

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ПРИЖИЗНЕННОГО ПОЛУЧЕНИЯ СПЕРМАТОЗОИДОВ У КРЫС WISTAR ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВЛИЯНИЯ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА РЕПРОДУКЦИЮ

Хасаншина З.Р.^{1,2},
Богачева Н.В.²

¹ ООО «Ради меня» (610000, г. Киров,
ул. Калинина, 40, пом. 1144, Россия)

² ФГБОУ ВО «Кировский
государственный медицинский
университет» Министерства
здравоохранения Российской
Федерации (610027, Кировская область,
г. Киров, ул. Владимирская, 112, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Хасаншина Зулейха Рамилевна
e-mail: khasanshina.99@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Более чем в 30 % случаев проблема фертильности обусловлена мужскими факторами бесплодия. Диагностика мужского бесплодия основана на анализе эякулята (спермы). К исследуемым параметрам спермы относятся: концентрация и подвижность сперматозоидов, а также их морфология. Модели лабораторных животных позволяют изучать различные биологические процессы, включая воздействие внешних и внутренних факторов на процессы репродукции. Однако до настоящего времени отсутствует простой, безопасный клеточно-сберегающий способ получения сперматозоидов у животных.

Цель. Разработать методику прижизненного получения сперматозоидов с использованием оптимальных параметров электростимуляции у крыс Wistar для изучения влияния факторов внешней среды на репродуктивную способность животных.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 30 крысах-самцах Wistar массой 280–300 г.

Для получения сперматозоидов использовали ректальный электростимулятор для получения эякулята у животных. Для анализа и подсчета сперматозоидов использовали камеру Горяева и микроскопы 2 видов: «Микромед Р-1 LED», Россия; цифровой микроскоп «Levenhuk D90L LCD», Китай.

Результаты. Все животные были поделены на 6 групп по пять особей в каждой в зависимости от режима электростимуляции. Все используемые режимы электростимуляции позволяли добиться эрекции во всех группах животных. Однако было установлено, что наиболее безопасным и клеточно-сберегающим способом получения сперматозоидов является ректальная электростимуляция семенных бугорков крыс при показателях электрического тока 60 Гц и 4 В.

Вывод. Разработан метод получения сперматозоидов у крыс Wistar с обоснованным режимом электростимуляции, позволяющим изучать влияние различных факторов на мужской фактор фертильности.

Ключевые слова: прижизненное получение эякулята, ректальный электростимулятор, оптимальные параметры электростимуляции животных, количество и морфология сперматозоидов, факторы внешней среды, репродукция

Статья поступила: 30.01.2026
Статья принята: 13.07.2026
Статья опубликована: 23.07.2026

Для цитирования: Хасаншина З.Р., Богачева Н.В. Разработка методики прижизненного получения сперматозоидов у крыс Wistar для изучения влияния факторов внешней среды на репродукцию. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(3): 182–191. doi: 10.29413/ABS.2026-11.3.22

DEVELOPMENT OF A NON-TERMINAL TECHNIQUE FOR SPERM COLLECTION IN WISTAR RATS TO STUDY THE INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL FACTORS ON REPRODUCTION

Khasanshina Z.R.^{1,2},
Bogacheva N.V.²

¹ «Radi menya» Ltd., Co (Kalinin str., 40,
1144, Kirov 610000, Russian Federation)

² Kirov State Medical University
of the Ministry of Health of the Russian
Federation (Vladimirskaia str., 112, Kirov
610027, Russian Federation)

Corresponding author:

Zuleikha R. Khasanshina

e-mail: khasanshina.99@mail.ru

ABSTRACT

Background. In more than 30 % of cases, infertility is attributed to male factors. The diagnosis of male infertility is based on semen analysis. The assessed semen parameters include sperm concentration, motility, and morphology. Laboratory animal models enable the study of various biological processes, including the effects of external and internal factors on reproduction processes. However, to date, there is no simple, safe, non-terminal method for sperm collection in animals.

