom sazrijevanja spermija transportira u stanične membrane (JACYNO i sur., 2009.). Udio kolesterola u staničnoj membrani spermija se razlikuje prema vrsti životinje, ali je u svih istraživanih vrsta najzastupljeniji sterol u spermijima. Ustvrđene su pozitivne korelacije

između omjera kolesterola i fosfolipida te postotka živih i normalnih spermija dva sata nakon odmrzavanja spermija nerasta.



Slika 4. Građa kolesterola



Slika 5. Građa lipoproteina

Kolesterol regulira fluidnost stanične membrane, tijekom sazrijevanja spermija u epididimisima te tijekom kapacitacije i akrosomske reakcije u ženskom spolnom sustavu (JACYNO i sur., 2009.). Tijekom procesa kapacitacije napušta staničnu membranu spermija i veže se za bjelančevine u sjemenjnoj plazmi i bjelančevine u ženskom spolnom sustavu (BEER-LJUBIĆ i sur., 2009.).

Kolesterol je važan prekursor za nekoliko važnih steroidnih hormona koje izlučuje kora nadbubrežne žlijezde, jajnici i testisi. WISE i sur. (1993.) su ustvrdili pozitivnu korelaciju između koncentracije kolesterola i testosterona u krvnom serumu nerasta. Testosteron stimulira rast i razvoj spolnih organa, spermatogenezu i spolnu aktivnost. Kolesterol u sjemenjnoj plazmi muškaraca inhibira preuranjenu akrosomsku reakciju te pospješuje preživljavanje spermija (CROSS, 1996.). Prostata izlučuje kolesterol u sjemenjnoj plazmi koji potom štiti spermije od mogućih štetnih okolišnih čimbenika (VIGNON i sur., 1992.). U istraživanju JACYNO i sur. (2009.) ustvrdili su da koncentracija kolesterola pozitivno korelira s gibljivošću, koncentracijom i ukupnim brojem spermija, dok je u negativnoj korelaciji s udjelom morfoloških promjena spermija.

Veća količina kolesterola uvjetuje bolju otpornost spermija na osmotski šok. U sjemenjnoj plazmi azospermičnih i oligospermičnih muškaraca utvrđena je veća koncentracija ukupnog kolesterola u sjemenjnoj plazmi u odnosu na plodne muškarce (SEBASTIAN i sur., 1987.), dok MESEGUER i sur. (2004.) nisu ustvrdili razliku u koncentraciji kolesterola u sjemenjnoj plazmi među neplodnim i plodnim muškarcima.

Rezultati istraživanja AL-JANABI i sur. (2012.) ukazuju na značajnu pozitivnu korelaciju između koncentracije kolesterola u ejakulatu i koncentracije spermija. Dobiveni su rezultati u skladu s rezultatima HUACUJA i sur. (1981.) koji su utvrdili izmjenu kolesterola i fosfolipida između spermija i sjemenjne plazme sa značajnom korelacijom u sastavu lipida u sjemenjnoj plazmi s onom u spermiji. Nadalje, u azosteničnih muškaraca su utvrdili najnižu koncentraciju kolesterola i fosfolipida u sjemenjnoj plazmi, dok se koncentracija kolesterola među oligospermičnim, astenospermičnim i normospermičnim muškarcima nije razlikovala.

ČEVIK i sur. (2007.) su u istraživanju bikova pasmine smeđe švicarsko govedo ustvrdili značajnu razliku u koncentraciji kolesterola u sjemenjnoj plazmi. Koncentracija kolesterola je bila značajno veća u skupini normospermatičnih bikova u odnosu na skupinu bikova s oligospermijom.

U istraživanju bikova simentalke pasmine BEER-LJUBIĆ i sur. (2009.) su ustvrdili da je koncentracija ukupnog kolesterola u sjemenjnoj plazmi mladih bikova bila značajno veća u proljeće u usporedbi s onom u ljetnom razdoblju, dok je u starijih bikova bila značajno veća u zimskom razdoblju u usporedbi s jeseni. Uočene su promijene u koncentraciji kolesterola u sjemenjnoj plazmi povezane s potrošnjom izvanstaničnih lipida u metabolizmu spermija te su zaključili da je mjerenje koncentracije kolesterola u sjemenjnoj plazmi bikova mogući biokemijski pokazatelj kakvoće sperme.

GÜNDOĞAN (2006.) navodi da se u ovnova smanjuje koncentracija kolesterola i ukupnih lipida te gibljivost i koncentracija spermija u sjemennoj plazmi tijekom ljeta.



### 3. BJELANČEVINE

Bjelančevine sjemene plazme značajne su za pravilnu funkciju spermija i njihov transport duž ženskog spolnog sustava do jajne stanice. U značajnoj mjeri ih izlučuju epididimisi i sjemene vrećice. Specifični peptidi i proteini djeluju kao signali za modeliranje imunskog sustava ženki u netoleranciji ili toleranciji antigena sperme. Utječu na relativnu plodnost mužjaka ili para uspostavljanjem stanja majčinske tolerancije prema zametku. Bjelančevine u sjemennoj plazmi imaju nekoliko značajnih funkcija koje prethode oplodnji, kao što su: regulacija kapacitacije i akrosomske reakcije, uspostava spremnika spermija u jajovodu, modulacija imunskog odgovora sluznice maternice, transport spermija unutar ženskog spolnog sustava te sudjeluju u interakciji i fuziji gamenta (KOZIOROWSKA-GILUN i sur., 2011., RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ i sur., 2011.).

Poznato je da bjelančevine sjemene plazme oblažu i štite spermije tijekom ejakulacije te da je mala koncentracija bjelančevina u sjemennoj plazmi povezana s lošom kakvoćom sperme. Bjelančevine sjemene plazme su uglavnom sastavljene od albumina i globulina koji imaju svojstva puferiranja, stoga manja koncentracija bjelančevina u sjemennoj plazmi smanjuje njezin puferijski kapacitet te posljedično kakvoću sperme (GÜNDOĞAN, 2006.). Veća koncentracija bjelančevina jedan je od čimbenika dobre sposobnosti smrzavanja sjemene plazme, njihova koncentracija je veća u bikova nego u sjemennoj plazmi nerasta (DIACONESCU i sur., 2014.). BARRIOS i sur. (2000.) navode da sposobnost smrzavanja sjemena pozitivno korelira s ukupnom koncentracijom bjelančevina u sjemennoj plazmi. Određivanje biokemijskih pokazatelja u sjemennoj plazmi, posebice masnih tvari, omogućuje bolju procjenu kakvoće sjemena. Veća koncentracija masnih tvari omogućuje uspješniju pohranu i očuvanje sjemena. Nerasti su u istraživanju imali male vrijednosti masnih tvari i ukupnih bjelančevina u sjemennoj plazmi koji su mogući uzrok slabije sposobnosti pohrane i očuvanja spermija pri smrzavanju (ŽURA ŽAJA, 2016.c).

KOZIOROWSKA-GILUN i sur. (2011a.) su utvrdili značajno veću koncentraciju bjelančevina u sjemennoj plazmi nerasta tijekom jeseni i zime u odnosu na proljeće i ljeto. Isti znanstvenici su ustvrdili da visoka koncentracija ukupnih bjelančevina u sjemennoj plazmi nerasta tijekom hladnijih dana bolje štiti i održava stabilnost membrane spermija. Smanjena koncentracija ukupnih bjelančevina smanjuje sposobnost kapacitacije i posljedično smanjuje kakvoću sjemena. Njihovo istraživanje je u skladu s istraživanjem STRZEŽEK (2002.) gdje je navedeno da je sperma nerastova prikupljena u jesen boljih svojstava od one prikupljene u ljetnom razdoblju jer veća koncentracija bjelančevina dovodi

do bolje zaštite i očuvanja stabilnosti stanične membrane spermija. Isti je zaključak donesen nakon istraživanja na sjemenoj plazmi ovnova, koncentracija bjelančevina u sjemenoj plazmi je smanjena tijekom proljeća i ljeta te dovodi do slabije održivosti spermija. To potvrđuje da bjelančevine sjemene plazme imaju značajnu funkciju u očuvanju stabilnosti stanične membrane spermija. U istraživanju AL-JANABI i sur. (2012.) nisu ustvrdili povezanost između koncentracije bjelančevina i progresivne gibljivosti spermija u istraživanim biokemijskim pokazateljima u sjemenoj plazmi.

ČEŘOVSKÝ i sur. (2007.) su kvalitativno identificirali i kvantitativno odredili količinu aminokiselina u spermi nerasta. Glutaminska kiselina je najzastupljenija, zatim slijedi glicin pa taurin. Ustvrdili su negativnu korelaciju između udjela morfološki abnormalnih spermija i koncentracije slobodnih aminokiselina u sjemenoj plazmi nerasta. U spermi je velika koncentracija androgenih i estrogenih hormona te mnoštvo enzima kao što su: katalaza, fosfataza, mucinaza, hijaluronidaza, tripsin, amilaza i kolinesteraza (CERGOLJ i SAMARDŽIJA, 2006.).

Koncentracija enzima je proporcionalana s koncentracijom spermija, a obrnuto proporcionalna s volumenom sjemena (TALLURI i sur, 2017). Estrogen ima važnu funkciju u regulaciji razvoja i funkcije testisa u nerasta. Neraste karakterizira izlučivanje velike količine estrogena sintetiziranog u testisima koji se izlučuju u sjemenu plazmu (ZDUŃCZYK i sur., 2011.).

### **3.1. Kisela fosfataza**

Kisela fosfataza (engl. *acid phosphatase*, ACP) je skupina enzima koji nespecifično kataliziraju hidrolizu ortofosfornih monoestera u kiselom mediju. Funkcija kisele fosfataze je ključna u metaboličkim i energetske procesima u stanicama, sudjeluje u proizvodnji, transportu i recikliranju fosfata. Kisela i alkalna fosfataza sastavni su dijelovi stanične membrane spermija te se ACP nalazi u izvanjskoj akrosomalnoj membrani spermija (SOUCEK i VARY, 1984.). ACP u sjemenoj plazmi ima ulogu u kapacitaciji spermija i akrosomskoj reakciji (SALZBERGER i sur., 1992.), uz to sudjeluje u hiperaktivaciji i vezanju za zonu pellucidu (URNER i SAKKAS, 2003.).

U pasa i ljudi je alkalna fosfataza najzastupljenija iz prostate, a povišena vrijednost u krvi ukazuje na benigne hiperplazije ili razvoj karcinoma. U sjemenoj plazmi nerasta ACP se nalazi u četiri molekularna oblika podrijetlom iz sjemenih vrećica, epididimisa i prostate. Aktivnost alkalne fosfataze podrijetlom iz epididimisa je najzastupljenija i iznosi oko 90% ukupne aktivnosti u sjemenoj plazmi nerasta, jer sudjeluju u fosforilacijko-

defosforilacijskim procesima povezanim sa sazrijevanjem spermija u epididimisima (WYSOCKI i STRZEZEK, 2003.).

