

E. M. ТОЙШИБЕКОВ, М. М. ТОЙШИБЕКОВ, Г. А. ВАЛИЕВА, Е. М. МОЛДАБАЕВ

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НЕПЕНЕТРИРУЮЩЕГО КРИОПРОТЕКТОРА ЛАКТОЗЫ НА CASA-ПАРАМЕТРЫ СПЕРМАТОЗОИДОВ КОЗЛОВ

ТОО «Институт экспериментальной биологии им. Ф. М. Мухамедгалиева»

В наших исследованиях наибольшая стабильность с наименьшим уменьшением значений была выявлена при использовании 0,015M, 0,028M и 0,050M растворов лактозы в течение всего эксперимента.

Криоконсервация спермы млекопитающих – это сложный комплексный процесс, который включает в себя сбалансирование многих факторов для получения удовлетворительных результатов. Для обеспечения даже минимального успеха необходимо использование не только соответствующего разбавителя, но и степень разбавления спермы, скорость охлаждения и скорость размораживания, а также очень важно знание видовой физиологии спермы для увеличения восстановления сперматозоидов после размораживания и, следовательно, увеличение ее оплодотворяющей способности. Сперма козлов – это превосходный пример влияния комплекса всех факторов. Это связано с тем, что при наличии схожести между криоконсервацией спермы козла и спермой других видов, существуют определенные схожести в типах криопротекторов, скорости замораживания и размораживания. Однако при этом следует подчеркнуть, что сперма козла требует, чтобы при криоконсервации обратить особое внимание на увеличение максимальной жизнеспособности сперматозоидов после замораживания-оттаивания. Например, необходимо учитывать вредное взаимодействие между желтком яйца и секретом бульбоуретральных желез (bulbourethral) в сперме козла, которая не существует для других разновидностей таких, как бык, боров и баран [1-3].

Методы исследований. В качестве доноров сперматозоидов использовали по 5 козлов в возрасте 4 года. Исследования проводили в специализированном лабораторном комплексе Института экспериментальной биологии им. Ф. М. Мухамедгалиева в анэстральный сезон размножения. Сбор спермы проводили с применением электроэякулятора. В исследованиях использовали образцы спермы с параметрами подвижных сперматозоидов не ниже 60% и с концентрацией сперматозоидов не ниже 1000 млн.сперматозоидов/мл.

Результаты исследований. Для изучения CASA-параметров свежеполученных образцов семени козлов в растворах с различной концентрацией непенетрирующего криопротектора использовали следующие растворы с концентрациями лактозы: 0,015M; 0,028M; 0,05M; 0,1M и 0,125M. Исследования образцов проводили через следующие промежутки времени: 0,5 ч, 1 ч, 2 ч, 3 ч и 4 часа. Также были выявлены осмоляльности на Осмометре 3320 (Advanced Instruments, USA) вышеперечисленных растворов лактозы, полученные результаты отражены в табл. 1.

Таблица 1. Показатели осмолярности растворов с различной концентрацией лактозы

Концентрация, моль	Осмолярность, mOsm/l
0,015	312
0,028	330
0,050	335
0,100	412
0,125	431

При изучении CASA-параметров в растворах с различной концентрацией лактозы была изучена динамика изменения относительной Средней скорости продвижения сперматозоидов (*VAP*) в течение 4 часов, которая показала, что при использовании 0,015M и 0,028M растворов лактозы происходит увеличение данного параметра до 181,6% и 133,8% через 0,5 часа по отношению к начальному показателю. При дальнейшем наблюдении было выявлено наибольшее увеличение

относительной скорости продвижения сперматозоидов в растворе 0,015M лактозы до 207,2% через 1 час от начального показателя и уменьшение до 143,0% через 4 часа от начального показателя. Также изначальное уменьшение относительной скорости наблюдалось при использовании 0,125M раствора лактозы через 0,5 часа до 64,7% и через 4 часа до 70,5% от начального показателя, однако следует отметить относительную стабильность данного параметра в течение всего наблюдения. Наибольшее уменьшение наблюдалось при использовании 0,50M раствора лактозы до 34,6% через 3 часа по отношению к начальному показателю. Можно предположить, что раствор с 0,015M концентрацией лактозы является наиболее оптимальной для изученного параметра *Средняя скорость продвижения сперматозоидов (VAP)*, при условии эквилибриации до 2 часов.

При изучении динамики изменений относительной *Скорости прямолинейного продвижения сперматозоидов (VSL)* в растворах с различной концентрацией лактозы наблюдалось увеличение данного параметра через 0,5 часа до 102,1%, 126,8% и 134,3% при использовании 0,015M, 0,028M и 0,50M растворов лактозы, соответственно, и уменьшение до 72,2% и 44,1% при использовании 0,100M и 0,125M растворов лактозы, соответственно, по отношению к начальному показателю данного параметра. Следует отметить, что наиболее стабильная динамика в течение времени эксперимента наблюдалась при использовании 0,050M раствора лактозы. Наименьший показатель наблюдался при использовании 0,100M раствора лактозы через 0,5 часа 44,1% от начального показателя данного параметра. Предполагаем, что использование 0,050M раствора лактозы является оптимальным для изученного параметра *Скорость прямолинейного продвижения сперматозоидов (VSL)*.