Aim. To develop a non-terminal sperm collection technique using optimal electrical stimulation parameters in Wistar rats to study the influence of environmental factors on the reproductive function.

Materials and methods. The study was performed on 30 male Wistar rats weighing 280–300 g. For sperm collection, a rectal electrical stimulator was used to obtain ejaculate. A hemocytometer and two types of microscopes were used for sperm analysis and counting: a Micromed P-1 LED (Russia) and a Levenhuk D90L LCD digital microscope (China).

Results. All animals were divided into 6 groups of five individuals each, according to the electrical stimulation protocol. All stimulation protocols resulted in erection in all groups of animals. However, the safest and most cell-saving method was found to be rectal electrical stimulation of the seminal colliculus of rats at settings of 60 Hz and 4 V.

Conclusion. A method for sperm collection in Wistar rats with an optimized electrical stimulation protocol has been developed, enabling the study of various factors affecting male fertility.

Keywords: non-terminal ejaculate collection, rectal electrostimulator, optimal electrical stimulation parameters, sperm count and morphology, environmental factors, reproduction

Received: 30.01.2026

Accepted: 13.07.2026

Published: 23.07.2026

For citation: Khasanshina Z.R., Bogacheva N.V. Development of a non-terminal technique for sperm collection in Wistar rats to study the influence of environmental factors on reproduction. *Acta biomedica scientifica*. 2026; 11(3): 182-191. doi: 10.29413/ABS.2026-11.3.22

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время проблема нарушения фертильности является одной из самых распространенных медико-социальных проблем современности. Согласно последним статистическим данным Всемирной организации здравоохранения, 50–80 млн. человек во всем мире страдают бесплодием [1, 2].

Бесплодие представляет собой нарушение репродуктивной функции, определяемое как неспособность достижения клинической беременности после 12 или более месяцев регулярных незащищенных половых контактов [3]. Установлено, что бесплодием страдает каждый шестой человек в мире [4]. Проблема фертильности в 50 % связана с женскими, более чем в 30 % обусловлена мужскими факторами бесплодия, и примерно в 20 % случаев — с сочетанными нарушениями, имеющимися у обоих партнеров [5, 6].

Среди причин мужского бесплодия наиболее важными являются: урогенитальные и эндокринные нарушения, иммунологические и генетические дефекты, факторы образа жизни (курение, употребление алкоголя и наркотиков), а также вредные факторы окружающей среды [7–10].

Диагностика мужского бесплодия основана на анализе эякулята (спермы). К исследуемым параметрам спермы относятся: концентрация и подвижность сперматозоидов, а также их морфология [11, 12]. Модели лабораторных животных дают возможность изучать различные биологические процессы, воспроизводить конкретные патологические состояния, оценивать безопасность действия фармацевтических препаратов на количественные и качественные показатели сперматозоидов, а также эффективность новых препаратов, разработанных для повышения функции репродукции [13].

Среди существующих методик получения эякулята у животных применяются метод диссоциации ткани семенников лабораторных животных [14], получение сперматозоидов из каудального эпидидимиса [15], экстракции сперматозоидов из тканей тестикул (семенников) [16]. Вышеописанные методики используют только у павших животных либо после их эвтаназии. Данные методы не применимы для прижизненного получения половых клеток, их нельзя использовать для оценки показателей эякулята в динамике при воздействии на животное внешних факторов.

Среди перспективных методов для экспериментальных исследований на животных, семя которых невозможно получить естественным путём, следует считать электроэякуляцию [17]. К преимуществам электроэякуляции относится выделение максимального количества эякулята с минимальным повреждением клеток. Кроме того, методика позволяет изучить влияние различных препаратов на репродуктивную систему самцов крыс в динамике, без эвтаназии животных. Несмотря на наличие большого числа модификаций метода электростимуляции семенных бугорков [18, 19], до настоящего времени не разработан режим

