

Zastosowanie CASA do oceny nasienia cewkowego kota domowego przed i po procesie kriokonserwacji

Anna Kowalska, Tadeusz Kowalski

Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Email: anna.kowalska@up.wroc.pl

Wstęp i cel pracy. Komputerowo wspomaganą analizę nasienia (CASA) jest rutynowo stosowana w medycynie człowieka, powoli staje się również złotym standardem w andrologii zwierząt gospodarskich i towarzyszących. W odniesieniu do nasienia kocurów badania z wykorzystaniem tej techniki są nieliczne, szczególnie w odniesieniu do nasienia cewkowego (1) lub poddane kriokonserwacji (2, 3). Istnieją przesłanki, że oznaczanie parametrów kinetycznych plemników pozwala przewidzieć jakość porozmrożeniową (4), nie wiadomo jednak czy system ten stanowi potencjalnie cenne narzędzie także u kotów. Celem pracy była ocena nasienia cewkowego kota domowego za pomocą CASA przed i po procesie kriokonserwacji, jak również oszacowanie przydatności tego badania do przewidywania jakości porozmrożeniowej.

Materiał i metody. Materiał stanowiło nasienie cewkowe pobrane metodą farmakologiczną wg. Zambellego (5) od 24 kocurów zgłoszonych do zabiegu kastracji w ambulatorium Katedry Rozrodu. Pozyskane nasienie było poddane podstawowemu badaniu andrologicznemu (ruchliwość subiektywna oraz żywotność plemników po barwieniu eozyną-nigrozyną) oraz ocenie przy pomocy CASA (IVOS, Hamilton-Thorne). Następnie nasienie było poddane kriokonserwacji wg. standardowej procedury (6). Nasienie rozmrażano przez 30 s w temperaturze 37°C i poddawano takiej samej ocenie jak nasienie świeże. Na podstawie jakości porozmrożeniowej kocury podzielono retrospektywnie na dwie grupy: GF – (z ang. good freezers), u których ruchliwość subiektywna i żywotność po rozmrożeniu wynosiła >40% (n=12) oraz BF - (z ang. bad freezers), ruchliwość subiektywna i żywotność po rozmrożeniu <40% (n=12). Analizę statystyczną wykonano przy pomocy ANOVA dla pomiarów powtarzanych i testu Tukey'a, a różnice uznawano za istotne statystycznie przy $p < 0,05$. Współczynnik korelacji Pearsona został wyznaczony celem sprawdzenia zależności ocenianych parametrów przed i po procesie kriokonserwacji.

Wyniki. W nasieniu świeżym w grupie GF uzyskano wyższe średnie wartości parametrów VAP ($125,4 \pm 32,5 \mu\text{m/s}$) VSL ($105,8 \pm 31,8 \mu\text{m/s}$), VCL ($185,8 \pm 35,0 \mu\text{m/s}$), PMOT ($33,2 \pm 21,9\%$) i RAPID ($39,9 \pm 24,7\%$) niż w grupie BF (VAP: $101,2 \pm 34,7 \mu\text{m/s}$; VSL: $84,2 \pm 30,3 \mu\text{m/s}$; VCL: $161,8 \pm 42,4 \mu\text{m/s}$; PMOT: $21,3 \pm 18,4\%$; RAPID: $26,3 \pm 22,3\%$), jednak różnica ta była istotna statystycznie tylko dla VCL. W grupie BF 50% osobników miało wartości tego parametru <145 $\mu\text{m/s}$, podczas gdy w grupie GF tylko jeden osobnik. Oprócz istotnego, spodziewanego spadku ruchliwości (subiektywnej i ocenianej przez CASA), PMOT, RAPID i żywotności w obu grupach, kriokonserwacja spowodowała istotne obniżenie VAP, VSL i VCL w grupie BF (do odpowiednio $77,4 \pm 25,2 \mu\text{m/s}$; $64,9 \pm 22,5 \mu\text{m/s}$ i $130,1 \pm 30,6 \mu\text{m/s}$). Wykazano silną, istotną korelację przed i po procesie kriokonserwacji dla parametrów: VAP, VSL, VCL, STR, PMOT, SLOW i żywotność. Z ruchliwością subiektywną po rozmrożeniu istotnie skorelowane były parametry: VAP, VSL, VCL, LIN, PMOT, RAPID. Podobną zależność (bez LIN) zaobserwowano dla odsetka plemników poruszających się ruchem progresywnym (PMOT) po rozmrożeniu. Nie wykazano istotnej korelacji żywotności porozmrożeniowej z którymkolwiek z badanych parametrów.

Wnioski. Wysokie wartości parametrów badanych przy użyciu CASA nie pozwalają przewidzieć czy dana próba nasienia „dobrze” lub „źle” przejdzie proces kriokonserwacji. Jednakże wydaje się, że wartości VCL poniżej 145 $\mu\text{m/s}$ są czynnikiem prognostycznie złym odnośnie przeżywalności plemników podczas mrożenia-rozmrażania. Dalsze badania na większej grupie kocurów są niezbędne do potwierdzenia tej hipotezy.

Pismienictwo. 1) Prochowska et al, Theriogenology, doi:10.1016/j.theriogenology.2015.08.005, 2) Stachecki et al, J Androl 1994;15:157-64, 3) Thuwanut et al. Theriogenology 2010;73:1076-87, 4) Cassas et al. Theriogenology 2009;72:930-48, 5) Zambelli et al, Theriogenology 2008;69:485-90. 6) Siemieniuch et Dubiel, Anim Reprod Sci. 2007;99:135-44.