Также была изучена динамика изменений относительной *Скорости движения сперматозоидов по кривой индивидуальных треков (VCL)* в растворах с различной концентрацией лактозы, при этом наблюдалось увеличение данного параметра через 2 часа при использовании 0,015M раствора лактозы до 103,1% по отношению к начальному показателю данного параметра и через 0,5 часа при использовании 0,028M раствора лактозы до 108,9% по отношению к начальному показателю данного параметра. Во всех остальных пробах наблюдали уменьшение показателей, наименьшее значение составило 35,3% от начального показателя при использовании 0,125M раствора лактозы через 1 час (рис. 1). Использование 0,150M и 0,028M растворов лактозы является оптимальным для изученного параметра *Скорость движения сперматозоидов по кривой индивидуальных треков (VCL)*.

Изучена динамика изменений относительной *Частоты колебательных движений сперматозоидов (BCF)* в растворах с различной концентрацией лактозы, при которой почти во всех пробах наблюдалось уменьшение данного показателя, однако через 3 часа наблюдения при использовании 0,050M раствора лактозы выявлено увеличение до 103,3% от начального показателя данного параметра (рис. 2).

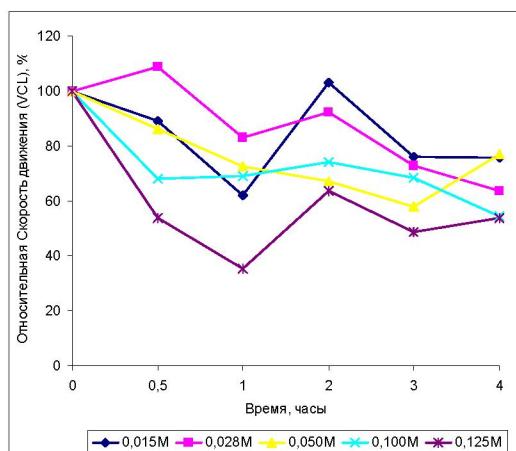


Рис. 1. Динамика изменений относительной Скорости движения сперматозоидов по кривой индивидуальных треков (VCL) в растворах с различной концентрацией лактозы

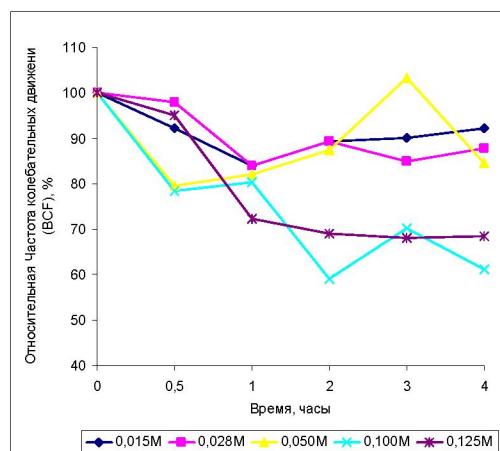


Рис. 2. Динамика изменений относительной Частоты колебательных движений сперматозоидов (BCF) в растворах с различной концентрацией лактозы

Наибольшую стабильность с наименьшим уменьшением значений была выявлена при использовании 0,015M, 0,028M и 0,050M растворов лактозы в течение всего эксперимента.

Можно предположить, что использование 0,015M, 0,028M и 0,050M растворов лактозы является оптимальным для изученного параметра *Частота колебательных движений сперматозоидов (BCF)*.

В связи с тем, что одним из важнейших способностей является прямолинейно-поступательное движение сперматозоидов в половых путях для достижения области локализации овулировавших яйцеклеток, нами была изучена динамика изменений относительной *Прямолинейности сперматозоидов (STR)* в растворах с различной концентрацией лактозы. В ходе изучения динамики данного параметра было выявлено, что наиболее стабилен данный показатель при использовании 0,015M, 0,028M, 0,050M и 0,100M растворов лактозы.

Таким образом, можно предположить, что использование 0,015M, 0,028M растворов лактозы является оптимальным для изученного параметра *Прямолинейность траектории сперматозоидов (STR)*.

При изучении динамики изменений *Средней площади головок сперматозоидов (%)* козлов при использовании растворов с различными концентрациями лактозы наиболее оптимальный результат наблюдался при использовании 0,015M раствора лактозы. При использовании данной концентрации лактозы через 0,5 часа не наблюдалось изменение средней площади головок сперматозоидов козлов от начального показателя, через 2 часа площадь уменьшилась на 4,7% от начального показателя и затем незначительно увеличилась. Таким образом, при использовании 0,015M раствора лактозы стабилизация *Средней площади головок сперматозоидов* козлов происходит с меньшими колебаниями в средней площади головок сперматозоидов, что очень важно в связи с тем, что данный показатель характеризует морфологическое состояние сперматозоидов при эквилибрации.