воздействия прибора на семенные бугорки животных (частота, напряжение, сила тока, продолжительность воздействия на семенные бугорки), что обосновывает актуальность разработки пошагового способа получения сперматозоидов у самцов крыс.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработать методику прижизненного получения сперматозоидов с использованием оптимальных параметров электростимуляции у крыс Wistar для изучения влияния факторов внешней среды на репродуктивную способность животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 30 крысах-самцах Wistar массой 280–300 г. Все эксперименты были проведены в соответствии с Межгосударственным стандартом ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» и ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила проведения процедур с использованием животных». Всех животных содержали в «Медико-биологическом центре биомоделирования» ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России в одинаковых стандартных условиях в клетках размером 25 × 19 × 40 см по одному животному со свободным доступом к корму и воде, при 12-ти часовом цикле освещения (с 8:00 до 20:00 в освещенном помещении, и с 20:00 до 8:00 без света). Для всех крыс до начала эксперимента проводили двухнедельную адаптацию. Экспериментальные манипуляции с животными проводили в одно и то же время – в 9.00 часов. Проведение эксперимента одобрено Локально-этическим комитетом ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России (протокол № 16/2022 от «24» октября 2022 г.).

Для получения сперматозоидов в работе использовали ректальный электростимулятор для получения эякулята у животных [20]. Самцы крыс были распределены на шесть групп по 5 особей в каждой. Деление на группы проводилось на основании параметров тока, используемых для электростимуляции (частота, сила, напряжение).

Перед проведением процедуры животных вводили в наркоз методом ингаляционной анестезии при помощи медицинского эфира (ООО «Кузбассоргхим», Россия). Животное помещали под стеклянную 3 литровую банку, куда вносили вату, смоченную эфиром, и держали до наступления бездвигивания. Начало действия наркоза устанавливали по исчезновению двигательной активности и снижению мышечного тонуса животного. Для подтверждения отсутствия чувствительности к боли и дистрессу на фоне электростимуляции проводили легкое надавливание на лапы и кожные покровы животного: мышечное расслабление, отсутствие

защитных рефлексов и сопротивления свидетельствовало о готовности животного к процедуре. После наступления наркоза животное помещали в положении лежа на спине, фиксировали в рестрейнере для безопасного проведения манипуляций. Фиксация обеспечивала стабильное положение тела, предотвращала травмы и позволяла точно вводить ректальный электростимулятор. Далее методом пальпации прямой кишки удаляли фекалии. Анальное отверстие и ректальный наконечник прибора смазывали вазелиновым маслом и вводили в прямую кишку на 2,5–3 см (рис. 1).

Убедившись, что наконечник полностью введен в анальное отверстие животного, включали электростимулятор, заранее настроенный на нужные параметры тока. О воздействии электростимулятора на семенные бугорки свидетельствовала эрекция. При ее отсутствии ректальный наконечник двигали внутри прямой кишки, прижимая к передней поверхности прямой кишки, добиваясь наступления эрекции. Электростимуляцию самцов крыс продолжали до появления эрекции и эякулята при этом фиксировали следующие показатели: продолжительность воздействия электрического тока до момента получения эякулята, выраженность эрекции и мышечного сокращения у животных, наличие либо отсутствие эякуляции.

Для оценки качества эрекции использовали следующие визуальные критерии: «+» – слабая эрекция: наблюдается частичное наполнение кавернозных тел, увеличение полового члена в объеме при отсутствии выраженной ригидности и выведения из препуция;



РИС. 1.

Подготовка животного к трансректальной электростимуляции

FIG. 1.

Animal preparation for transrectal electrical stimulation

«++» – средняя эрекция: характеризуется полной ригидностью полового члена и его выведением из препуциального мешка, однако угол подъема относительно оси тела животного составляет менее 90°; «+++» – выраженная эрекция: максимальная ригидность, полное выведение полового члена, сопровождающееся характерным изменением цвета и специфическим положением, облегчающим забор эякулята.

