

КРИОКОНСЕРВАЦИЯ И ВИТРИФИКАЦИЯ В ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЕ

Ильинова Виктория Валентиновна, студентка 2 курса Института ветеринарии и биотехнологий, ФГБОУ ВО Ставропольский государственный аграрный университет

Аннотация. В данной статье рассматривается развитие науки о криоконсервации гамет и эмбрионов различных видов животных. Описываются разработки и достижения в этой области медицины. Основное внимание в работе акцентировано на условиях современного животноводства, в которых криоконсервированная сперма используется для искусственного осеменения. Криоконсервация позволяет длительное время хранить эякулят для осеменения и обеспечивает возможность использовать его в желаемый момент времени.

Ключевые слова: ветеринария, криоконсервирование спермы, искусственное осеменение, витрификация.

За последнюю половину 20-го века репродуктивная медицина стала критически важной отраслью современной медицинской науки. Сохранение фертильности является актуальной и важной отраслью репродуктивной медицины. Криоконсервированные клетки и ткани могут храниться в течение столетий практически без изменений в функциональности или генетической информации, что делает этот метод хранения очень привлекательным. Однако разработка эффективных методов криоконсервации является сложной задачей, поскольку как замораживание, так и оттаивание подвергают клетки сильному стрессу, потенциально вызывающему гибель клеток.

Существует два основных метода криоконсервации: процессы замораживания-оттаивания и витрификация. Основное различие между ними заключается в полном исключении образования льда при остекловывании. Среди репродуктивных клеток существуют эффективные методы криоконсервации сперматозоидов и эмбрионов.

При медленном замораживании клетки помещают в среду, охлаждаемую ниже точки замерзания с использованием жидкого азота. В результате в среде образуется ледяная масса. По мере замерзания воды увеличивается концентрация сахаров, солей и криопротектора. Благодаря осмосу вода из клеток попадает в среду для поддержания равных концентраций этих веществ. В конце концов, размороженная часть — клеточная — становится слишком вязкой, чтобы внутри клетки могли образоваться кристаллы льда. Жидкий азот, чтобы блокировать метаболизм сперматозоидов. Непрерывное добавление жидкого азота и механическое обслуживание морозильного оборудования имеют решающее значение для длительного криоконсервирования. Как только подача жидкого азота прекращается, замороженные сперматозоиды теряют

свою жизнеспособность. В настоящее время используют технологию, состоящую из нескольких этапов. На первом этапе идет расфасовка свежей спермы в соломинки. После охлаждения до температуры 3—5°C сперму помещают в специальные камеры, в которых происходит ее замораживание жидким азотом, сначала до -100°C, а затем до -140°C. Замороженную сперму хрянят в сосудах Дьюара с жидким азотом.

Второй метод криоконсервации – это витрификация или мгновенная заморозка. Витрификация сперматозоидов не является новой концепцией. Об успешной витрификации сперматозоидов лягушек сообщалось в 1938 году. В этом методе используется выбранная среда с более высокой концентрацией растворенного вещества, поэтому вода будет покидать клетки путем осмоса. Среда достаточно концентрирована, так что вся внутриклеточная вода уйдет без необходимости повторной концентрации среды. Более высокая концентрация среды при витрификации позволяет замораживать зародышевые плазмы быстрее, чем при медленном замораживании, вследствие чего считается более эффективным методом замораживания зародышевой плазмы.

В качестве альтернативных стратегий традиционного криоконсервирования для хранения сперматозоидов мелких жвачных животных использовались витрификация и сублимационная сушка. Эти два метода имеют некоторые преимущества по сравнению с обычным криоконсервированием, такие как отсутствие образования кристаллов льда и хранение при комнатной температуре. Однако и у них есть ряд недостатков. Например, витрифицированные сперматозоиды полностью теряют свою подвижность.

Для хранения сублимированных сперматозоидов не требуется жидкий азот, что имеет некоторые преимущества, в том числе снижение затрат на хранение или транспортировку. По сравнению с криоконсервированием процесс сублимационной сушки является более сложным из-за дополнительного процесса сушки или обезвоживания. Процесс сублимационной сушки обычно включает первичную и вторичную сушку и два фазовых перехода. Во время процесса первичной сушки образцы сначала превращаются из жидкой фазы в кристаллы льда путем замораживания до температуры ниже их эвтектической температуры. Затем замороженная вода испаряется в виде водяного пара в вакуумной среде без образования промежуточной жидкой фазы. После первичной сушки чтобы обеспечить стабильность образца при относительно более высокой температуре, такой как комнатная температура, оставшаяся незамерзшая связанная вода должна быть дополнительно удалена десорбцией посредством вторичной сушки. На этом этапе образцы нагревают в условиях наименьшего вакуума, чтобы связанная вода образовывала водяной пар. После процессов первичной и вторичной сушки высушенные образцы могут храниться при температуре окружающей среды или в холодильнике.

Исследования, связанные с криоконсервацией спермы мелких жвачных животных, значительно продвинулись в последние годы. Тем не менее, значительные возможности для улучшения все еще существуют. В ходе исследований становится все более очевидным, что даже когда не повреждены

мембраны клеток, подвижные сперматозоиды после размораживания, функционально сильно отличаются от свежих сперматозоидов. Требуется более глубокое понимание влияния температурного, осмотического и окислительного процессов на мембраны сперматозоидов, чтобы сохранить естественную гетерогенность образца спермы и исключить изменения в клетках.

Повреждения во время криоконсервации и размораживания эмбрионов включают повреждение от холода, образование кристаллов льда, повреждение переломов, осмотический стресс. Эти криогенные повреждения могут привести к повреждению цитоскелета. Криоконсервация эмбрионов крупного рогатого скота и свиней имеет важное значение для животноводства. Однако эмбрионы трудно криоконсервировать. Криогенные повреждения можно уменьшить, увеличив скорость замораживания и оттаивания, изменив компоненты криопротектора или уменьшив объем криопротектора. В будущем с развитием криобиологии возможно будет разработать новые материалы с лучшей теплопроводностью, более подходящие для витрификации.

Библиографический список

1. Амстиславский С.Я., Брусенцев Е.Ю., Абрамова Т.О., Рагаева Д.С., Рожкова И.Н., Игонина Т.Н., Кизилова Е.А., Напримеров В.А., Феоктистова Н.Ю. Применение репродуктивных технологий и создание криобанка генетических ресурсов лабораторных животных. Вавиловский журнал генетики и селекции, 2015, 19(4): С. 367-371

2. Атрощенко М.М., Калашников В.В., Брагина Е.Е., Зайцев А.М. Сравнительное изучение ультраструктуры сперматозоидов в эпидидимальной, эякулированной и криоконсервированной сперме жеребцов. Сельскохозяйственная биология, 2017, 52(2): С. 274-280

3. Иолчиев Б.С., Абилов А.И., Таджиева А.В., Багиров В.А., Насибов Ш.Н., Шайдуллин И.Н., Кленовицкий П.М., Комбарова Н.А., Жилинский М.А. Биологическая полноценность эпидидимального семени зубра (*Bison bonasus* L.) при криоконсервации и длительном хранении. Сельскохозяйственная биология, 2017, 52(2): С. 282-290

4. Полякова М.В. Криоконсервация сперматогониальных стволовых клеток: возможности клинического применения для сохранения фертильности у пациентов предпубертатного возраста. Журнал медико-биологических исследований 2017; 5(3): С. 33–42.