### 3.2. Alkalna fosfataza

Alkalna fosfataza (engl. *alaline phosphatases*, ALP) je defosforilirajući enzim aktivan u sjemennoj plazmi i membrani spermija te u drugim organima poput jetre, bubrega, kosti, pluća i crijeva. Ima funkciju u kataliziranju hidrolize fosfatnih skupina u nizu različitih supstrata. Podrijetlo ALP-a u sjemennoj plazmi ovisi o životinjskoj vrsti. U pasa i nerasta se veći dio sintetizira u repu epididimisa, a testisi i akcesorne spolne žlijezde stvaraju zanemarivu količinu tog enzima (EINARSSON i sur., 1967., BUCCI i sur., 2014.). Dok su u bikova sjemene vrećice najznačajniji izvor alkalne fosfataze, u kunića su to testisi, epididimisi, *vas deferens* i ampula sjemenovoda. U konja su najveće vrijednosti nađene u testisima i epididimisima, dok je u muškaraca to prostata (TURNER i McDONNELL, 2003., BUCCI i sur., 2014.). ALP iz sjemena može hidrolizirati fosfatne estere raznih mononukleotida, šećera, glicerolfosfata i piridoksal-fosfata, kao i adenzin trifosfata (ATP) (GLOGOWSKI i sur., 2002.).

Epididimis je u nerasta glavni organ u sintezi alkalne fosfataze te je aktivnost enzima određena u citoplazmatskoj (protoplazmatskoj) kapljici spermija što upućuje na njegovu povezanost s metabolizmom glikogena u epitelu epididimisa čime se dospjeli spermiji opskrbljuju energijom. ALP sudjeluje u proizvodnji slobodne fruktoze u ejakulatu, koja nakon fruktoze osigurava energiju neophodnu za gibljivost spermija (STASIAK i sur., 2010.).

Istraživanja su potvrdila da sjemena plazma sadrži čimbenike koji inhibiraju kapacitaciju spermija (VADNAIS i ROBERTS, 2007., BUCCI i sur., 2014.). CLEMENTS i sur. (2010.) opisuju malu aktivnost ALP u nerasta s azospermijom te navode da su vrijednosti ALP aktivnosti nađene u sjemennoj plazmi (posebice u frakciji ejakulata bogatog spermijima). Te vrijednosti su odgovorne za održavanje spermija u stanju anabioze te u sprečavanju prijevremene kapacitacije koja bi mogla oslabiti sposobnost oplodivanja.

U istraživanju BUCCI i sur. (2014.) navode da alkalna fosfataza doprinosi stabilizaciji membrane spermija, a mogla bi imati i funkciju u metabolizmu ATP-a, kao i  $\text{Ca}^{2+}$  preko transporta  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP-aze. Navode i da ALP doprinosi stabilizaciji membrane spermija, a ima i funkciju u metabolizmu ATP-a, stoga veća aktivnost alkalne fosfataze u sjemennoj plazmi upućuje na bolju kakvoću sjemena te bolju funkciju membrane spermija. Pozitivna korelacija ALP-a ustvrđena s postotkom gibljivih spermija može se protumačiti

sudjelovanjem alkalne fosfataze u proizvodnji slobodne fruktoze u ejakulatu, koja nakon fruktolize osigurava energiju neophodnu za gibljivost spermija (STASIAK i sur., 2010.).

Tijekom prolaska kroz ženski spolni sustav spermiji sa svojih površina gube bjelančevine sjemenske plazme, kao i druge čimbenike koji ih oblažu i koji su odgovorni za dekapacitaciju. Potom prolaze kroz proces kapacitacije i stječu oplodnu sposobnost (BRÜSSOW i sur., 2008.).

Aktivnost enzima poput  $\gamma$ -glutamil transferaze i alkalne fosfataze odnose se na kakvoću sjemena i funkciju membrana te sudjeluju u različitim metaboličkim procesima tijekom dozrijevanja spermija (KUMAR i sur., 2000.; SELIGMAN i sur., 2005.).

### **3.3. Gama glutamil transferaza**

Gama-glutamil transferaza (engl. *gamma glutamil transferase*, GGT) je enzim prisutan u membranama stanica mnogih tkiva. Najveća je aktivnost GGT-a u tkivima s funkcijom transporta, što je dovelo do zaključka da je GGT uključen u prijenos aminokiselina kroz staničnu membranu preko slijeda reakcija koje čine „gama-glutaminski ciklus“ (WHITFIELD, 2001.). Gama-glutamil transferaza ima važnu funkciju u održavanju unutarstaničnog cisteina i glutaciona, uključen je u prijenosu gama-glutamil funkcionalne skupine na različite akceptore molekula, oslobađajući cistein kao proizvod za očuvanje unutarstanične homeostaze oksidacijskog stresa (WHITFIELD, 2001., YOKOHAMA, 2007.). GGT je esencijalni enzim u zaštiti spermija od oksidacijskog stresa (SIKKA, 1996.). Uz to, gama-glutamil transferaza čini ključni dio cikličkog procesa u kojem razlaže izvanstanični glutation na staničnoj membrani i to na aminokiseline od kojih je građen, a potom ih unosi unutar stanice gdje se rabe u sintezi staničnog glutaciona.

Neka od stanja koja dovode do povećanja serumskog GGT-a su opstruktivne bolesti jetre, konzumacija alkohola u velikim količinama te uporaba lijekova koji induciraju enzime, dovode do povećanja slobodnih radikala i iscrpljivanja glutaciona. Osobe s velikim vrijednostima GGT-a u serumu imaju veliki rizik od koronarnih bolesti srca, dijabetesa tipa 2 i mozgovnog udara te veću smrtnost (WHITFIELD, 2001.).

Gama-glutamil transferaza je enzim važan u reprodukciji mužjaka, u tkivima epididimisa ga ima puno (AGRAWAL i VANHA-PERTTULA, 1988.). SELIGMAN i sur. (2005.) su dokazali da je GGT aktivno uključen u proces razgradnje glutaciona u cistein, najintenzivnije u glavi epididimisa. Isti autori navode da je enzim lokaliziran u epitelu epididimisa te da u tekućini epididimisa postoji slobodan oblik GGT-a, njegova aktivnost je

200 do 500 puta veća u sjemenu nego u serumu (ŽURAŽAJA i sur., 2016. a,b). GGT je prisutan u području akrosome i središnjem dijelu spermija pojedinih vrsta sisavaca te može dodatno utjecati na udio GSH u oociti u trenutku penetracije spermija (FUNAHASHI i sur., 1996.).

Obzirom na veliki broj mitohondrija u spermiju, antioksidativni mehanizmi su važni u održavanju gibljivosti spermija, brzine hiperaktivacije i održavanja tijekom skladištenja (IRVINE, 1996., STEFANOV i sur., 2013.). Tijekom skladištenja sperme na 15°C tijekom 72 sata dolazi do smanjenja spermija s progresivnom gibljivošću, to svojstvo je bilo u korelaciji sa smanjenjem aktivnosti laktak dehidrogenaze (LDH) i GGT-a. Analiza biokemijskih pokazatelja mogla bi pružiti dodatne informacije o reproduktivnom zdravlju i plodnosti u nerasta (STEFANOV i sur., 2013.).

LÓPEZ RODRÍGUEZ i sur. (2013.) su dokazali umjerenu negativnu korelaciju između aktivnosti GGT-a i ALP-a s volumenom ejakulata, umjereno pozitivnu korelaciju s progresivnom gibljivošću spermija te značajno pozitivnu s koncentracijom spermija u ejakulatu nerastova.

Mušjaci miševa, koji nemaju GGT (GGT deficijentni) imaju znatno manje testise, sjemene vezikule i epididimise te oligospermiju ili azospermiju, spermiji su nepokretni i neplodni. Rezultati ukazuju da sam GGT nije neophodan za normalnu reproduktivnu funkciju, već je potreban za primjerene razine unutarstaničnog glutationa (GSH) i cisteina koji reguliraju GGT (KUMAR i sur., 2000.).

PESCH i sur. (2006.) su pronašli značajnu povezanost između volumena sjemena i koncentracije spermija s enzimima AST, GGT, ALP, ACP i LDH te ionima željeza i cinka u sjemenu pastuha. Značajna korelacija između gama-glutamil transferaze i gibljivosti spermija može ukazivati na njegovu funkciju u zaštiti stanica od slobodnih radikala kisika.

### **3.4. Laktat dehidrogenaza**

Laktat dehidrogenaza (engl. *lactate dehydrogenase*, LDH) je skupina enzima uključenih u završni dio glikolize, a kataliziraju reakciju pretvorbe piruvata u laktat i obrnuto preko Cori ciklusa uz prelazak koenzima NADH u NAD<sup>+</sup>, te dehidrogenaciju 2-hidroksibutirata (LI i sur., 1983.). Postoje brojni enzimi aktivni u spermiji, posebice LDH i sorbitol dehidrogenaza, koji imaju vrlo važnu funkciju u procesima u kojima se stvara energija (DIACONESU i sur., 2014.). DUAN i GOLDBER (2003.) smatraju da povećanje aktivnosti LDH u sjemenoj plazmi može biti pokazatelj oštećenja integriteta stanične membrane spermija, budući da je laktat dehidrogenaza unutarstanični enzim.

Rezultati istraživanja MERANO i sur. (2006.) ukazuju da spermiji nerasta učinkovito metaboliziraju citrat i laktat kroz metabolički put koji je reguliran LDH-om kako bi se dobila dovoljna energija za održavanje pa čak i povećanje cjelokupne funkcije spermija nerasta. ODET i sur. (2008.) su utvrdili da uklanjanjem *Ldhc* gena u miševa dolazi do nemogućnosti hiperaktivacije spermija, nemogućnosti njihova prodora u zonu pellucidu *in vitro* te nemogućnosti provođenja procesa fosforilacije koja je karakteristična za kapacitaciju spermija. Rezultati ukazuju da enzim LDHC ima znatnu funkciju u održavanju procesa glikolize i proizvodnje ATP-a u biču spermija, koji su potrebni za plodnost mužjaka i funkciju spermija.

Uz LDH i enzim aspartat aminotransferaza (engl. *aspartate aminotransferase*, AST) se nalazi u glavi i središnjem dijelu spermija. Njihovo oslobađanje iz stanice više se odražava na integritet stanične membrane spermija nego na kapacitet oplodnje spermija (MOORE i sur., 1976.). U istraživanju ASADPOUR-a (2012.) su utvrđene značajne korelacije između razine LDH i preživljavanja spermija, tako da je povećanje postotka živih i normalnih spermija u korelaciji s povećanjem LDH aktivnosti u sjemenoj plazmi.

Enzimi ALP, AST i LDH su nužni za metaboličke procese koji osiguravaju energiju za preživljavanje, gibljivost i plodnost spermija. PECH i sur. (2006.) su ustvrdili korelaciju između LDH i gibljivosti, progresivne gibljivosti i živih spermija, što može ukazivati na to da izvanstanični LDH osigurava metabolizam spermija. Suprotno tome u arapskih konja su DOGAN i sur. (2009.) ustvrdili negativnu korelaciju između volumena ejakulata i enzima LDH, AST te ALP u sjemenoj plazmi.

