

М. М. Атрощенко¹, М. Г. Енгальчева^{2, 1}, А. М. Шитикова^{2, 1}

Уровень острофазовых белков крови как прогностический критерий криоустойчивости спермы жеребцов

Аннотация.

Показатели биохимического анализа крови лошадей отражают состояние метаболизма животного и являются при этом потенциальными предикторами качественных характеристик сперматозоидов, замораживание которых является одним из актуальных способов сохранения и дальнейшего использования генетического материала.

Целью настоящего исследования стало выявление корреляционных взаимосвязей между уровнем таких острофазовых белков крови, как С-реактивный белок и фибриноген, и характеристиками нативной и криоконсервированной спермы жеребцов.

Материалы и методы. Объектом исследования стали образцы крови и спермы 87 жеребцов разных пород (арабской чистокровной, траккененской, орловской рысистой, советской тяжеловозной) в возрасте от 4 до 20 лет (в среднем $10,5 \pm 0,5$ лет). Для оценки белкового статуса крови, помимо вышеуказанных острофазовых белков, определяли содержание общего белка, уровня альбумина, глобулинов, соотношение альбумин/глобулины.

Результаты. При анализе корреляционных связей между изучаемыми показателями была выявлена статистически значимая отрицательная взаимосвязь между уровнем фибриногена в плазме крови и такими показателями как содержание прогрессивно подвижных сперматозоидов в нативной и криоконсервированной сперме ($r = -0,22$, $p < 0,05$ и $r = -0,29$, $p < 0,01$, соответственно), а также выживаемостью сперматозоидов при гипотермическом хранении разбавленной и заморожено-оттаянной спермы ($r = -0,48$, $p < 0,001$ и $r = -0,22$, $p < 0,05$, соответственно). Не было выявлено статистически достоверных взаимосвязей между уровнем С-реактивного белка и изучаемыми показателями спермы. Выявленная отрицательная корреляционная связь между уровнем фибриногена и характеристиками спермы позволяет рассматривать концентрацию фибриногена в крови как маркер качества и криоустойчивости спермы жеребцов.

Ключевые слова: жеребцы, сперма, криоконсервация, криоустойчивость, белки крови, острофазовые белки, фибриноген.

Авторы:

Атрощенко Михаил Михайлович – кандидат биологических наук; e-mail: atomiks-77@mail.ru;

Енгальчева Мария Германовна – кандидат медицинских наук; e-mail: mariyanaaber@yandex.ru;

Шитикова Анна Михайлова – кандидат биологических наук; e-mail: anyakudlaeva@mail.ru.

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства; 391105, Россия, Рязанская область, Рыбновский район, п. Дивово;

² Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации; 390026, Россия, Рязань, ул. Высоковольтная, 9.

Введение. Криоконсервация спермы является одним из основных способов длительного сохранения генетического материала от ценных производителей. Одним из основных преимуществ использования замороженной спермы в любой программе разведения животных является её длительное хранение (в течение многих десятилетий) в условиях сверхнизких температур без снижения качественных характеристик, а также возможность транспортировки криоконсервированного генетического материала на длительные расстояния [1, 2]. Несомненно, что при замораживании и последующем оттаивании снижается качество

спермы, а сама методика криоконсервации достаточно трудоемкая и экономически затратная, поэтому необходимо тщательно подходить к отбору животных для криоконсервации генетического материала [3, 4]. Многие исследования направлены на поиск диагностических маркеров, которые могли бы помочь спрогнозировать качество нативной, охлажденной и криоконсервированной спермы. Среди потенциальных претендентов на роль таких признаков-маркеров рассматриваются показатели биохимического анализа крови животных. С одной стороны, кровь является интегральной средой организма, наглядно отражающей состояние мета-

болических процессов, происходящих в различных клетках. С другой стороны, сперматогенез, как один из физиологических процессов, непосредственно зависит от полноценности функционально-метаболического состояния организма животного [5, 6].

Цель исследований - изучение взаимосвязи между уровнем острофазовых белков в крови, а именно концентрацией С-реактивного белка, фибриногена и характеристиками свежей и криоконсервированной спермы жеребцов.

