

РОЛЬ АНТИОКСИДАНТОВ В ПОВЫШЕНИИ КРИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ СПЕРМЫ ОСЕТРОВЫХ

Коляда М.Н., Осипова В.П., Пономарева Е.Н.

Федеральный исследовательский центр «ЮНЦ РАН», Ростов-на-Дону, Россия

mnkolyada@mail.ru

Учитывая, что важным фактором криповреждения спермиев рыб является гиперпродукция в них активных форм кислорода (АФК), перспективным подходом к оптимизации методов криоконсервирования является добавление в базовые защитные среды соединений с антиоксидантной активностью. Для повышения криоустойчивости репродуктивных клеток осетровых использовались такие известные антиоксиданты как аскорбиновая кислота, глутатион, N-ацетилцистеин, ионол ((2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенол), тролокс (водорастворимый аналог витамина E), лизин, глутамин, таурин, антиоксидантный фермент каталаза, а также композиции с антиоксидантным действием, например аскорбиновая кислота с глутатионом или каталазой (Li P., 2018). Многие исследования показали, что добавление антиоксидантов в базовые защитные среды может снизить внутриклеточный уровень АФК в сперме осетровых рыб и, как следствие, улучшить качество дефростированной спермы. Эффективность используемых антиоксидантов зависит от их типа, дозы и вида осетровых рыб, а также от таких факторов, как режим замораживания, используемая основная криозащитная среда. Так, было установлено, что добавление каталазы (25 ед/мл), глутатиона (0.25-0.5 мг/мл) и аскорбиновой кислоты (0.5 мг/мл) в базовую криозащитную среду, содержащую 30 мМ сахарозы, 20 мМ Трис, 1 мМ KCl, и 10% метанола позволило сохранить целостность акросомы и мембраны дефростированной спермы корейского осетра (*Acipenser dabryanus*), однако это не привело к повышению фертильности спермиев.

Для N-ацетилцистеина (NAC), который является предшественником глутатиона и способен разлагать дисульфиды, при использовании его в концентрации 9.8 мМ, обнаружено снижение подвижности и фертильности спермы данного вида осетровых. Негативное влияние NAC на качество дефростированной спермы рыб может быть связано с его способностью генерировать тиольные радикалы, которые все чаще рассматриваются как промежуточные звенья в окислительном повреждении различных биологических систем. Кроме известных антиоксидантов при криоконсервации спермы осетровых исследовались криопротекторные свойства и гибридных мультифункциональных антиоксидантов, например, производных алкилированных фенолов, которые более эффективны, чем известные антиоксиданты, благодаря способности взаимодействовать с АФК на различных стадиях окислительного процесса. Так, ранее нами для сперматозоидов белуги (*Huso huso*) обнаружена высокая криопротекторная активность 3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенилметиленидифосфоновой кислоты, превышающая активность ионола и тролокса (Осипова В.П., 2014). При внесении данного синтетического антиоксиданта из ряда фосфорсодержащих стерически-затрудненных фенолов в концентрации 0.1 мМ в модифицированную среду Штайна установлено возрастание фертильности спермиев в 2 раза. Данный факт, вероятно, связан с наличием в молекуле двух фрагментов: антирадикального (стерически-затрудненный фенольный фрагмент) и хелатного (фосфорильные группы), способного образовывать комплексы, что приводит к множественному механизму антиоксидантного действия. Впоследствии обнаружена видовая специфичность криопротекторного действия 3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенилметиленидифосфоновой кислоты, которое оказалось более эффективным при криоконсервации спермы белуги, чем спермы русского осетра и севрюги (Коляда М.Н., 2020). Повышение криорезистентности спермиев Русского осетра установлено и при использовании новых производных пирролидина (Осипова В.П., 2016), при применении которых не только повышается подвижность спермиев рыб, но и снижается уровень пероксидации липидов биомембран спермиев. Использование в качестве антиоксидантов асимметричных тиозфиров на основе 3,5-ди-*трет*-бутилкateхина (Смолянинов И.В., 2019) позволяет сохранить жизнеспособность дефростированных сперматозоидов данного вида осетровых и снизить концентрацию ДМСО, который проникает через клеточную мембрану криопротектора и обладает определённой токсичностью.

Таким образом, гибридные мультифункциональные таргетные антиоксиданты, проявляющие высокую эффективность криопротекторного действия при криоконсервации спермы осетровых, могут быть альтернативой известным антиоксидантам для повышения криорезистентности спермиев данных реликтовых рыб. В настоящее время нами изучается возможность применения новых гибридных молекул из ряда экранированных фенолов, содержащих различные функциональные группы. Наличие нескольких редокс-активных центров в молекуле должно способствовать повышению эффективности антиоксидантного действия в минимальных концентрациях, что, в свою очередь, будет снижать возможность проявления нежелательных побочных эффектов. Проведение предварительных исследований по влиянию новых антиоксидантов фенольного типа на процент и время поступательных движений, а также на уровень пероксидации липидов спермы белуги, Русского осетра и стерляди свидетельствуют о перспективности их дальнейшего изучения в качестве криопротекторов.