PONCE i sur. (2001.) su još jednom dokazali da izloženost stalnoj svjetlosti tijekom duljeg vremenskog razdoblja ima loš utjecaj na uspješnost oplodnje, vjerojatno zbog smanjene kontraktibilnosti epididimisa. Stalna izloženost svjetlosti sprečava izlučivanje i sintezu melatonina kojim je uvjetovana kontraktibilnost epididimisa. Zbog sporijeg prolaza kroz epididimis te zadržavanja i starenja spermija smanjena je aktivnost LDH-a spermija. Posljedično tome je smanjena kakvoća sjemena i smanjena sposobnost oplodnje.

### **3.5. Kreatin kinaza**

Kreatin kinaza (engl. *creatine kinase*, CK) je enzim koji se nalazi u raznim stanicama, posebice u onima kojima je potrebna velika količina energije. CK katalizira reverzibilnu pretvorbu kreatina (Cr), uz utrošak ATP-a za stvaranje fosfokreatina (PCr) i adenozin difosfat (ADP) i time čini spremnik energije odmah dostupnim u stanici. Ključni je enzim u

staničnoj prijetvorbi energije, predstavlja sustav enzima s nekoliko izoenzima, koji su različito razmješteni, posebice na onim mjestima gdje se energija stvara ili troši. Podatci iz istraživanja ukazuju da se CK nalazi u neposrednoj blizini mjesta na kojima su intenzivirani procesi, posebice ionski transport kroz membranu. CK/PCr sustav čine zajednički kompleks te imaju više važnih funkcija u staničnoj energetske homeostazi (WALLIMANN i sur., 1992.).

CK se nalazi u mišićnim stanicama, spermijima, fotoreceptorskim stanicama mrežnice, stanicama mozga, bubrega, znojnim žlijezdama, stanicama miometrija, posteljici, gušterači, timusu, štitnjači, endotelnim stanicama, stanicama hrskavice i kostiju, četkastom porubu crijevnih epitelnih stanica, makrofagima, trombocitima, stanicama tumora i karcinoma (WALLIMANN i HAMMER, 1994.). Navedene stanice se odlikuju promjenjivim zahtjevima za energijom što ukazuje na funkciju CK/PCr sustava u puferiranju u transportu energije.

KAVANAGH i DARBY (1983.) su u istraživanju ustvrdili da je podrijetlo kreatin kinaze u sjemenjnoj plazmi dijelom iz prostate, a manjim dijelom iz drugih akcesornih spolnih žlijezda. WALLIMANN i sur. (1986.) su ustvrdili prisutnost velikih količina CK i ukupnog kreatina u spermijima te PCr i Cr u sjemenjnoj plazmi. Poznato je da se CK nalazi u sjemenjnoj plazmi gdje katalizira regeneraciju ATP-a nužnu za površinsku fosforilaciju spermija (TEIXEIRA i BORGES, 2012.).

Razina kreatin kinaze je objektivan biokemijski pokazatelj za zrelost spermija i oplodni potencijal u ljudi (HALLAK i sur., 2001.). U uzorcima ejakulata sa smanjenom koncentracijom spermija, većom učestalošću nezrelih spermija, CK aktivnost je bila 10 do 20 puta veća od one u normospermatičnim ejakulata (HUSZAR i sur., 1988a., 1988b.). Imunocitokemijska istraživanja CK pojedinog spermija ukazuju da su povećane koncentracije kreatinin kinaze odraz zaostale citoplazme spermija koja nije bila izbačena tijekom kasne spermiogeneze (HUSZAR i VIGUE, 1993., HALLAK i sur., 2001.). Tijekom citoplazmatskog gubitka odvijaju se promijene u biosintezi CK izoenzima što služi kao pokazatelj zrelosti spermija (HUSZAR i sur., 1994.). Gubitak citoplazme i CK te remodeliranje stanične membrane spermija uključuju razvitak receptora za prepoznavanje oocita i promijene u strukturi lipida (HUSZAR i sur., 1997.).

HALLAK i sur. (2001.) u istraživanju navode da je funkcionalna manjkavost spermija povezana s povišenim razinama određenih enzima, kao što su CK, LDH, glukoza-6-fosfat, dehidrogenaza te manjkavosti u spermiogenezi, koja dovodi do otpuštanja nezrelih spermija iz germinativnog epitela (Slika 6.). Utvrdili su da je aktivnost CK u spermijima

neplodnih muškaraca značajno viša u odnosu na skupinu zdravih muškaraca (Tabela 1.). Aktivnost CK negativno korelira s koncentracijom spermija, ukupnim brojem spermija, progresivnom gibljivosti i spermijima normalne morfologije, a pozitivno korelira s postotkom spermija s abnormalnim oblikom repa. Kreatin kinaza može biti osjetljiv pokazatelj kakvoće i zrelosti spermija u poremećaju liječenih bolesnika (RENGAN i sur., 2012.) (Tabela 2.).

Tabela1. Aktivnost kreatin kinaze (CK) u plodnih i neplodnih pacijenata (Zeqiraj i Gashi, 2014.) (n=200).

|                             | <b>Normozoospermi<br/>ja</b><br>n=50<br>Group A | <b>Oligozoospe-<br/>rmija</b><br>n=68<br>Group B | <b>Oligoasthe-<br/>nozoospermija</b><br>n= 60<br>Group C | <b>Azoospermia</b><br>n= 22<br>Group D |
|-----------------------------|---|--|--|--|
| CK aktivnost                | 108-238   | 295-558  | 304-618  | 450-638                                |
| IU/10 <sup>8</sup> spermija | (175,0±65,1)                                    | (435,0±131,6)                                    | (452.,2±157,8)   | (557,4±94,3)                           |

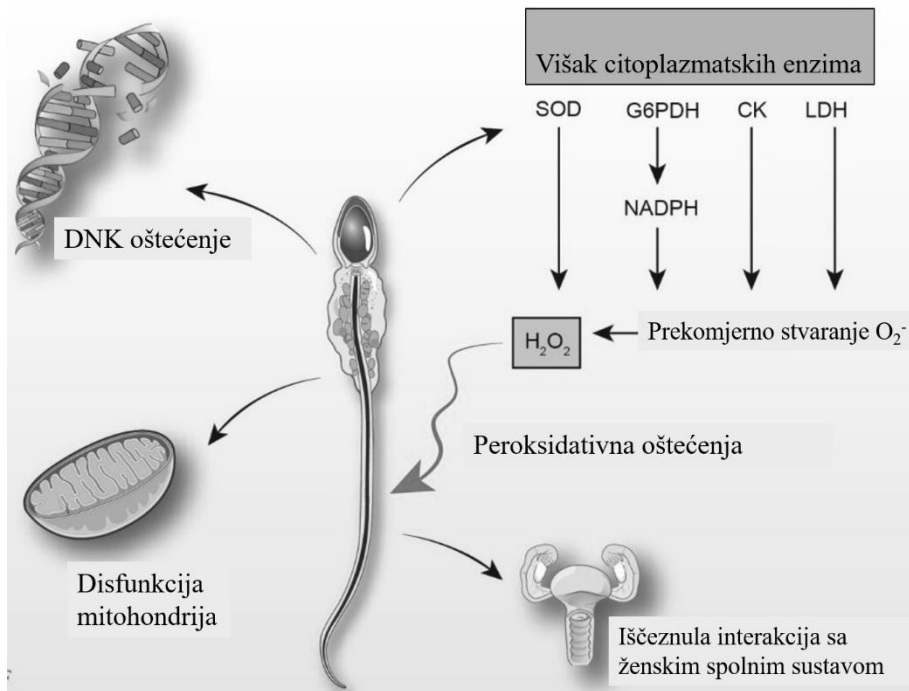
Tabela 2. Aktivnost kreatin kinaze (CK) u pacijenata sa različitim stupnjem oligozoospermijom (Zeqiraj i Gashi, 2014.)

|   | <b>Blaga<br/>oligozoospermija</b><br>n=22 | <b>Srednja<br/>oligozoospermija</b><br>n=10 | <b>Jaka<br/>oligozoospermija</b><br>n=36 |
|---|---|---|--|
| Broj spermija<br>(x10 <sup>6</sup> /ml) | 10,8 ±1,62                                | 8,9± 0,27                                   | 4,2 ± 0,26                               |
| CK aktivnost                            | 295-315                                   | 402-498                                     | 451-558                                  |
| IU/10 <sup>8</sup> spermija             | (305,3±10,0)                              | (446,6±48,0)                                | (505,4±53,5)                             |

Korelacija između aktivnosti kreatin kinaze i koncentracije malonaldehida (MDA) pokazuje da je povećana razina lipidne peroksidacije povezana s nepotpunom zrelošću spermija koja je češće urođena nego stečena mana spermija (HUSZAR i sur., 1994.) (Slika 6.). ALANI i sur. (2009.) su u svojem istraživanju otkrili značajno višu koncentraciju MDA i aktivnosti CK u sjemenoj plazmi neplodnih muškaraca s normozoospermijom u usporedbi s plodnim muškarcima te je ustvrđena značajno pozitivna korelacija između aktivnosti CK i MDA u sjemenoj plazmi muškaraca. Nadalje, smatraju da bi njihovo određivanje u sjemenoj plazmi mogla biti prihvaćena metoda za razlikovanje neplodnih uzoraka sjemena od zdravih, uz već prihvaćene standarde analize sjemena.

Spermiji nerasta, za razliku od drugih vrsta životinja, ne sadrže fosfokreatin i kreatin kinazu, što ukazuje da se energetske metabolizam spermija nerasta najvećim dijelom temelji na glikolizi trošeći izvanstanične ugljikohidrate te proizvodnju laktata (KAMP i sur., 2003.).





Slika 6. Povezanost zaostale citoplazmatske kapljice spermija sa većom količinom citoplazmatskih enzima (prema RENGAN i sur., 2012.).

## 4. MINERALI

Sjemena plazma sadrži veliku koncentraciju elemenata u tragovima primjerice kalcij, magnezij, bakar, cink i selen u vezanom i slobodnom obliku. Navedeni elementi imaju vrlo značajnu funkciju i utječu na različite značajke sjemena, primjerice gibljivost spermija (SORENSEN i sur., 1999., ABD-ALRAHMAN I ABDELLA, 2013.). Elementi natrij, kalij, kalcij i magnezij u obliku kationa su važni za uspostavljanje i održavanje osmotske ravnoteže, a osim toga esencijalni su elementi i sastavni dijelovi mnogih važnih enzima. Koncentracija minerala u sjemenoj plazmi je važan kriterij za procjenu plodnosti i dijagnostiku muških reproduktivnih poremećaja.