Материалы и методы. Проведение исследования осуществляли на базе АО «Терский племенной конный завод №169» (Ставропольский край), Починковского и Перевозского конных заводов (Нижегородская область), лаборатории криобиологии ФГБНУ «ВНИИ коневодства» (Рязанская область) и кафедре биологической химии с курсом КЛД ФДПО ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (Рязань). В опытах использовали 87 жеребцов разных пород (арабской чистокровной, траккененской, орловской рысистой, советской тяжеловозной) в возрасте от 4 до 20 лет (в среднем $10,5 \pm 0,5$ лет). Сперму от жеребцов получали на кобылу в охоте с помощью искусственной вагины с интервалом 48 ч (не менее 5 эякулятов от каждого животного) в течение случного сезона (февраль-май) 2015-2020 гг. Каждый образец спермы оценивали по следующим показателям: объем эякулята, концентрация сперматозоидов в 1 мл спермы, общее количество сперматозоидов в эякуляте, прогрессивная подвижность и выживаемость сперматозоидов при температуре (Т) $+4^{\circ}\text{C}$. Образцы нативной спермы разбавляли лактозо-хелато-цитратно-желточной средой (ЛХЦЖ) в объемном соотношении 1:3. Разбавленную сперму после периода эквilibрации (в течении двух часов при температуре $+4^{\circ}\text{C}$) замораживали в алюминиевых трубах объемом 18 мл в парах жидкого азота по технологии

ВНИИ коневодства. Криоконсервированную сперму хранили в жидком азоте при температуре -196°C . Оттаивание спермы проводили на водяной бане при температуре $+40^{\circ}\text{C}$ в течение 90 с, после чего определяли прогрессивную подвижность и выживаемость сперматозоидов при $+4^{\circ}\text{C}$.

Забор крови у животных проводили однократно натошак в период получения спермы. В сыворотке крови с помощью диагностических наборов фирмы ASSEL S.r.l. (Италия) определяли концентрацию следующих биохимических показателей: общий белок, альбумин, С-реактивный белок. Исследования проводили на биохимическом анализаторе Vegasys (Analyzer Medical System, Италия). Фибриноген в плазме крови определяли весовым методом по Рутберг Р. А. Концентрацию глобулинов, величину белкового коэффициента «альбумин/глобулины» определяли расчетным методом.

Для обработки полученных результатов использовали пакеты прикладных программ Microsoft Excel и Statistica 13.3 («StatSoft, Inc.», США). Нормальность распределения количественных признаков определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Наличие корреляционных связей определяли с помощью коэффициента Спирмена (rs). Достоверность различий оценивали при помощи критерия Манна-Уитни. Результаты представлены в виде среднеарифметической (М) и её стандартной ошибки (m), а также минимального (Min) и максимального (Max) значений. Отличия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Средние значения показателей спермы жеребцов приведены в таблице 1, значения исследуемых параметров биохимического анализа крови – в таблице 2.

При анализе корреляционных связей между изучаемыми показателями была выявлена статистически значимая отрицательная корреляция между уровнем фибриногена в плазме крови и такими по-

Таблица 1. Показатели спермы жеребцов

| Показатель | Значение | | |
|---|-----------------|------|------|
| | $M \pm m$ | Min | Max |
| Объем эякулята, мл | $49,4 \pm 3,6$ | 15 | 104 |
| Концентрация сперматозоидов, млн/мл | $212,8 \pm 9,0$ | 94 | 412 |
| Общее количество сперматозоидов в эякуляте, млрд. | $9,5 \pm 0,5$ | 2,15 | 16,5 |
| Прогрессивная подвижность сперматозоидов, % | $49,5 \pm 1,2$ | 25,4 | 63,2 |
| Выживаемость сперматозоидов при Т $+4^{\circ}\text{C}$, час | $116,3 \pm 5,8$ | 36 | 240 |
| Прогрессивная подвижность сперматозоидов в криоконсервированной сперме, % | $19,2 \pm 0,8$ | 5,2 | 39,4 |
| Выживаемость сперматозоидов при Т $+4^{\circ}\text{C}$ в криоконсервированной сперме, час | $54,6 \pm 3,4$ | 12 | 132 |

