

4. Berridge M. J. Cell Calcium. 2002. V. 32. – P. 235-249.
5. Limatola N., Chun J.T., Kyoizuka K., Santella L. Cell Calcium. 2015. V. 58. – P. 500-510.

УДК 636.2:612.64.089.67

УРОВЕНЬ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ ООЦИТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КАЧЕСТВЕННОЙ ПОДГОТОВКИ СПЕРМЫ К ОПЛОДОТВОРЕНИЮ

**Дешко А. С.¹, Голубец Л. В.¹, Кыса И. С.¹, Белевич В. И.¹,
Попов М. В.², Хромов Н. И.³**

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

² – Учебно-практический центр биотехнологий ОАО «Почапово»

г. Пинск, Республика Беларусь

³ – ООО «Бетагран Липецк»

г. Липецк, Российская Федерация

Для успешного проведения работ по получению эмбрионов вне организма необходимо соблюсти два неперемных условия: ооциты должны достичь стадии оплодотворения, а сперматозоиды пройти процесс капацитации. В естественных условиях сперматозоиды проходят подготовку к оплодотворению в половых путях самки. Вне организма капацитацию сперматозоидов проводят искусственно в питательных синтетических средах. Капацитация включает в себя удаление семенной плазмы с поверхности спермы, которая может маскировать рецептор, необходимый для взаимодействия «спермий – яйцеклетка». Маточная фаза капацитации изменяет плазменную и внешнюю акросомальную мембраны. Через деструктурированную мембрану вымываются протеолитические ферменты, необходимые для пенетрации сперматозоидом зоны пеллюцида [1].

Целью наших исследований стало изучение влияния качественной подготовки спермы к оплодотворению на уровень оплодотворения ооцитов.

Ооцит-кумулюсные комплексы (ОКК) получали от коров-доноров путем аспирации и из яичников животных после их убоя.

Трансвагинальную пункцию фолликулов проводили с использованием ультразвуковой системы Aloka SSD 500, включающей в себя ультразвуковой сканер Aloka Prosound 2, ультразвуковой излучатель с частотой 7,5 МГц, вакуумную помпу Craft suction unit, держатель ультразвукового излучателя и иглы диаметром 18G(1,27мм). Величина вакуума, выраженная в скорости потока жидкости, составляла 25 мл/мин.

Локализацию ооцит-кумулясных комплексов проводили с помощью эмбрионального фильтра «EMCON», поиск и оценку качества полученных ооцитов осуществляли под микроскопом «Olympus» при 16- и 90-кратном увеличении соответственно [2].

Одним из условий успешной работы по получению эмбрионов в культуре *in vitro* является проведение качественной подготовки спермы к оплодотворению или капацитации. Как правило, в качестве капацитирующего агента используется гепарин, оптимальная концентрация которого определяется опытным путем. Как показали наши исследования, наиболее эффективной оказалась концентрация гепарина 15 мкг/мл.

При этом уровень оплодотворения ооцитов, полученных из яичников животных после их убоя, повышался на 13,2 и 4,4 п. п. по сравнению с 10 и 20 мкг/мл соответственно, а при использовании прижизненной аспирации на 21,8 и 11,5 п. п. Между группами ооцитов, полученных из яичников животных после их убоя и полученных путем прижизненной аспирации, разница была не существенной и составляла всего 2,5 п. п.

Для повышения ионной силы раствора с целью активизации сперматозоидов используются различные составляющие растворов для оплодотворения, одним из которых является смесь эpineфрина и гипотаурина, которая может быть приготовлена как с использованием соляной кислоты, так и без. В наших исследованиях использование соляной кислоты позволило увеличить уровень оплодотворения ооцитов, полученных из яичников животных после их убоя на 14,8 п. п. и полученных путем прижизненной аспирации на 7,8 п. п. Выход эмбрионов на предимплантационной стадии в первой группе на 6,9 п. п. и во второй на 7,8 п. п. Если сравнивать группы ооцитов между собой, существенных различий не отмечается. По уровню оплодотворения разница составила 7,3 п. п. (с соляной кислотой). При использовании смеси эpineфрина и гипотаурина без соляной кислоты различий не отмечено. По выходу эмбрионов в первом случае разница составила 2,1 п. п., во втором 0,9 п. п.

ЛИТЕРАТУРА

1. Longobardi, V. Carnitine supplementation decreases capacitation-like changes of frozen-thawed buffalo spermatozoa / V. Longobardi, [et al.] // *Theriyogenology*, 2017. – Vol. 88. – P. 236-243.
2. Получение эмбрионов крупного рогатого скота в культуре *in vitro* : методические рекомендации / В. К. Пестис [и др.] ; Учреждение образования «Гродненский государственный аграрный университет». – Гродно : ГГАУ, 2015. – 48 с.