Степень мышечного ответа на электростимуляцию оценивали по вовлеченности групп мышц: «+» – умеренное сокращение: локальный мышечный ответ, ограниченный областью тазового пояса и нижних конечностей; «++» – выраженное сокращение: генерализованный мышечный ответ, затрагивающий мышцы спины и передних конечностей. Наблюдается выраженное выгибание туловища, требующее дополнительной фиксации животного для удержания ректального наконечника в правильном положении.

Полученный эякулят отбирали с помощью одноканального дозатора с переменным объемом и пластиковыми наконечниками на 200 мкл (Thermo Scientific, США) и смешивали со средой Sil-Select Plus Sperm Washing («FertiPro», Бельгия) в пробирках типа эппендорф. Далее проводили микроскопию полученных образцов для оценки количества и морфологии сперматозоидов.

Подсчет концентрации сперматозоидов осуществляли в счетной камере Горяева. Разведенный в 10 раз образец эякулята в объеме 10 мкл при помощи дозатора с наконечником вносили в камеру у края покровного стекла так, чтобы эякулят заполнил всю камеру. Далее при увеличении микроскопа ×200 («Микромед Р-1 LED», Россия) проводили подсчет клеток в 50 больших квадратах камеры, при этом отмечая наличие или отсутствие движения сперматозоидов.

Для подсчета концентрации сперматозоидов использовали формулу [21]:

$$C = \frac{a \times 250 \times 10}{50 \times 1000} \text{ млн/мл,}$$

где

a — сумма количества клеток в 50 квадратах сетки камеры Горяева;

250 — объем одного большого квадрата камеры Горяева;

10 — степень разведения исходного эякулята;

1000 — коэффициент пересчета 1 мкл в 1 мл;

50 — число больших квадратов камеры Горяева, в которых проводили подсчет сперматозоидов.

Для оценки морфологии сперматозоидов осуществляли микроскопию клеток, используя цифровой микроскоп с объективом ×40 («Levenhuk D90L LCD», Китай).

Подвижность сперматозоидов оценивали в соответствии с руководством ВОЗ с выделением трех категорий: прогрессивно-подвижные (PR) — активно движущиеся линейно или по большому кругу; непрогрессивно-подвижные (NP) — движение на месте; неподвижные (IM) — полное отсутствие движения.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием методов непараметрической статистики. Для количественных признаков (концентрация сперматозоидов) данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха — Ме (25%–75%). Данные подвижности представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки ($M \pm m$). Для выявления различий между исследуемыми группами использовали критерий Краскела – Уоллиса. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Параметры тока, использованные для получения образцов эякулята крыс методом ректальной электростимуляции семенных бугорков, представлены в таблице 1.

В ходе проведенного исследования во время электростимуляции во всех шести экспериментальных группах животных наблюдалось появление эрекции, которое проявлялось как увеличение объема полового члена и в некоторых случаях его посинение в результате наполнения кровью (рис. 2).

В результате ректальной электростимуляции семенных бугорков крыс эякулят был получен у животных из экспериментальных групп №2, 3, 4, 5 и 6. В группе животных №1 эякуляция не произошла даже после воздействия электрическим током в течение 3 минут (табл. 2).

Из данных, представленных в таблице 2, следует, что все режимы электростимуляции позволяли добиться эрекции во всех группах животных. Минимальное время воздействия электростимулятора для получения эякулята наблюдали в группах № 3–6: до 1 минуты. В этих же группах (№ 3–6) была выраженная эрекция. Однако в группах № 5 и 6 наблюдали более активный ответ в виде генерализованного мышечного сокращения всего тела животного при использовании частоты тока 70 Гц, что было расценено как негативный фактор. Несмотря на жесткость ректального наконечника (для стимуляции использовали металлический наконечник), интенсивные сокращения мускулатуры приводили к физическому смещению зонда относительно

проекции нервных сплетений прямой кишки, что затрудняло поддержание стабильного воздействия электростимуляции даже при постоянном мануальном контроле его положения. При использовании частоты 60 Гц не отмечалось избыточной двигательной активности и генерализованных сокращений мускулатуры, что свидетельствовало об адекватной глубине анестезии и отсутствии болевой чувствительности. Данный режим позволил обеспечить стабильный нейромышечный статус животных в ходе эксперимента, что является естественным физиологическим фоном для проведения ректальной электростимуляции в условиях наркоза.