казателями как прогрессивная подвижность сперматозоидов в нативной и криоконсервированной сперме ($r=-0,22$, $p<0,05$ и $r=-0,29$, $p<0,01$, соответственно), а также выживаемость сперматозоидов при гипотермическом хранении разбавленной и криоконсервированной спермы ($r=-0,48$, $p<0,001$ и $r=-0,22$, $p<0,05$, соответственно) (табл. 3).

Статистически достоверных взаимосвязей между уровнем С-реактивного белка, альбумина, глобулинов и изучаемыми характеристиками спермы в данном исследовании выявлено не было.

Фибриноген относится к β -глобулярной фракции плазменных белков, синтезируемых в основном в печени животного, в меньшей степени — в клетках ретикулоэндотелиальной системы, мегакариocyтах и тромбоцитах. Этот протеин относится к группе фибриллярных белков с тремя парами полипептидных цепей ($A\alpha$, $B\beta$ и $\gamma\gamma$), связанных 29 дисульфидными связями; имеет длину около 45нм, содержит периферические глобулярные домены (D), а также центральный E-домен. α - и β -цепи на N-концах имеют структуры, которые закрывают комплементарные участки в белке, не позволяя тем самым ему взаимодействовать с другими молекулами фибриногена и полимеризоваться [7].

Данный гликопротеин играет ключевую роль в коагуляционном гемостазе (центральные участки белковой молекулы расщепляются тромбином, при этом растворимый фибриноген превращается в нерастворимый полимер), одновременно с этим является важным положительным острофазовым белком (ОФБ) [7, 8].

Повышение уровня фибриногена в крови может свидетельствовать о наличии латентных воспалительных, иммуноопосредованных процессов в организме, в том числе влияющих на качество и криостабильность спермы у жеребцов [9].

Все ОФБ можно разделить на 3 группы. К первой относятся церулоплазмин и компонент С3 системы комплемента. При воспалении их содержание в крови повышается на 25-50 %. Во вторую группу относят α_1 -антитрипсин, α_1 -антихимотрипсин, β_2 -макроглобулин, гаптоглобин и фибриноген. В острую фазу воспалительной реакции уровень этих белков повышается в 2-3 раза. Белки этих групп играют протективную роль, ограничивая самоповреждение, обеспечивают предельное, а значит, и экономное использование других факторов врожденной резистентности. Наконец, в третью группу включены С-реактивный белок,

Таблица 2. Значения биохимических показателей сыворотки и плазмы крови жеребцов

| Показатель | Значение | | |
|-----------------------------------|----------------|------|------|
| | M \pm SEM | Min | Max |
| Общий белок, г/л | 67,5 \pm 0,7 | 53 | 90,2 |
| Альбумин, г/л | 39,6 \pm 0,6 | 29 | 49,5 |
| Глобулины, г/л | 28,4 \pm 0,8 | 16,2 | 54,9 |
| «Альбумин/глобулины», условн. ед. | 1,5 \pm 0,1 | 0,8 | 3 |
| СРБ, мг/л | 2,8 \pm 0,5 | 0 | 12 |
| Фибриноген, г/л | 3,1 \pm 0,1 | 1,5 | 7,7 |

Таблица 3. Зависимость характеристик спермы жеребцов от показателей биохимического анализа крови (коэффициент Спирмена)

| Показатель | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|----------------------|-------|-------|-------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Общий белок | -0,14 | -0,02 | -0,07 | -0,13 | -0,29b | -0,21 | -0,28b |
| Альбумин | 0,01 | 0,14 | 0,14 | -0,1 | -0,09 | -0,21 | -0,21 |
| Глобулины | -0,16 | -0,1 | -0,16 | -0,01 | -0,13 | -0,01 | -0,05 |
| «Альбумин/глобулины» | 0,14 | 0,12 | 0,19 | -0,03 | 0,08 | -0,06 | -0,04 |
| СРБ | 0,02 | -0,04 | 0,04 | 0,09 | 0,13 | 0,07 | 0,08 |
| Фибриноген | -0,21 | 0,09 | -0,12 | -0,22a | -0,48c | -0,29b | -0,22a |