### 4.1. Kalcij

Kalcij (Ca) je najzastupljeniji mineral u organizmu životinja i ljudi, najviše je deponiran u kostima (99%), a preostali dio (1%) se nalazi u izvanstaničnim tekućinama. Dio je kalcija u izvanstaničnoj tekućini vezan za bjelančevine (90% za albumine, 10% za globuline) te u tom obliku nema sposobnost prolaziti kroz staničnu membranu. Funkcionalni oblik kalcija se nalazi u ionskom obliku, dok se dio kalcija nalazi u sastavu anionskih spojeva (bikarbonata, citrata, fosfata, sulfata). Kalcij u ionskom obliku i u sastavu anionskih spojeva može prolaziti kroz biološku membranu. Unutarstanični kalcij se nalazi deponiran u unutarstaničnim organelima i to u endoplazmatskoj mrežici i mitohondrijima.

Najznačajnija uloga kalcija vezanog za bjelančevine je regulacija pH izvanstanične tekućine, pri čemu alkalni pH prouzroči povećano vezivanje kalcija i time smanjuje ionizirani kalcij (GOLDSTEIN, 1990.). BRINI i sur. (2013.) navode da su najznačajnije funkcije kalcija u organizmu: sudjelovanje u putovima prijenosa signala, zgrušavanje krvi, kontrakcije mišića, kočimbenik u enzimatskim reakcijama, oplodnja i dr.

MANN (1954.) u istraživanju navodi da je koncentracija kalcija u sjemenoj plazmi bikova oko 34 (između 24 i 45) mg/100 mL, što je veća vrijednost u odnosu na koncentraciju kalcija u sjemenu ovnova, pastuha te muškaraca, dok je u nerasta vrijednost najniža, približno 5 (2-6) mg/100 mL. U muškaraca je najznačajniji izvor kalcija u sjemenoj plazmi sekret prostate, dok je u nerasta to sekret sjemenih vezikula te sadrži 12 mg kalcija u 100 mL sekreta.

Poznato je da je izvanstanični kalcij potreban za uspješnu oplodnju. Procesi koji pokreću i održavaju aktivnost spermija nakon ejakulacije su pod biokemijskom kontrolom. Ionski oblik kalcija ( $\text{Ca}^{2+}$ ) je neophodan za održavanje raznih značajki spermija: održivost, gibljivost, progresivnu gibljivost i kapacitaciju. Spermijima su za održavanje normalne

gibljivosti neophodni unutarstanični  $\text{Ca}^{2+}$  kao i kalcij iz sjemene plazme, uz brojne druge čimbenike. No, spermiji imaju funkcionalni raspon koncentracije Ca koji mogu tolerirati u izvanstaničnom okolišu, a koncentracija Ca koja prelazi te vrijednosti prouzroči smanjenu aktivnost spermija.

Dokazano je da muškarci sa smanjenom gibljivošću spermija imaju smanjenu koncentraciju  $\text{Ca}^{2+}$  u sjemenjnoj plazmi u odnosu na muškarce s normalnom gibljivošću spermija (PRIEN, 1991.). *In vitro*, studije s uzorcima sjemena muškaraca i nerasta potvrđuju u ranijim istraživanjima o smanjenoj aktivnosti spermija koji su bili u mediju bez slobodnog Ca. Dokazano je da spoj Ca koji se koristi u izradi medija može imati utjecaj na održavanje spermija te je jednostavni medij s  $\text{CaH}_2\text{PO}_4$  bolji izvor od medija s  $\text{CaCl}_2$ .

WITTE i SCHÄERSOMI (2007.) naglašavaju značaj kalcija, kolesterola i progesterona u indukciji kapacitacije i akrosomske reakcije u spermijima sisavaca. PRIEN (1991.) u istraživanju navodi rezultate iz kojih je vidljivo da je izvanstanični kalcij neophodan za normalnu aktivnost spermija, a u to su uključeni i proteini iz sjemene plazme. Unutarstanični kalcij i bikarbonati imaju najznačajniju funkciju u procesu kapacitacije spermija nerasta (BREITBART, 2003.).

Tijekom sazrijevanja spermiji mijenjaju odgovor na ione kalcija. Velike koncentracije kalcija u epididimisu potiču nezrele spermije, dok velika koncentracija iona u ejakulatu sprječava gibljivost spermija. Akcesorne spolne žlijezde izlučuju bjelančevine koje vežu kalcij i inhibitore tih bjelančevina koji se miješaju sa spermijima tijekom ejakulacije. U ženskom spolnom sustavu spermiji stječu puni kapacitet za oplodnju jajne stanice. Tijekom procesa kapacitacije inhibitori se vežu za bjelančevine koje prenose kalcij te bivanju uklonjene, a oslobođeni ioni kalcija aktiviraju akrosomsku reakciju i olakšavaju prodiranje spermija u jajnu stanicu (HONG i sur., 1984.).

Akrosomsku reakciju prati oslobađanje  $\text{Ca}^{2+}$  i enzima uz membranske promijene koje su nužne pri interakciji spermija i jajne stanice (ZANEVELD i sur., 1989.). LOGOGLU i sur. (1997.) navode da je koncentracija kalcija u sjemenjnoj plazmi normospermnih, ali neplodnih muškaraca značajno niža u odnosu na fertilnu skupinu muškaraca. Značajno pozitivna korelacija utvrđena je između koncentracije kalcija u sjemenjnoj plazmi s gibljivošću spermija te stupnja aktivnosti spermija.

MURASE i sur. (2007.) u istraživanju navode da su promjene u mineralnom sastavu sjemena nerasta pod utjecajem godišnjeg doba, stresa prouzročenog toplinom i vlagom, no koncentracija kalcija u sjemenjnoj plazmi nerasta ostaje stabilna tijekom cijele godine, dok su ostali pokazatelji kakvoće sjemena bili lošiji tijekom ljetnog razdoblja.

KAYA i sur. (2002.) su ustvrdili da u ovnova pri češćem uzimanju ejakulata dolazi do smanjenja  $\text{Ca}^{2+}$  u sjemennoj plazmi i posljedično njihovoj smanjenoj gibljivosti. MERT i sur. (2009.) su ustvrdili promijene u koncentraciji kalcija, kalija, bakra, magnezija, željeza i cinka u sjemennoj plazmi s obzirom na različite pasmine ovaca i razlike u godišnjim dobima, dok ASADPOUR (2012.) u istraživanju nije ustvrdio značajne razlike u koncentraciji kalcija u različitim pasmina ovnova.

WONG i sur. (2001.) nisu pronašli razliku u koncentraciji kalcija, magnezija, cinka i bakra u krvi i sjemennoj plazmi subfertilne i fertilne skupine muškaraca. Iako ti minerali imaju važnu funkciju u spermatogenezi i plodnosti, određivanjem njihovih koncentracija u krvi i sjemennoj plazmi ne može se ustvrditi plodnost ili neplodnost u muškaraca. Dok drugi znanstvenici ističu da je koncentracija kalija i kalcija u sjemennoj plazmi značajno smanjena u neplodnih muškaraca u usporedbi s plodnima.

ZHANG i sur. (2010.) navode značajnu pozitivnu korelaciju kalcija u sjemennoj plazmi s gibljivošću spermija, linearnom gibljivošću spermija i ostalim parametrima spermija te negativnu korelaciju kalcija i magnezija s pH vrijednosti.

## **4.2. Magnezij**

Magnezij (Mg) je četvrti najzastupljeniji kation u tijelu, ima važnu funkciju u brojnim biološkim procesima poput staničnog energetskog metabolizma, stabilizaciji stanične membrane, staničnim diobama i sintezi bjelančevina. Neophodan je za mnoge biokemijske funkcije stanica pa tako i spermija. Oko 60% ukupnog magnezija prisutno je u kostima, taj magnezij je u ravnoteži s ionizirajućim magnezijem u izvanstaničnoj tekućini. Do 30% magnezija koji se nalazi u kostima se može lako mobilizirati pri njegovom nedostatku u organizmu, no ta se sposobnost smanjuje starenjem.

Osim u kostima, magnezij se nalazi u skeletnom mišićju 20%, 19% u drugim mekim tkivima te oko 1% u izvanstaničnoj tekućini. U izvanstaničnoj se tekućini 65% magnezija nalazi u ioniziranom obliku, 20% magnezija je vezano za bjelančevine, uglavnom za albumine, a preostali dio se nalazi u sastavu fosfata, citrata i dr. Magnezij je nakon kalija drugi najzastupljeniji unutarstanični kation, unutar stanice je od 0,5 do 5% u ioniziranom obliku dok se preostali dio veže za spojeve kao što su: ATP, ADP, citrati, bjelančevine, RNK i DNK ili se nalazi unutar citoplazmatske mrežice i mitohondrija (SWAMINATHAN, 2003.).

Magnezij je nužan za ispravnu funkciju jezgre te očuvanje fizikalne stabilnosti kao i agregacije ribosoma u polisome, na kojima se odvija sinteza bjelančevina. Ionski magnezij je uključen u aktiviranje enzima (endonukleazu) važnih za popravak oštećenja na DNK.

PASTERNAK i sur. (2010.) navode da magnezij aktivira više od 300 različitih enzima te sudjeluje u mnogim metaboličkim procesima, a to su primjerice glikoliza, Krebsov ciklus,  $\beta$ -oksidacija i aktivni transport iona kroz staničnu membranu. Ionski magnezij ima znatnu funkciju u regulaciji funkcije mitohondrija, uključujući i kontrolu njihovog volumena, sastava iona te proizvodnje ATP-a.

MANN (1954.) navodi da u sjemenoj plazmi čovjek ima najvišu koncentraciju, manju imaju bik, nerast, ovan, a pastuh ima najnižu koncentraciju magnezija. Rezultati ABD-ALRAHMAN i ABDELLA (2013.) ukazuju da porast koncentracije magnezija u sjemenoj plazmi muškaraca uzrokuje smanjenje gibljivosti spermija što se podudara s rezultatima LORNAGE i sur. (1983.), koji navode da se pri povećanoj koncentraciji iona magnezija smanjuje gibljivost spermija. Suprotno tome, studija autora SORENS i sur. (1999.) ukazuje kako velika koncentracija magnezija nema inhibitorni učinak na gibljivost spermija.

ZHANG i sur. (2010.) navode značajnu negativnu korelaciju magnezija u sjemenoj plazmi s linearnom gibljivošću spermija i ostalim parametrima spermija te negativnu korelaciju kalcija i magnezija s pH vrijednosti sjemene plazme.

U sjemenoj plazmi su kationi natrija, kalija, kalcija i magnezija važni za uspostavljanje osmotske ravnoteže te su kao esencijalni elementi važni dio enzima. Dakle, biokemijska procjena sjemene plazme važan je kriterij za procjenu plodnosti i dijagnostiku muških reproduktivnih poremećaja. Abnormalne koncentracije kalcija, magnezija, cinka i bakra u sjemenoj plazmi koreliraju s neplodnošću u muškaraca. Magnezij ima funkciju i u spermatogenezi, posebice u gibljivosti spermija.