Пробы эякулята в группах животных № 3–6 были взяты на исследование. Результаты подсчета концентрации и подвижности клеток представлены в таблице 3.



РИС. 2.
Появление эрекции у самца крысы

FIG. 2.
Erection induced in a male rat

ТАБЛИЦА 1

**ПАРАМЕТРЫ ТОКА, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ
ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ОБРАЗЦОВ ЭЯКУЛЯТА У КРЫС
МЕТОДОМ РЕКТАЛЬНОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ
СЕМЕННЫХ БУГОРКОВ**

Характеристика параметров для электроэякуляции	Группа животных					
	1 (n=5)	2 (n=5)	3 (n=5)	4 (n=5)	5 (n=5)	6 (n=5)
Частота, Гц	50		60		70	
Напряжение, В	4	9	4	9	4	9
Сила тока, А	≤8					

TABLE 1

**ELECTRICAL STIMULATION PARAMETERS FOR
TRANSRECTAL EJACULATE COLLECTION FROM THE
SEMINAL COLLICULUS IN RATS**

ТАБЛИЦА 2

РЕЗУЛЬТАТЫ РЕКТАЛЬНОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ
СЕМЕННЫХ БУГОРКОВ САМЦОВ КРЫС

TABLE 2

OUTCOMES OF TRANSRECTAL ELECTRICAL
STIMULATION OF THE SEMINAL COLLICULUS
IN MALE RATS

Параметры	Характеристика параметров для электроэякуляции					
Группа животных	1 (n=5)	2 (n=5)	3 (n=5)	4 (n=5)	5 (n=5)	6 (n=5)
Частота, Гц	50		60		70	
Напряжение, В	4	9	4	9	4	9
Сила тока, А	≤8					
Время воздействия электростимулятора для получения эякулята	До 3 мин	До 2 мин	До 1 мин	До 1 мин	До 1 мин	До 1 мин
Среднее значение времени воздействия электростимулятора для получения эякулята (Me (25%–75%), мин	эякулят не получен	1,7 (1,5; 2,1)	0,5 (0,4; 0,6)	0,6 (0,4; 0,7)	0,7 (0,5; 0,8)	0,6 (0,4; 0,7)
Выраженность мышечного сокращения	+	+	+	+	++	++
Выраженность эрекции	+	++	+++	+++	+++	+++
Наличие эякулята	-	+	+	+	+	+
Наличие сперматозоидов	-	+	+	+	+	+

Примечания:

1. В группе № 1 эякулят не был получен в течение 10 минут стимуляции;

2. Мышечное сокращение: «+» – умеренное (локальные сокращения тазового пояса), «++» – выраженное (генерализованное сокращение мускулатуры туловища)

3. Эрекция: «+» – слабая (частичное наполнение кавернозных тел), «++» – средняя (полная ригидность и выведение из препуция), «+++» – выраженная (максимальная ригидность с гиперемией).

ТАБЛИЦА 3

ОЦЕНКА КОНЦЕНТРАЦИИ И ПОДВИЖНОСТИ
СПЕРМАТОЗОИДОВ В ПОЛУЧЕННЫХ ОБРАЗЦАХ
ЭЯКУЛЯТА

TABLE 3

ASSESSMENT OF SPERM CONCENTRATION,
MOTILITY, AND MORPHOLOGY IN EJACULATE
SAMPLES

Параметры	Характеристика параметров для электроэякуляции			
Группа животных	3 (n=5)	4 (n=5)	5 (n=5)	6 (n=5)
Частота, Гц	60		70	
Напряжение, В	4	9	4	9
Сила тока, А	≤8			
Средняя концентрация сперматозоидов (Me (25%–75%), млн кл./мл	8,70 (8,10; 9,40)	7,45 (6,90; 8,15)	6,05 (5,50; 6,70)	4,90 (4,45; 5,40)
Подвижность сперматозоидов, %	прогрессивно- подвижные (PR)	62,4±5,1	34,8±4,4	0
	непрогрессивно- подвижные (NP)	15,2±2,4	28,6±3,2	0
	неподвижные (IM)	22,4±4,8	36,6±5,4	100