Примечания:

1 — объем эякулята, 2 — концентрация сперматозоидов в 1 мл спермы, 3 — общее количество сперматозоидов в эякуляте, 4 — прогрессивная подвижность сперматозоидов, 5 — выживаемость сперматозоидов при T +4°C, 6 — прогрессивная подвижность сперматозоидов в криоконсервированной сперме, 7 — выживаемость сперматозоидов при T +4°C в криоконсервированной сперме
a — $p < 0,05$; b — $p < 0,01$; c — $p < 0,001$

маннозосвязывающий протеин, сывороточный амилоид А и интерлейкин-1 β . Их уровень при воспалении увеличивается почти в 1000 раз [10-12].

Организм животного ежеминутно подвергается различным внешним и внутренним воздействиям, приводящим к запуску работы неспецифических защитных систем. В их числе широкий спектр физиологических и патологических реакций, среди которых особо важную роль играет выработка ОФБ [10].

Функции положительных ОФБ многочисленны: оптимизации работы системы клеточного иммунитета, активация фагоцитирующих клеток для защиты организма от различных инородных объектов, а также обломков погибающих клеток, активация белков свертывающей системы крови и белков системы комплемента. Синтез ОФБ тесно взаимосвязан с влиянием различных гормонов и цитокинов, которые, как известно, воздействуют практически на все ткани и клетки организма [13].

Так, известно, что существенное влияние на выработку фибриногена оказывают интерлейкины 1 и 6 (IL-1, IL-6), фактор некроза опухоли α (TNF- α), интерферон γ (IFN- γ) и трансформирующий ростовой фактор β (TGF- β) [14]. При этом установлено, что IL-6, TNF- α и IFN- γ отрицательно влияют на морфологические характеристики сперматозоидов, их оплодотворяющую способность и выживаемость [15]. Можно предположить, что у жеребцов с более высоким уровнем фибриногена концентрация данных цитокинов в крови выше,

гемато-тестикулярный барьер для них легко проходим, а значит, они могут оказать отрицательное влияние на характеристики сперматозоидов.

Также при анализе результатов выявлена отрицательная корреляционная связь между уровнем общего белка и выживаемостью сперматозоидов при температуре +4°C как в нативной, так и в оттаянной сперме ($r = -0,29$, $p < 0,01$ и $r = -0,28$, $p < 0,01$, соответственно) (табл. 3). С одной стороны, имеются данные о протективном действии белков, в частности альбуминов, на устойчивость сперматозоидов к криоконсервации [16]. Но учитывая наличие гематотестикулярного барьера, а также достаточную вариабельность уровня общего белка в сыворотке крови, данный показатель трудно назвать информативным маркером, отражающим качество спермы жеребцов.

Заключение. Установлена статистически значимая отрицательная корреляция между уровнем фибриногена в плазме крови и такими показателями как прогрессивная подвижность сперматозоидов в нативной и криоконсервированной сперме ($r = -0,22$, $p < 0,05$ и $r = -0,29$, $p < 0,01$, соответственно), а также выживаемость сперматозоидов при гипотермическом хранении разбавленной и криоконсервированной спермы ($r = -0,48$, $p < 0,001$ и $r = -0,22$, $p < 0,05$, соответственно). Выявленная отрицательная корреляционная связь между уровнем фибриногена и характеристиками спермы позволяет рассматривать концентрацию фибриногена в крови как маркер качества и криоустойчивости спермы жеребцов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, грант № 075-15-2021-1037 (внутренний № 15.БРК.21.0001). Образцы криоконсервированной спермы были получены из биоресурсной коллекции «Криобанк генетических ресурсов» ФГБНУ «ВНИИ коневодства». Исследования выполнены на оборудовании ЦКП ФГБНУ «ВНИИ коневодства».