Prema WONGU i sur. (2001.) magnezij se smatra pokazateljem stanja sjemenih vezikula. ÇEVIK i sur. (2007.) u istraživanju prikazuju značajnu razliku u koncentraciji magnezija u sjemenoj plazmi među skupinama bikova pasmine smeđe švicarsko govedo. Skupina bikova s oligospermijom je imala manju koncentraciju magnezija, dok razlike u koncentraciji magnezija nije bilo između bikova pasmine holstein i smeđe švicarsko govedo. Veća koncentracija magnezija i selen u sjemenoj plazmi nerasta povezana je s manjim stupnjem oštećenja stanične membrane spermija i manjim brojem spermija s proksimalnom citoplazmatskom retencijom (LÓPEZ RODRÍGUEZ i sur., 2013.). Nerasti s dobrom kakvoćom sjemena su imali veću koncentraciju magnezija u sjemenoj plazmi od onih s

lošom kakvoćom. Značajno je veća koncentracija magnezija u sjemennoj plazmi nerasta s dobrom kakvoćom sjemena bila krajem ljeta, a manja početkom ljeta (LÓPEZ RODRÍGUEZ i sur., 2013.).

MERT i sur. (2009.) su odredili koncentraciju kalcija, kalija, bakra, magnezija, željeza i cinka u sjemennoj plazmi ovnova raznih pasmina. Načelno je razlika u mjernim pokazateljima u odnosu na genotipove i vrijeme uzimanja uzoraka sjemena, koji mogu biti korisni u boljem i učinkovitijem planiranju anestrusa u sezoni parenja istraživanih ovnova. ŽURA ŽAJA i sur. (2016.a) ustvrdili su značajne razlike između dvije od pet ukupno istraživanih pasmina nerasta u koncentraciji Ca u sjemennoj plazmi, dok se koncentracija magnezija nije značajno razlikovala među istraživanim pasminama.

WONG i sur. (2001.) nisu pronašli razliku u koncentraciji kalcija, magnezija, cinka i bakra u krvi i sjemennoj plazmi subfertilne i fertilne skupne muškaraca. Tako su koncentracija cinka i magnezija u sjemennoj plazmi u slaboj korelaciji s brojem spermija, ali je ustvrđena jaka korelacija između minerala kalcija, magnezija i cinka u sjemennoj tekućini. Iako navedeni minerali imaju važnu funkciju u spermatogenezi i plodnosti, određivanje njihovih koncentracija u krvi i sjemennoj plazmi nema dijagnostičko značenje u kontroli plodnosti muškaraca.

Koncentracija kalcija i magnezija u sjemennoj plazmi je značajno veća u skupini plodnih muškaraca u odnosu na skupinu neplodnih. Dobiveni rezultati ukazuju da kalcij i magnezij u sjemennoj plazmi imaju vrlo značajnu funkciju u muškoj plodnosti te bi se trebali uzeti u obzir u dijagnostici i liječenju muške neplodnosti (BASSEY i sur., 2013.).

### **4.3. Cink**

Cink (Zn) ima važnu funkciju u fiziologiji spermija, odnosno u proizvodnji i održivosti spermija, u prevenciji razgradnje te stabilizaciji stanične membrane spermija. Potom, ima funkciju u stabilizaciji kromatina u jezgri spermija, gibljivosti spermija, a djeluje i antioksidativno (LIPENSKY i sur., 2014.). Vrlo je bitan mikronutrijent sjemene plazme zbog održavanja antibakterijske aktivnosti (GAVELLA i LIPOVAC, 2009.).

Biokemijska je funkcija cinka ( $Zn^{2+}$ ) neophodna za više od 300 enzima koji sudjeluju u sintezi, metabolizmu i prometu bjelančevina, ugljikohidrata, lipida, nukleinskih kiselina i nekih vitamina, primjerice vitamina A. Enzimi koji sadrže cink, a dobro su poznati jesu superoksid dismutaza, ALP i alkoholna dehidrogenaza. Cink je neophodan za normalno funkcioniranje imunskog sustava, sintezu DNK i staničnu diobu te štiti bjelančevine i lipide

od oksidacijskog oštećenja. Hranom unesen cink nužan je za kosti, kognitivne funkcije, plodnost i reprodukciju, metabolizam masnih kiselina, acidobazni metabolizam, metabolizam vitamina A te za normalan vid.

Bakar, cink i selen sudjeluju u mnogim važnim biokemijskim procesima koji podržavaju život. Najvažniji procesi su stanično disanje, stanični aerobni procesi, DNK i RNK replikacija, održavanje integriteta stanične membrane i vezivanje slobodnih radikala kisika. Ti su elementi uključeni i u uklanjanje slobodnih radikala kisika pomoću kaskadnih enzimatskih sustava. Bakar i cink su kočimbenici u reakciji koju katalizira enzim superoksid dismutaza u kojoj se superoksidni radikal prevodi u manje štetan vodikov peroksid (CHAN i sur., 1998.).

Resorpcija cinka ovisi o dozi, uglavnom se odvija u gornjem dijelu tankog crijeva. Cink se resorbira i transportira krvlju, uglavnom vezan za albumine. Veći se dio cinka nalazi unutar stanice te je ukupan sadržaj cinka u tijelu odrasle osobe dva do četiri grama, od kojih se 2/3 nalaze u mišićnom tkivu, a 30% u koštanom tkivu. Cinka u izvanstaničnim tekućinama ima približno 0,1% od ukupne količine cinka. Značajne se koncentracije cinka nalaze u pojedinim dijelovima oka te u tekućini koju izlučuje prostata (HOTZ i BROWN, 2004.).

Minerali kao što su cink i selen, strukturalne komponente glutation peroksidaze, povezani su s kakvoćom sjemena muškaraca, zbog njihovih antioskidativnih svojstava (LÓPEZ RODRÍGUEZ i sur., 2013.). Nadalje, cink je u WHO priručniku opisan kao pokazatelj funkcije prostate (WHO, 2010.). Niske razine cinka nađene su u sjemennoj plazmi neplodnih muškaraca (CHIA i sur., 2000.). U nerasta se neke promjene u mineralnom sastavu odnose na utjecaj godišnjeg doba i toplinskog stresa (MURASE i sur., 2007.).

LÓPEZ RODRÍGUEZ i sur. (2013.) navode negativnu korelaciju koncentracije cinka u sjemennoj plazmi nerasta s udjelom spermija s abnormalnim repom. Vrlo je vjerojatno da cink utječe na kakvoću sperme na različite načine zbog čega ga je teško povezati s nekim od parametara. Koncentracija cinka bi mogla biti pokazatelj plodnosti nerasta, ali zbog velike varijacije u mjerenim uzorcima te slabe korelacije s kakvoćom sjemena u dobivenim rezultatima, ograničena je njegova potencijalna primjena u dijagnostičke svrhe. Izuzev toga, treba uzeti u obzir utjecaj godišnjeg doba za kakvoću sjemena. Uočena je značajna razlika koncentracije cinka u sjemennoj plazmi u uzorcima koji su prikupljeni na početku ljeta u odnosu na one prikupljene krajem ljeta. Veća koncentracija cinka je izmjerena u sjemennoj plazmi nerasta s boljom kakvoćom sjemena u odnosu na one s lošijom.

Skupina nerasta s najvećim udjelom morfološki abnormalnih spermija (24,3%) imala je najmanju koncentraciju cinka u sjemennoj plazmi, dok je skupina nerasta s najmanjim

udjelom morfološki abnormalnih spermija (16,8%) imala najveću koncentraciju cinka u sjemennoj plazmi. Temeljem dobivenih rezultata ipak se ne može zaključiti da postoji značajna povezanost između koncentracije cinka u sjemennoj plazmi nerasta i procijenjenih parametara kakvoćom sperme (LIPENSKY i sur., 2014.).

Skupina štakora hranjena s hranom koja sadrži male količine cinka imala je značajno smanjen broj spermija u ejakulatu, dok je skupina štakora hranjena hranom koja nije sadržavala cink bila azospermična. Nedostatak cinka inhibira steroidogenezu u testisima što rezultira smanjenom proizvodnjom ili izostankom proizvodnje spermija (HAMDI i sur., 1997.).

PESCH i sur. (2006) su ustvrdili u istraživanju značajnu korelaciju između volumena sjemena i koncentracije spermija pastuha s koncentracijom mikronutrijenata željeza i cinka u sjemennoj plazmi.

U ljudi je provedeno najviše istraživanja o važnosti cinka u reprodukciji, no nažalost rezultati su oprečni. ZHAU i XIONG (2005.) su ustvrdili da sjemena plazma astenozoospermičnih i oligoastenozoospermičnih muškaraca sadrži značajno manju koncentraciju cinka u odnosu na sjemenu plazmu plodnih muškaraca. Stoga je manja koncentracija cinka u sjemennoj plazmi povezana sa smanjenom proizvodnjom i gibljivosti spermija te neplodnosti u astenozoospermičnih i oligoastenozoospermičnih muškaraca.

Skupina plodnih muškaraca je imala značajno veću koncentraciju cinka u sjemennoj plazmi u odnosu na neplodnu skupinu. Koncentracija cinka u sjemennoj plazmi muškaraca značajno korelira s brojem spermija i udjelom spermija normalne morfologije te je nađena značajna pozitivna korelacija između koncentracije cinka s koncentracijom kalcija i kalija u sjemennoj plazmi. Prehrana osiromašena cinkom može biti čimbenik rizika loše kakvoće sperme i idiopatske muške neplodnosti (COLAGAR i sur., 2009.). Utvrđena je negativna korelacija gibljivosti spermija i koncentracije cinka i magnezija u sjemennoj plazmi muškaraca (ABD-ALARHMAN i ABDELLA, 2013.), dok su ZHANG i sur. (2010.) ustvrdili negativnu korelaciju koncentracije cinka u krvi s gibljivošću spermija.



## 5. ZAKLJUČCI

Sjemena plazma je jako važna za metabolizam spermija kao i za njihovu funkciju, preživljavanje i transport u ženskom spolnom sustavu.

Lipidi sjemena izgrađuju staničnu membranu spermija, sudjeluju u metabolizmu i kapacitaciji spermija, hiperaktivaciji i akrosomskoj reakciji te oplodnji jajne stanice. U nedostatku ostalih supstrata, spermijima pružaju energiju za pokretljivost i održivost.

Bjelančevine utječu na stabilnost stanične membrane spermija te njihovu pokretljivost. Sudjeluju u kapacitaciji i interakciji s jajnom stanicom te oplodnjom. Pri transportu spermija duž ženskog spolnog sustava bjelančevine sudjeluju u fagocitozi i vezanju propalih spermija. Više koncentracije bjelančevina su posebno značajne pri zamrzavanju sjemena, odnosno kakvoći sjemena nakon odmrzavanja i sposobnosti spermija za oplodnju jajne stanice.

Minerali sjemene plazme, iako u malim koncentracijama, nužni su za gibljivost spermija, uspostavljanje i održavanje osmotske ravnoteže, sastavni su dijelovi nekih enzima ili sudjeluju u njihovoj aktivaciji.

