



ПЕРЕЖИВАЕМОСТЬ СПЕРМАТОЗОИДОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В СРЕДАХ, РАЗРАБОТАННЫХ ДЛЯ ГАМЕТ ЧЕЛОВЕКА

**Докладчик – Сметанина Ирина Геннадьевна к.б.н.,
ВНИИФБиП – филиал ВИЖ им. Л.К.Эрнста**

Калуга – 2024

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучалась переживаемость сперматозоидов крупного рогатого скота *in vitro* в коммерческих средах, разработанных для гамет человека. Использовали среды фирм “Global” (США), “Sage” (США), “Gynemed” (Germany), предназначенных для манипуляций со спермой человека на воздухе. В качестве критерия для оценки жизнеспособности использовали процент свободноподвижных сперматозоидов (с учетом степени подвижности) через 0, 3, 6 и 22 часа инкубации. Лучшие результаты были получены при использовании среды Quinn’s Sperm Washing Medium фирмы “Sage” (США). До 50% гамет сохраняло подвижность в свободном состоянии после 22 часов культивирования.

Обоснование исследований

- В течение последних лет нашей исследовательской группой изучалась возможность использования ряда коммерческих сред и их составляющих, разработанных для гамет и эмбрионов человека, в экспериментах по *in vitro* созреванию, оплодотворению и культивированию эмбрионов крупного рогатого скота (КРС) и свиней (Сметанина и др., 2018, 2019, 2020). По нашему мнению это представляет интерес как с практической, так и с научной точек зрения. Известно, что данные коммерческие среды проходят предварительное тестирование на мышинных эмбрионах. Однако, нам представляется возможным и информативным проводить этап тестирования и на гаметах других видов млекопитающих, например, КРС или свиней. С научной точки зрения подобное “межвидовое” использование сред позволит лучше изучить метаболические потребности гамет различных видов млекопитающих *in vitro*. Вместе с тем, до сих пор среды для культивирования гамет и эмбрионов КРС готовятся индивидуально в каждой лаборатории “вручную”, что существенно снижает воспроизводимость методик и экспериментальных данных. Использование готовых коммерческих сред позволило бы существенно снизить отрицательное влияние этого фактора. Следует отметить, что отечественные среды для экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) на сельскохозяйственных животных до сих пор отсутствуют.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В серии экспериментов было использовано замороженное семя быка “Мангуст” в гранулах. 100 мкл размороженного семени ставили на флотацию (swim up) в пробирку с 1.5 мл среды при 38.5°C на 1.5 часа. Использовали следующие среды, разработанные для работы со сперматозоидами человека на воздухе: 1) All Grad Wash (“Global”, США); 2) Quinn’s Sperm Washing Medium (“Sage”, США); 3) GM 501 Air (“Gynemed”, Германия). Сперму дважды центрифугировали при 2 тыс./об. в течение 10 минут. Подсчитывали концентрацию в образовавшемся осадке для каждого из трех вариантов. Из сконцентрированных осадков сперму добавляли в лунки с 500 мкл соответствующей среды с таким расчетом, чтобы итоговая концентрация была одинакова во всех трех вариантах и составляла 0.2 млн/мл. Сперму культивировали при 38.5°C в термостате на воздухе. Жизнеспособность сперматозоидов оценивали через 0, 2, 6 и 22 часов инкубации под инвертированным микроскопом “Wild” (Швейцария) при увеличении x320. Степень подвижности оценивалась как: А – движения в основном поступательные; В – часть поступательные, часть маневренные; С – движения в основном колебательные; Д - подвижность отсутствует.

Результаты

- Было проведено три эксперимента. Среду GM 501 Air (“Gynemed”) во втором эксперименте не использовали. При этом учитывали одновременно как процент свободно подвижных сперматозоидов, так и степень их подвижности. В начале экспериментов сперма была высокоактивна во всех средах, при этом агглютинация была минимальной. Поскольку все среды содержали белок, через 3 часа инкубации помимо свободноподвижных сперматозоидов, в каждой группе в результате агглютинации появлялись заметные конгломераты, в которых активность спермиев сохранялась даже на более высоком уровне вплоть до 22 часов. Отметим, что после 6 часов инкубации активность спермы несколько повышалась в результате гиперактивации. Через 22 часа культивирования до 50 % свободноподвижных сперматозоидов сохранялось только в среде фирмы “Sage”, в то время как в других средах свободноподвижные сперматозоиды не наблюдались. Таким образом, среди изученных сред, разработанных для манипуляций со спермой человека, среда фирмы “Sage” оказалась наиболее эффективной для культивирования *in vitro* сперматозоидов КРС.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