Литература

1. Atroshchenko M. M. Conservation of genetic resources in horse breeding and major structural damages of sperm during semen cryopreservation in stallions / M. M. Atroshchenko, E. E. Bragina, A. M. Zaitcev, V. V. Kalashnikov, V. A. Naumenkova, A. M. Kudlaeva, E. V. Nikitkina // Nature conservation research. — 2019. — V. 2. — № 4. — P. 78-82. doi: 10.24189/ncr.2019.024.
2. Sales F. A. In vitro and in vivo efficiency of extenders added to thawed stallion semen / F. A. Sales, J. C. Ferreira-Silva et al. // Cryo Letters. — 2019. — V. 40. — № 4. — P. 231-236.
3. Атрощенко М. М. Сравнительное изучение ультраструктуры сперматозоидов в эпидидимальной, эякулированной и криоконсервированной сперме жеребцов / М. М. Атрощенко, В. В. Калашников, Е. Е. Брагина, А. М. Зайцев // Сельскохозяйственная биология. — 2017. — Т. 52. — № 2. — С. 274-281.
4. Hernández-Avilés C. Evaluation of post-thaw sperm function and integrity parameters under different freezing regimens in Colombian Paso Fino stallions / C. Hernández-Avilés, M. Gymez-Romero et al. // Journal of Equine Veterinary Science. — 2018. — V. 67. — P. 7-14. doi: 10.1016/j.jevs.2018.01.008.
5. Warnke C. Characterisation of movement pattern and velocities of stallion spermatozoa depending on donor, season and cryopreservation / C. Warnke, A. Tuchscherer et al. // Acta Veterinaria Hungarica. — 2003. — V. 51. — № 3. — P. 395-408.

6. Colenbrander B. The predictive value of semen analysis in the evaluation of stallion fertility / B. Colenbrander, B. M. Gadella, T. A. Stout // *Reproduction in Domestic Animals*. — 2003. — V. 38. — № 4. — P. 305-311. doi: 10.1046/j.1439-0531.2003.00451.x.
7. Weisel J. W. Fibrinogen and fibrin / J. W. Weisel // *Advances in protein chemistry*. — 2005. — № 70. — P. 247-299. doi: 10.1016/S0065-3233(05)70008-5.
8. Jain S. Acute-phase proteins: As diagnostic tool / S. Jain, V. Gautam, S. Naseem // *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. — 2011. — V. 3. — № 1. — P. 118-127. doi: 10.4103/0975-7406.76489.
9. Atroshchenko M. Correlation of acute-phase blood proteins level and quality and cryostability of sperm in horses / M. Atroshchenko, M. Engalycheva, A. Kudlaeva, E. Borodkina, M. Fomina, V. Zvyagina, A. Musidray, S. Timofeeva, D. Sachenkova, V. Isaeva // *Journal of Animal Science*. — 2020. — V. 98. — № 4. — P. 337-338. doi: 10.1093/jas/skaa278.599.
10. Eckersall P. D. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine / P. D. Eckersall, R. Bell // *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. — 2010. — V. 185. — № 1. — P. 23-27.
11. Cray C. Acute phase proteins in animals / C. Cray // *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. — 2012. — V. 105. — P. 113-150. doi: 10.1016/B978-0-12-394596-9.00005-6.
12. Souto P. C. Acute-phase proteins of healthy horses and horses naturally affected by colic syndrome / P. C. Souto, L. A. Fonseca et al. // *Journal of Equine Veterinary Science*. — 2019. — V. 80. — P. 1-4
13. Rokita H. Increased fibrinogen synthesis in mice during the acute phase response: co-operative interaction of interleukin 1, interleukin 6, and interleukin 1 receptor antagonist / H. Rokita, R. Neta, J. D. Sipe // *Cytokine*. — 1993. — V. 5. — № 5. — P. 454-458. doi: 10.1016/1043-4666(93)90035-4.
14. Tennent G. A. Human plasma fibrinogen is synthesized in the liver / G. A. Tennent, S. O. Brennan, A. J. Stangou, J. O'Grady, P. N. Hawkins, M. B. Pepys // *Blood*. — 2007. — V. 1. — № 109(5). — P. 1971-1974.
15. Mrkun J. Value of semen parameters, with special reference to TNF- α , in predicting the quality of boar semen after short-term storage / J. Mrkun, M. Kosec, P. Zrimšek // *Acta Veterinaria Hungarica*. — 2013. — V. 61. — № 2. — P. 209-219. doi: 10.1556/AVet.2013.009.
16. Kareskoski A. M. Protein composition of seminal plasma in fractionated stallion ejaculates / A. M. Kareskoski, M. M. Rivera del Alamo et al. // *Reproduction in Domestic Animals*. — 2011. — V. 46. — № 1. — P. 79-84.