Umjetno osjemenjivanje je u porastu i bilo kakav uzgoj domaćih životinja, posebice goveda i svinja, je gotovo nezamisliv bez te primjene. Uspješnost oplodnje ovisi o libidu, sposobnosti za parenje, ali prije svega o kakvoći sjemena. No, najbolji pokazatelji dobre plodnosti su visok postotak koncepcije i zdravi potomci.

Sjemena plazma je dobar pokazatelj zdravstvenog stanja muškog spolnog sustava, jer se u nju izlučuju razni pokazatelji koji nisu u toj mjeri prisutni u krvi ili urinu. Korištenjem sjemene plazme u preventivnoj dijagnostici bolesti spolnog sustava, postoji mogućnost ranijeg otkrivanja nepravilnosti, posebice raka prostate u muškaraca. Time se teži poboljšati zdravstveni standard i kakvoća života.

## 6. LITERATURA

- ABD-ALRAHMAN, D. A., A. M. ABDELLA (2013): Evaluation of seminal zinc, magnesium and calcium levels in fertile Sudanese male with asthenozoospermia. *Lab. Med. J.* 1, 9-14.
- ABDEL AZIS, M. T., S. EL-HAGGAR, G. A. TAWADROUS, T. HAMADA, M. A. SHANKY, K.S. AMIN (1983): Seminal lipids as energy substrates for the spermatozoa. *Andrologia* 15, 259-263.
- AGRAWAL, Y. P., T. VANHA-PERTTULA (1988): Gamma-glutamyl transpeptidase, glutathione, and L-glutamic acid in the rat epididymis during postnatal development. *Biol. Reprod.* 38, 996-1000.
- ALANI, G. T., H. D. EL YASEEN (2009): Creatin kinase activity and malondialdehyde in the seminal plasma of normospermic infertile males. *J. Fac. Med. Baghdad.* 51, 336-340.
- AL-JANABI, A. S., F. A. AL-MEMAWI, M. Q. AL-LAMI (2012): Relationship of seminal reproductive hormones with sperm function tests in asthenospermic patients. *J. Med.* 46, 97-107.
- AM-IN, N., R. N. KIRKWOOD, M. TECHAKUMPHU, W. TANTASUPARUK (2011): Lipid profiles of sperm and seminal plasma from boars having normal or low sperm motility. *Theriogenology* 75, 897-903.
- ARGOV, N., D. SKLAN, Y. ZERON, Z. ROTH (2007): Association between seasonal changes in fatty-acid composition, expression of VLDL receptor and bovine sperm quality. *Theriogenology* 67, 878-885.
- ASADPOUR, R. (2012): Relationship between Mineral Composition of Seminal Plasma and Semen Quality in Various Ram Breeds. *Acta. Sci. Vet.* 40, 1027-1035.
- BARRIOS, B., R. PEREZ-PE, M. GALLEGO, A. TATO, J. OSADA, T. MUINO-BLANCO, J. A. CEBRIAN-PEREZ (2000): Seminal plasma proteins revert the cold-shock damage on ram sperm membrane. *Biol. Reprod.* 63, 1531-1537.
- BASSEY, I. E., O. E. ESSIEN, A. E. UDOH, I. U. IMO, I. O. EFFIONG (2013): Seminal plasma selenium, calcium, magnesium and zinc levels in infertile men. *J. Med. Sci.* 13, 483-487.
- BEER-LJUBIĆ, B., J. ALADROVIĆ, T. S., MARENJAK, R. LAŠKAJ, I. MAJIĆ-BALIĆ, S. MILINKOVIĆ-TUR (2009): Cholesterol concentration in seminal plasma as a predictive tool for quality semen evaluation. *Theriogenology* 72, 1132-1140.

BREITBART, H. (2003): Signaling pathways in sperm capacitation and acrosome reaction. *Cell Mol. Biol.* 49, 321-327.

BRINI, M., D. OTTOLINI, T. CALÍ, E. CARAFOLI (2013): Calcium in Health and Disease. In: *Interrelations between Essential Metal Ions and Human Diseases.* (Sigel, A., H. Sigel, R. K. O. Sigel, Eds.), Springer, Dordrecht, Heidelberg, New York, London, pp. 81-137.

BRÜSSOW, K. P., J. RATKY, H. RORIGUEZ- MARTINEZ (2008): Fertilization and early embryonic development in the porcine fallopian tube. *Reprod. Domest. Anim.* 43, 245-251.

BUCCI, D., G. ISANI, E. GIARETTAM, M. SPINACI, C. TAMANINI, E. FERLIZZA, G. GALEATI (2014): Alkaline phosphatase in boar sperm function. *Andrology* 2, 100-106.

CABALLERO, I., I. PARRILLA, C. ALMIÑANA, D. DEL OLMO, J. ROCCA, E.A. MARTINEZ, J. M. VÁZQUEZ (2012): Seminal Plasma Proteins as modulators of the Sperm Function and Their Application in Sperm Biotechnology. *Reprod. Domest. Anim.* 47, 12-21.

CASTELLILNI, C. (2008): Semen production and management of rabbit bucks. *Proceeding of the 9<sup>th</sup> World Rabbit Congress*, 10-13 June, Verona, Italy, pp. 1-14.

CERGOLJ, M., M. SAMARDŽIJA (2006): Veterinarska andrologija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

CEROLINI, S., A. MALDJAN, F. PIZZI, T. M. GLIOZZI (2001): Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. *Reproduction* 121, 395-401.

ÇEVİK, M., P. B. TUNCER, U. TASDEMİR, T. ÖZGÜRTAS (2007): Comparison of spermatological characteristic and biochemical seminal plasma parameters of normozoospermic and oligoasthenozoospermic bulls of two breeds. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 31, 381-387.

CHAN, S., B. GERSON, S. SUBRAMANIAM (1998): The role of copper, molybdenum, selenium, and zinc in nutrition and health. *Clin. Lab. Med.* 18, 673-685.

CHIA, S. E., C. N. ONG, L. H. CHUA, L. M. HO, S. K. TAY (2000): Comparison of zinc concentrations in blood and seminal plasma and the various sperm parameters between fertile and infertile men. *J. Androl.* 21, 53-57.

CLEMENTS, K. M., C. F. SHIPLEY, D. A. COLEMAN, E. J. EHRHART, W. M. HASCHEK, S. G. CLARK (2010): Azoospermia in an 8-month-old boar due to bilateral obstruction at the testis/epididymis interface. *Can. Vet. J.* 51, 1130-1134.

COLAGAR, A. H., E. T. MARZONY, M. J. CHAICHI (2009): Zinc levels in seminal plasma are associated with sperm quality in fertile and infertile men. *Nutr. Res.* 29, 82-88.

- CROSS, N. L. (1996): Human seminal plasma prevents sperm from becoming acrosomally responsive to the agonist progesterone: cholesterol is the major inhibitor. *Biol. Reprod.* 54, 136-145.
- CROSS, N. L. (1998): Role of cholesterol in sperm capacitation. *Biol. Reprod.* 59,7-11.
- ČEŘOVSKÝ, J., S. FRYDRYCHOVÁ, A. LUSTYKOVÁ, M. ROZKOT (2007): Relationship between abnormal spermatozoa and seminal plasma free amino acids in boars. *Czech. J. Anim. Sci.* 52, 44-49.
- DABROVICH, A. P., P. SARAON, K. JARVI, E. P. DIAMANDIS (2014): Seminal plasma as a diagnostic fluid for male reproductive system disorders. *Nat. Rev. Urol.* 11, 278-288.
- DIACONESCU, C., M. MATEI, G. TĂLPU, P. TĂPĂLOAGĂ (2014): Comparative physicochemical and biochemical characterization of bull and boar semen. *Scientific Papers. Series D. Animal Science.* LVII, 141-145.
- DOGAN, I., U. POLAT, Z. NUR (2009): Correlations between seminal plasma enzyme activities and semen parameters in seminal fluid of Arabian horses. *Iran. J. Vet. Res.* 10, 119-124.
- DUAN, C., E. GOLDBER (2003): Inhibition of lactate dehydrogenase C4 (LDHC4) blocks capacitation of mouse sperm in vitro. *Cytogenet. Genome Res.* 130, 352-359.
- EINARSSON, S., B. GUSTAFSSON, I. SETTERGREN (1976): Alkaline phosphatase activity of epididymal contents in boars with normal or reduced spermatogenesis. *Andrologia* 8, 25-28.
- FAGONE, P., S. JACKOWSKI (2009): Membrane phospholipid synthesis and endoplasmic reticulum function. *J. Lipid Res.* 50, 5311-5316.
- FUNAHASH, H., Z. MACHATY, R. S. PRATHER, B. N. DAY (1996): Gamma-glutamyl transpeptidase of spermatozoa may decrease oocyte glutathione content at fertilization in pigs. *Mol. Reprod. Dev.* 45, 485-490.
- GAVELLA, M., V. LIPOVAC (2009): In vitro effect of zinc on oxidative changes in human semen. *Andrologia* 30, 311-352.
- GLOGOWSKI, J., D. R. DANFORTH, A. CIERESZKO (2002): Inhibition of Alkaline Phosphatase Activity of Boar Semen by Pentoxifylline, Caffeine, and Theophylline. *J. Androl.* 23, 783-792.
- GOLDSTEIN, D. A. (1990): Serum Calcium In: *Clinical Methods The History, Physical, and Laboratory Examinations.* (Walker, H. K., W. Dallas Hall, J. Willis Hurst, Eds.), Butterworths, Boston, pp. 667.

GÜDOĞAN, M. (2006): Some reproductive parameters and seminal plasma constituents in relation to season in Akkaraman and Awassi rams. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 30, 95-100.

GUTZMIRTL, H. (2013): Utjecaj hibridne linije dobi i individualnih svojstava na biokemijski sastav sjemene plazme nerastova. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska.

HALLAK, J., R. K. SHARMA, F. F. PASQUAOTTO, P. RANGANATHAN, A. J. THOMAS, JR, A. AGARAWAL (2001): Creatine kinase as an indicator of sperm quality and maturity in men with oligospermia. *Urology* 58, 446-445.

HAMDI, S. A., O. I. NASSIF, M. S. ARDAWI (1997): Effect of marginal or severe dietary zinc deficiency on testicular development and functions of the rat. *Arch. Androl.* 38, 243-253.

HEEREN, J., W. WEBER, U. BEISIEGEL (1999): Intracellular processing of endocytosed triglyceride-rich lipoproteins comprises both recycling and degradation. *J. Cell. Sci.* 112, 349-359.

HONG, C. Y., B. N. CHIANG, P. TURNER (1984): Calcium ions is the key regulator of human sperm function. *Lancet.* 324, 1449-1451.

HOTZ, C., K. H. BROWN (2004): Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr. Bull.* 25, 91-203.