Также нами была изучена динамика относительного количества подвижных сперматозоидов в растворах с различной концентрацией лактозы. Этот эксперимент выявил наиболее оптимальную концентрацию, при которой сохраняется максимальное количество подвижных сперматозоидов. В ходе эксперимента было выявлено, что наиболее оптимальными являются 0,015M, 0,028M растворы лактозы, в которых относительное количество подвижных сперматозоидов не уменьшается по отношению к начальному значению данного параметра (рис. 3). При использовании 0,100M и 0,0125M растворов лактозы наблюдалось значительное уменьшение показателя по отношению к начальному значению.

Затем нами была изучена динамика относительного количества сперматозоидов с прогрессивной подвижностью, которая наглядно продемонстрировала, что наиболее оптимальными являются 0,015M, 0,028M растворы лактозы, в которых относительное количество сперматозоидов с прогрессивной подвижностью уменьшается по отношению к начальному значению данного параметра (рис. 4).

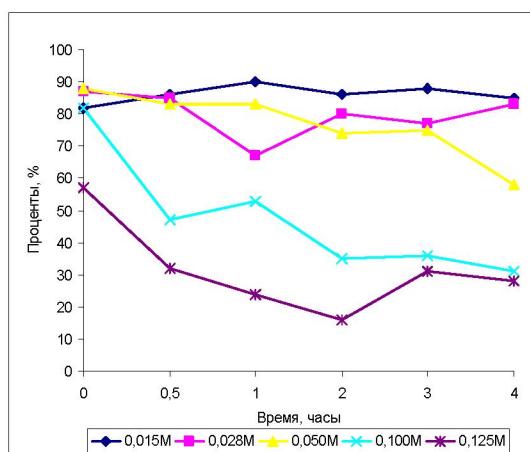


Рис. 3. Динамика изменений относительного количества подвижных сперматозоидов в растворах с различной концентрацией лактозы

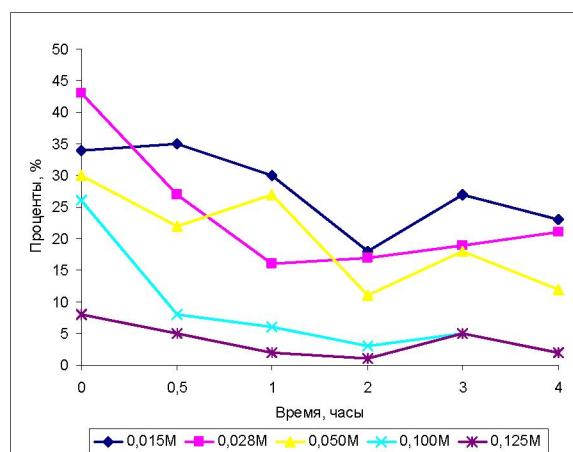


Рис. 4. Динамика изменений относительного количества сперматозоидов с прогрессивной подвижностью в растворах с различной концентрацией лактозы

При использовании 0,050М, 0,100М и 0,0125М растворов лактозы наблюдалось значительное уменьшение показателя по отношению к начальному значению.

На основе анализа CASA-параметров и относительного количества подвижных сперматозоидов и сперматозоидов с прогрессивной подвижностью нами были выбраны 0,015М, 0,028М и 0,050М растворы лактозы в качестве компонентов криопротекторов для дальнейших исследований по криобиологии сперматозоидов козлов как наиболее оптимальные.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Roy A., 1957. Egg yolk coagulating enzyme in the semen and Cowper's gland of the goat // Nature. – 179. – P. 318-319.
- 2 Iritani A., Nishikawa 1963. Studies on the egg-coagulating enzyme in goat semen; IV. On the position of yolk constituents attacked by the coagulating enzyme // Jpn. J. Anim. Reprod. – 8. – P. 113-117.
- 3 Iritani A., Nishikawa, Fukuhara R., 1964. Studies on the egg yolk coagulating factor in goat sperm: I. Localization of coagulating factors and decline of pH following coagulating // Proceedings of Silver Jubilee Laboratory of Animal Husbandry. – Kyoto University. – P. 97-104.

E. M. Тойшыбеков, М. М. Тойшыбеков, Г. А. Валиева, Е. М. Молдабаев

ӘРТҮРЛІ КОНЦЕНТРАЦИЯЛЫ ӨТПЕЙТІН ЛАКТОЗА КРИОПРОТЕКТОРДЫҢ ТЕКЕ СПЕРМАТОЗОИДТАРДЫҢ CASA-ПАРАМЕТРЛЕРИНЕ ТИГІЗЕТИН ӘСЕРІ

Біздің зерттеуіміз лактозаның 0,015М, 0,028М және 0,050М ерітіндісін қолданғанда үлкен тұрақтылықты көрсетті.

E. M. Toishibekov, M. M. Toishibekov, G. A. Valieva, E. M. Moldabaiev

STUDY OF THE EFFECT OF DIFFERENT NONPENETRETING CRYOPROTECTANT LACTOSE ON CASA-PARAMETERS OF BUCK'S SPERMATOZOA

Our research showed stability of CASA parameters of buck use extender with concentration of lactose 0,015M, 0,028M and 0,050M.