Atroshchenko M.¹, Engalycheva M.^{2,1}, Shitikova A.^{2,1}

The level of acute phase blood proteins as a predictive criterion of the cryo resistance of stallion sperm

Abstract.

The indicators of the biochemical analysis of the blood of horses reflect the state of metabolism of the animal and at the same time are potential predictors of the qualitative characteristics of spermatozoa, the freezing of which is one of the most important ways to preserve and further use the genetic material. The aim of this study was to identify correlations between the level of such acute phase blood proteins, as C-reactive protein and fibrinogen, and the qualitative and quantitative characteristics of the native and thawed sperm of stallions.

Materials and methods. *The object of the study was blood and sperm samples from 87 stallions of various breeds, the average age of which was 10.5±0.5 years. To assess the protein status of the blood, in addition to the aforementioned acute phase proteins, the total protein content, the levels of albumin, globulins, and the albumin / globulin ratio were determined. Stallion sperm samples were assessed according to the following indicators: ejaculate volume, concentration, the total number of spermatozoa in the ejaculate, progressive motility and survival at +4°C.*

Results. *When analyzing the correlations between the studied parameters, a statistically significant negative inverse relationship was revealed between the level of fibrinogen in the blood serum and such parameters as the content of progressively motile sperm in native and thawed cryopreserved sperm ($r=-0.22$, $p<0.05$ and $r=-0.29$, $p<0.01$, respectively), as well as sperm survival in native and thawed sperm ($r=-0.48$, $p<0.001$ and $r=-0.22$, $p<0.05$, respectively). There was no statistically significant relationship between the level of C-reactive protein and the studied characteristics of the spermogram. The revealed negative correlation between the level of fibrinogen and the char-*

acteristics of the stallions' sperm can be considered as one of the prognostic important indicators that must be taken into account when selecting stallions with the highest indicators of the quality of cryopreserved sperm.

Key words: stallions, sperm, cryopreservation, cryo resistance, blood proteins, acute phase proteins, fibrinogen.

Authors:

Atroshchenko M. M. — PhD (Biol. Sci.); e-mail: atromiks-77@mail.ru;

Engalycheva M. G. — PhD (Med. Sci.); e-mail: mariyanaaber@yandex.ru;

Shitikova A. M. — PhD (Biol. Sci.); e-mail: anyakudlaeva@mail.ru;

¹ «All-Russian Research Institute for Horse Breeding»; 391105, Russia, Ryazan Region, Rybnoe District, Divovo;

² «Ryazan State Medical University»; 390026, Russia, Ryazan, Vysokovol'tnaya street, 9.