HUACUJA, L., N. M. DELGADO, L. CALZADA, A. WENS, R. REYES, N. PEDRÓN, A. ROSADO (1981): Exchange of lipids between spermatozoa and seminal plasma in normal and pathological human semen. *Arch. Androl.* 7, 343-349.

HUSZAR, G., L. VIGUE (1993): In complete development of human spermatozoa is associated with increased creatine phosphokinase concentrations and abnormal head morphology. *Mol. Reprod. Dev.* 34, 292-298.

HUSZAR, G., M. CORRALES, L. VIGUE (1988a): Correlation between sperm creatinine phosphokinase activity, and sperm concentrations in normospermic and oligospermic men. *Gamete. Res.* 19, 67-75.

HUSZAR, G., L. VIGUE, M. CORRALES (1988b): Sperm creatine phosphokinase activity as a measure of sperm quality in normospermic, variable spermic and oligospermic men. *Biol. Reprod.* 38, 1061-1066.

HUSZAR, G., L. VIGUE, S. OEHNINGER (1994): Creatine kinase immunocytochemistry of human spermatozoa-sperm complexes: selective binding of sperm with mature creatine kinase-staining pattern. *Fertil. Steril.* 61, 136-142.

HUSZAR, G., M. SBRACIA, L. VIGUE, D. J. MILLER, B. D. SHUR (1997): Sperm plasma membrane remodeling during spermiogenetic maturation in men: relationship among plasma membrane,  $\beta$  1,4-Galactosyltransferase, cytoplasmic creatine phosphokinase and creatine phosphokinase isoform ratios. *Biol. Reprod.* 56, 1020-1024.

IRVINE, D. S. (1996): Glutathine as a treatment for male infertility. *Rev. Reprod.* 1,6-12.

JACYNO, E., A. KOKODZIEJ, M. KAVEĆKA, A. PITRUSZKA, B. MATYSIAK, M. KAMYCZEK (2009): The relationship between blood serum and seminal plasma cholesterol content in young boars and their semen qualitative traits and testes size. *Arch. Tierzucht* 52, 161-168.

JUYENA, N. S., C. STELLETTA (2012): Seminal plasma an essential attribute to spermatozoa. *J. Androl.* 33, 536-551.

KAMP, G., G. BÜSSELMANN, N. JONES, B. WIESNER, J. KAUTERWEIN (2003): Energy metabolism and intracellular pH in boar spermatozoa. *Reproduction* 126, 517-525.

KAVANACH, J. P., C. DARBY (1983): Creatine kinase and ATPase in human seminal fluid and prostatic fluid. *J. Reprod. Fert.* 68, 51-56.

KAYA, A., M. ASKOY, T. TEKELI (2002): Influence of ejaculation frequency on sperm characteristics, ionic composition and enzymatic activity of seminal plasma in rams. *Small Ruminant Res.* 44, 153-158.

KELSO, K. A., A. REDPATH, R. C. NOBLE, B. K. SPEAKE (1997): Lipid and antioxidant changes in spermatozoa and seminal plasma throughout the reproductive period of bulls. *J. Reprod. Fert.* 109, 1-6.

KOZIOROWSKA-GILUN, M., M. KOZIOROWSKI, J. STRZEŻEK, L. FRASER (2011a): Seasonal changes in antioxidant defence systems in seminal plasma and fluids of the boar reproductive tract. *Reprod. Biol.* 11, 37-47.

KULKA, P., H. P. NISSEN, H. W. KREYSEL (1984): Triglycerides and phospholipids-relation to fertility. *Andrologia.* 16, 48-51.

KUMAR, R. T., A. L. WISEMAN, G. KALA, S. V. KALA, M. M. MATZUK, M. W. LIEBERMAN (2000): Reproductive defects in g-glutamyl transpeptidase deficient mice. *Endocrinology* 141, 4270-4277.

LI, S. S. L., W. M. FITCH, Y. C. E. PAN, F. S. SHARIEF (1993): Evolutionary relationships of vertebrate lactate dehydrogenase isozymes A4 (muscle), B4 (heart), and C4 (testis). *J. Biol. Chem.* 258, 7029-7032.

- LIPENSKÝ, J., A. LUSTYKOVÁ, S. FRYDRYCHOVÁ, E. VÁCLAVKOVÁ, M. ROZKOTI, J. ČEŘOVSKÝ (2014): Seminal plasma zinc concentration in relation to sperm quality parameters in boars. *Res. in Pig Breed.* 8, 29-31.
- LOGOGLU, G., A. KENDIRCI, T. ÖZGÜNEN (1997): The role of seminal calcium in male infertility. *J. Islamic Acad. Sci.* 10, 25-27.
- LÓPEZ RORÍGUEZ, A., T. RIJSSELAERE, J. BEEK, P. VYT, A. VAN SOOM, D. MAES (2013): Boar seminal plasma components and their relation with semen quality. *Syst. Biol. Reprod. Med.* 59, 5-12.
- LORNAGE, J., J. F. GUERIN, J. C. CZYBA, Y. MENEZO (1983): Influence of cations and albumin on human spermatozoa. *Arch. Androl.* 10, 119-125.
- MANN, T. (1954): *The biochemistry of semen.* Metuen and Co. Ltd. London.
- MANTAGON, D., B. VALATAT, F. VIGNON, M. H. KOLL-BACK (1990): Secretory proteins of human seminal vesicles and their relationship to lipids and sugar. *Andrologia* 22, 193-205.
- MERT, H., K. KARAKUS, A. YILMAZ, T. AYGUN, N. MERT, B. APAYDIN, E. SEYHAN (2009): Effects of genotype on testis, semen quality, and mineral composition of semen in various ram breeds. *Biol. Trace Elem. Res.* 132, 93-102.
- MESEGUER, M., N. GARRIDO, J.A. MARTÍNEZ-CONEJERO, C. SIMÓN, A. PELLICER, J. REMOHÍ (2004): Relationship between standard semen parameters, calcium, cholesterol contents, and mitochondrial activity in ejaculated spermatozoa from fertile and infertile males. *J. Assist. Reprod. Genet.* 21, 445-451.
- MOORE, H. D. M., G. A. HALL, K. G. HIBBITT (1976): Seminal plasma proteins and the reaction of spermatozoa from intact boars and from boars without seminal vesicles to cooling. *J. Reprod. Fert.* 47, 39-45.
- MURASE, T., N. IMAEDA, H. YAMADA, K. MIYAZAWA (2007): Seasonal changes in semen characteristics, composition of seminal plasma and frequency of acrosome reaction induced by calcium and calcium ionophore A23187 in Large White boars. *J. Reprod. Dev.* 53, 853-865.
- ODET, F., C. DUAN, W. D. WILLIS, E. H. GOUDING, A. KUNG, E. M. EDDY, E. GOLDBERG (2008): Expression of the gene for mouse lactate dehydrogenase C (*Ldhc*) is required for male fertility. *Biol. Reprod.* 79, 26-32.
- PASTERNAK, K., J. KOCOT, A. HORECKA (2012): Biochemistry of magnesium. *J. Elementol.* 15, 601-616.

PESCH, S., M. BERGMANN, H. BOSTEDT (2006): Determination of some enzymes and macro – and microelemens in stallion seminal plasma and their correlations to semen quality. *Theriogenology* 66, 307-313.

PICKETT, B. W., R. J. KOMAREK (1966): Lipid and dry weight of bovine seminal plasma and spermatozoa from first and second ejaculates. *J. Dairy. Sci.* 50, 742-746.

PONCE, R. H., C. S. CARRIAZO, N. T. VERMOUNTH (2001): Lactate dehydrogenase activity of rat epididymis and spermatozoa: Effect of constant light. *Eur. J. Histochem.* 45, 141-150.

PRIEN, S. D. (1991): A comparative study of calcium utilization in human and porcine spermatozoa. PhD Thesis, Texas Tech University, Libbock, Texas USA.

RENGAN, A. K., A. AGARWAL, M. VAN DER LINDE, S. S. DU PLESSIS (2012.): An investigation of excess residual cytoplasm in human spermatozoa and its distinction from the cytoplasmic droplet. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 10, 92. <http://www.rbej.com/content/10/1/92>

RODRIGUEZ-MARTINEZ, H., U. KVIST, J. ERNERUNH, L. SANZ, J. J. CALVETE (2011): Seminal plasma proteins: what role do they play? *Am. J. Reprod.* 59, 7-11.

ROLAND, E. R. S. (1998): Role of phospholipase during sperm acrosomal exocytosis. *Front. Biosci.* 3, D1109-D1119.

SALZBERGER, Z., L. M. LEWIN, R. SHALGI (1992): Loss of acid phosphatase from tar spermatozoa as a method for assessing acrosome reaction. *Andrologia* 24, 155-159.

SEBASTIAN, S. M., S. SELVARAJ, M. M. ARULDHAS, P. GOVINDARAJULU (1987): Pattern of neutral and phospholipids in the semen of normospermic, oligospermic and azoospermic men. *J. Reprod. Fert.* 79, 373-378.

SELIGMAN, J. G. L. NEWTON, R. C. FAHEY, R. SHALGI, N. S. KOSOWER (2005): Nonprotein thiols and disulfides in rat epididymal spermatozoa and epididymal fluid: role of g-glutamyl- transpeptidase in sperm maturation. *J. Androl.* 26, 629-637.

SHARPE, R. L., M. DROLET, D. L. MACLATCHY (2006): Invstigation of de novo cholesterol synthetic capacity in the gonads of goldfish (*Carassius auratus*) exposed to the phytosterol. *Reprod. Biol. Endocrin.* 4, 1-11.

SIKKA, S. C. (1996): Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Front. Biosci.* 1, 78-86.

SORENS, M. B., I. A. BERGDAHL, N. H. HJOLLUND, J. P. BONDE, M. STOLTENBERG, E. ERNST (1999): Zinc, magnesium and calcium in human seminal



plasma fluid: relations to other semen parameters and fertility. *Mol. Hum. Reprod.* 5, 331-337.

SOUCEK, D. A., J. C. VVARY (1984): Some properties of acid and alkaline phosphatases from boar sperm plasma membranes. *Biol. Reprod.* 31, 687-693.

STASIAK, K. B. JANICKI, B. KUPCEWICZ (2010): Biologic parameters of polar fox (*Alopex lagopus* L.) semen during the breeding season. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 34, 327-331.

STEFANOV, R., D. ABADJIEVA, M. CHERVENKOV, E. KISTANOVA, D. KACHEVA, P. TAUSHANOVA, B. GEORGIEV (2013): Enzyme activities and motility of boar spermatozoa during 72- hours lowtemperature storage. *Bulg. J. Vet. Med.* 16, 237-242.

STRZEŻEK, J. (2002): Secretory activity of boar seminal vesicle gland. *Reprod. Biol.* 2, 243-265.

SWAMINATHAN, R. (2003): Magnesium metabolism and its disorders. *Clin. Biochem. Rev.* 24, 47-66.