References

1. Atroshchenko M. M. Conservation of genetic resources in horse breeding and major structural damages of sperm during semen cryopreservation in stallions / M. M. Atroshchenko, E. E. Bragina, A. M. Zaitsev, V. V. Kalashnikov, V. A. Naumenkova, A. M. Kudlaeva, E. V. Nikitkina // Nature conservation research. — 2019. — V. 2. — № 4. — P. 78-82. doi: 10.24189/ncr.2019.024.
2. Sales F. A. In vitro and in vivo efficiency of extenders added to thawed stallion semen / F. A. Sales, J. C. Ferreira-Silva et al. // Cryo Letters. — 2019. — V. 40. — № 4. — P. 231-236.
3. Atroshchenko M. M. Comparative study of the ultrastructure of spermatozoa in the epididymal, ejaculated and cryopreserved sperm of stallions / M. M. Atroshchenko, V. V. Kalashnikov, E. E. Bragina, A. M. Zaitsev // Agricultural Biology. — 2017. — V. 52. — № 2. — P. 274-281.
4. Hernández-Avilés C. Evaluation of post-thaw sperm function and integrity parameters under different freezing regimens in Colombian Paso Fino stallions / C. Hernandez-Aviles, M. Gimez-Romero et al. // Journal of Equine Veterinary Science. — 2018. — V. 67. — P. 7-14. doi: 10.1016/j.jevs.2018.01.008.
5. Warnke C. Characterisation of movement pattern and velocities of stallion spermatozoa depending on donor, season and cryopreservation / C. Warnke, A. Tuchscherer, H. Alm, W. Kanitz, S. Blottner, H. Torner // Acta Veterinaria Hungarica. — 2003. — V. 51. — № 3. — P. 395-408.
6. Colenbrander B. The predictive value of semen analysis in the evaluation of stallion fertility / B. Colenbrander, B. M. Gadella, T. A. Stout // Reproduction in Domestic Animals. — 2003. — V. 38. — № 4. — P. 305-311. doi: 10.1046/j.1439-0531.2003.00451.x.
7. Weisel J. W. Fibrinogen and fibrin / J. W. Weisel // Advances in protein chemistry. — 2005. — № 70. — P. 247-299. doi: 10.1016/S0065-3233(05)70008-5.
8. Jain S. Acute-phase proteins: As diagnostic tool / S. Jain, V. Gautam, S. Naseem // Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences. — 2011. — V. 3. — № 1. — P. 118-127. doi: 10.4103/0975-7406.76489.
9. Atroshchenko M. Correlation of acute-phase blood proteins level and quality and cryostability of sperm in horses / M. Atroshchenko, M. Engalycheva et al. // Journal of Animal Science. — 2020. — V. 98. — № 4. — P. 337-338. doi: 10.1093/jas/skaa278.599.
10. Eckersall P. D. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine / P. D. Eckersall, R. Bell // Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. — 2010. — V. 185. — № 1. — P. 23-27.
11. Cray C. Acute phase proteins in animals / C. Cray // Progress in Molecular Biology and Translational Science. — 2012. — V. 105. — P. 113-150. doi: 10.1016/B978-0-12-394596-9.00005-6.
12. Souto P. C. Acute-phase proteins of healthy horses and horses naturally affected by colic syndrome / P. C. Souto, L. A. Fonseca et al. // Journal of Equine Veterinary Science. — 2019. — V. 80. — P. 1-4.
13. Rokita H. Increased fibrinogen synthesis in mice during the acute phase response: co-operative interaction of interleukin 1, interleukin 6, and interleukin 1 receptor antagonist / H. Rokita, R. Neta, J. D. Sipe // Cytokine. — 1993. — V. 5. — № 5. — P. 454-458. doi: 10.1016/1043-4666(93)90035-4.
14. Tennent G. A. Human plasma fibrinogen is synthesized in the liver / G. A. Tennent, S. O. Brennan et al. // Blood. — 2007. — V. 1. — № 109(5). — P. 1971-1974. doi: 10.1182/blood-2006-08-040956.
15. Mrkun J. Value of semen parameters, with special reference to TNF- α , in predicting the quality of boar semen after short-term storage / J. Mrkun, M. Kosec, P. Zrimsek // Acta Veterinaria Hungarica. — 2013. — V. 61. — № 2. — P. 209-219. doi: 10.1556/AVet.2013.009.
16. Kareskoski A. M. Protein composition of seminal plasma in fractionated stallion ejaculates / A. M. Kareskoski, M. M. Rivera del Alamo et al. // Reproduction in Domestic Animals. — 2011. — V. 46. — № 1. — P. 79-84. doi: 10.1111/j.1439-0531.2010.01641.x.