TALLURI, T. R., G. MAL. S. K. RAVI (2017): Biochemical components of seminal plasma and their correlation to the fresh seminal characteristics in Marwari stallions and Potou jacks. *Veterinary World*, 10 (2): 214-220.

TEIXEIRA, A. M., G. F. BORGES (2012): Creatine kinase: structure and function. *Braz. J. Biomotricity* 6, 53-65.

TURNER, R. M. O., S. M. McDONELL (2003): Alkaline phosphatase in stallion semen: characterization and clinical applications. *Theriogenology* 60, 1-10.

URNER, F., D. SAKKAS, (2003): Protein phosphorylation in mammalian spermatozoa. *Reproduction* 125, 17-26.

VADNAIS, M. L., K. P. ROBERTS (2007): Effects of seminal plasma on cooling induced capacitive changes in boar sperm. *J. Androl.* 28, 416-422.

VIGNON, F., A. CLAVERT, M. H. KOLL-BACK, P. REVILLE (1992): On the glandular origin of seminal plasma lipids in man. *Andrologia* 24, 341-343.

WABERSKI, D., J. A. GUILLEN-SOAREZ, E. BANDEIRA DE ARRUNDA, K. F. WEITZE (1996): Effect of a transcervical infusion of seminal plasma on the fertilizing competence of low numbers of boar spermatozoa under controlled AI ovulation intervals. *Anim. Reprod. Sci.* 44, 165-173.

WALLIMANN, T., H. MOSE, R. B. ZURBRIGGEN, G. WEGMANN, H. M. EPPENBERGER (1986): Creatine kinase isoenzymes in spermatozoa. *J. Muscle. Res. Cell Motil.* 7, 25-34.

- WALLIMANN, T., M. WYSS, D. BRDICZKA, K. NICOLAY, H. M. EPPENBERGER (1992): Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. *Biochem. J.* 281, 21-40.
- WALLIMANN, T., W. HAMMER (1994): Creatine kinase in non-muscle tissues and cells. *Mol. Cell Biochem.* 133/134, 193-220.
- WHO (2010): World Health Organization: WHO laboratory manual for the examination of human sperm and semen – cervical mucus interaction. 5<sup>th</sup>ed., WHO press, Geneva.
- WHTFIELD, J. B. (2001): Gamma glutamyl transferase. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 38, 263-355.
- WISE, T., L. D. YOUNG, W. G. POND (1993): Reproductive endocrine and organ weight differences of swine selected for high or low serum cholesterol. *J. Anim. Sci.* 71, 2732-2738.
- WITTE, T. S., S. SCHÄER-SOMI (2007): Involvement of cholesterol, calcium and progesterone in the induction of capacitation and acrosome reaction of mammalian spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 102, 181-193.
- WONG, W. Y., G. FLIK, P. M. GROENEN, D. W. SWINKWILWS, C. M. THOMAS, J. H. COPIUS-PEEREBOOM, H. M. MERKUS, R. P. STRRIGERS-THEUNISSEN (2011): The impact of calcium, magnesium, zinc and copper in blood and seminal plasma on semen parameters in men. *Reprod. Toxicol.* 15, 131-136.
- WYSOCKI, P., J. STRZEZEK (2003): Purification and characterization of a protein tyrosine acid phosphatase from boar seminal vesicle glands. *Theriogenology* 59, 1011-1025.
- YOKOHAMA, H. (2007): Gamma glutamyl transpeptidase (gamma GTP) in the era of metabolic syndrome. *Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi* (in Japanese). 42, 110-124.
- ZANEVELD, L. J., C. J. DE JONGE, R. A. ANDERSON, S. R. MACK (1991): Human sperm capacitation and the acrosome reaction. *Hum. Reprod.* 6, 1265-1274.
- ZDUŃCZYK, S., T. JANOWSKI, A. RAŚ, W. BARANSKI (2011): Concentrations of oestrogens in blood plasma and seminal plasma of boars during the postpuberal period. *Pol. J. Vet. Sci.* 14, 539-544.
- ZEQIRAJ, A., Z. GASHI (2014): Creatine kinase activity in human seminal fluid. *Int. J. Innov. Sci. Eng. Technol.* 1, 3. [www.ijiset.com](http://www.ijiset.com)
- ZHANG, R. S., H. J. SUN, L. W. ZHENG (2010): Correlation of the contents of trace elements in male body fluids with sperm quality. *Zhonghua Nan Ke Xue* 16, 1019-1022.

ZHAO, R. P., C. L. XIONG (2005): Zinc content analysis in serum, seminal plasma and spermatozoa of asthenozoospermic and oligoasthenozoospermic patients. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 11, 680-682.

ŽURA ŽAJA, I. (2015): Pokazatelji antioksidacijskog sustava u sjemenoj plazmi i spermijima rasplodnih nerastova različitih pasmina. Doktorski rad, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska.

ŽURA ŽAJA, I., M. SAMARDŽIJA, S. VINCE, A. SLUGANOVIĆ, S. STRELEC, J. ŠURAN, I. DELVECHIO, D. ĐURIČIĆ, M. OSTOVIĆ, H. VALPOTIĆ, S. MILINKOVIĆ-TUR (2016b): Antioxidant protection and lipid peroxidation in testes and different parts of epididymis in boars. *Theriogenology* 86, 2194-2201.

ŽURA ŽAJA, I., M. SAMARDŽIJA, S. VINCE, I. MAJIĆ-BALIĆ, M. VILIĆ, D. ĐURIČIĆ, S. MILINKOVIĆ-TUR (2016a): Influence of boar breeds or hybrid genetic composition on semen quality and seminal plasma biochemical parameters. *Anim. Reprod. Sci.* 164, 169-176.

ŽURA ŽAJA, I., M. SAMARDŽIJA, S. VINCE, M. VILIĆ, I. MAJIĆ-BALIĆ, D. ĐURIČIĆ, S. MILINKOVIĆ-TUR (2016c): Differences in seminal plasma and spermatozoa antioxidative systems and seminal plasma lipid and protein levels among boar breeds and hybrid genetic traits. *Anim. Reprod. Sci.* 170, 75-82.

## 7. SAŽETAK

Ejakulat je mješavina spermija proizvedenih u testisima i sjemene plazme koju izlučuju akcesorne spolne žlijezde i epididimisi, a miješaju se tijekom ejakulacije. Sjemena plazma sadrži različite čestice koje utječu na funkciju i preživljavanje spermija tijekom prolaska kroz ženski spolni sustav, a ima i važne regulatorne funkcije u raznim procesima prije prodora spermija u jajnu stanicu. Funkcije se odnose na prehranu, zaštitu, regulaciju gibljivosti i kapacitaciju spermija, prepoznavanje i vezanje gamenta. Spoznaje o fiziološkim značajkama spermija i sjemene plazme te utjecaj pasmine, linije i pojedinačnih značajki rasplodnjaka, preduvjet su za uspješno unapređenje reproduktivne učinkovitosti te nasljeđivanje najboljih značajki genoma sjemena. Poznavanje kemijskog sastava sjemene plazme je važno pri odabiru razrjeđivača, koji održava i produžuje životni vijek spermija tijekom čuvanja sjemena. Biokemijski pokazatelji, lipidi, bjelančevine i minerali, sudjeluju u izgradnji i metaboličkim procesima spermija. Lipidi se nalaze u staničnoj membrani spermija, sudjeluju u metabolizmu i kapacitaciji spermija, hiperaktivaciji i akrosomskoj reakciji te oplodnji jajne stanice. Bjelančevine sudjeluju u kapacitaciji i oplodnji, a pri transportu spermija fagocitiraju i vežu propale spermije. Minerali u sjemennoj plazmi uspostavljaju i održavaju osmotsku ravnotežu, djeluju antibakterijski, neophodni su za pravilno gibanje spermija, neki od minerala su sastavni dijelovi enzima, dok drugi sudjeluju u njihovoj aktivaciji. Istraživanja neplodnosti, posebice muškaraca, su usmjerena sve više na analiziranje i određivanje parametara sjemene plazme, jer se ustvrdilo da brojnost i gibljivost spermija nisu jedino mjerilo uspješne oplodnje već je nužan kvalitetan medij za održavanje njihovih karakteristika. Sjemena plazma ima ulogu u održavanju spermija sposobnim za oplodnju, osigurava im medij za transport prilikom kojeg pruža zaštitu od oksidacijskog stresa te osigurava nutrijente potrebne za kapacitaciju i uspješnu oplodnju.

**Ključne riječi:** biokemijski pokazatelji, sjemena plazma, spermij, lipidi, bjelančevine, minerali

## 8. SUMMARY

### **Biochemical parameters of seminal plasma in animals and humans**

Semen is a mixture of spermatozoa, produced by testicles, and seminal plasma secreted by accessory sexual glands and epididymis, to be combined at the time of ejaculation. Seminal plasma contains particles of different size which have effects on the spermatozoa viability and function during their transit along the female reproductive tract, and have the important physiological functions in different processes before penetration of a spermatozoon into an egg cell. These functions refer to as: nutrition, protection, regulation of motility and capacitation of spermatozoa, gamete recognition and binding. Knowledge of physiological characteristics of sperm and seminal plasma, influence of breed, lines and individual impacts of disorders, are prerequisite for further advancement in the reproduction efficiency and inheritance of the best traits of the semen genome. Knowledge regarding chemical composition of seminal plasma is very important in selection of the diluent, because it maintains and extends a lifetime of the spermatozoa during keeping of the semen. Biochemical parameters, such as lipids, proteins and minerals, participate in the metabolic and other process of spermatogenesis. Lipids are constituents of the cell membrane, participate in the metabolism and capacitation of spermatozoa, hyperactivation and acrosomal reaction as well as in the fertilization of an egg cell. Proteins participate in the capacitation and fertilization, in the transportation of spermatozoa through female reproductive tract as well as they facilitate phagocytosis and binding of dysfunctional spermatozoa. Minerals in the seminal plasma establish and maintain the osmotic equilibrium, they act as antibacterial agents, and are essential for the proper motility of spermatozoa., Some of them are components of the enzymes, while some participate in their activation. The studies regarding infertility, especially in man, are based more on analyzing and determining parameters of seminal plasma, because number and motility of spermatozoa are not the only prerequisite for successful fertilization. Namely, it is also necessary to have a quality medium for maintaining their normal characteristics. Seminal plasma plays an important role in the maintenance of the spermatozoa capable for fertilization. It provides the medium for their transport, enables protection from the oxidative stress and also provides essential nutrients for the capacitation and successful fertilization.

**Key words:** biochemical parameters, seminal plasma, spermatozoa, lipids, proteins, minerals

## **9. ŽIVOTOPIS**

Rođena sam 25.11.1993. godine u Bjelovaru. Pohađala sam Osnovnu školu Mato Lovrak u Velikom Grđevcu. Srednju školu sam odlučila upisati u Bjelovaru, gdje sam završila Gimnaziju, prirodoslovno-matematičko usmjerenje. Godine 2012. upisujem Veterinarski fakultet u Zagrebu, kojeg tijekom cijelog studija pohađam kao redoviti student.