Исходя из полученных данных следует, что наибольшая средняя концентрация сперматозоидов получена в экспериментальных группах № 3 и 4 – 8,70 (8,10; 9,40) млн. кл./мл и 7,45 (6,90; 8,15) млн. кл./мл. При анализе подвижности в группе № 3 преобладали прогрессивно-подвижные сперматозоиды (PR = 62,4 ± 5,1 %). В группе № 4 отмечалось снижение доли прогрессивно-подвижных клеток до 34,8 ± 4,4 % одновременно

с ростом числа непрогрессивно-подвижных сперматозоидов. В группах № 5 и 6 не было обнаружено подвижных клеток. Для исключения влияния внешних факторов (температурный шок, время ожидания) забор проб проводился по единому протоколу: анализ выполнялся не позднее 5 минут после получения эякулята, пробирки выдерживались в термостате при температуре 37 °C. Учитывая наличие подвижности сперматозоидов

в группах № 3, 4, отсутствие активности в группах № 5, 6 непосредственно связано с избыточным воздействием высокочастотного тока (70 Гц) на ткани семенных бугорков крыс в момент эякуляции.

В группах № 5 и 6 количество клеток было меньше, чем в группах № 3 и 4 – 6,05 (5,50; 6,70) млн. кл./мл и 4,90 (4,45; 5,40) млн. кл./мл соответственно. Оценка морфологии клеток в этих группах животных показала наличие морфологических нарушений, проявляющихся в виде отрыва головки сперматозоида от хвоста (рис. 3).

Проведенный анализ выявил наличие статистически значимых различий между исследуемыми группами как по концентрации сперматозоидов ($p < 0,05$), так и по показателям подвижности ($p < 0,01$). Было установлено, что показатель средней концентрации сперматозоидов в группе № 3 (8,70 млн. кл./мл) был значимо выше, чем в группах № 4, 5 и 6. При анализе подвижности клеток в данных группах также были обнаружены достоверные отличия. Так, в группе № 3 значимо преобладали прогрессивно-подвижные сперматозоиды ($PR = 62,4 \pm 5,1 \%$), что достоверно выше показателей группы № 4 ($PR = 34,8 \pm 4,4 \%$) ($p < 0,05$) и групп № 5 и 6, где подвижные клетки полностью отсутствовали ($p < 0,01$). В группе № 4 отмечалось статистически значимое увеличение доли непрогрессивно-подвижных сперматозоидов по сравнению с группой № 3: $28,6 \pm 3,2 \%$ против $15,2 \pm 2,4 \%$.

Низкая концентрация сперматозоидов в группах № 5 и 6 объясняется тем, что при подсчете учитываются только целые клетки. Разрушение сперматозоидов при 70 Гц приводит к тому, что значительная часть биологического материала превращается в клеточный детрит, не подлежащий учету. Наличие морфологических нарушений в клетках свидетельствует о травмирующем эффекте режима электростимуляции с частотой 70 Гц при обоих режимах напряжения. Учитывая данный факт, вышеуказанные показатели электростимуляции нежелательно использовать для выделения сперматозоидов во избежание нарушения их морфологии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Метод электростимуляции является наиболее перспективным для получения сперматозоидов у самцов животных при изучении уровня их фертильности и анализе роли мужского фактора в процессе репродукции. Его ключевое преимущество заключается в возможности получения нативного эякулята, а не эпидидимальной взвеси. В отличие от работы со взвесью, получение эякулята позволяет оценить функциональный статус клеток в присутствии секрета придаточных половых желез, что обеспечивает максимальную точность показателей спермы, приближенную к физиологической норме. Кроме того, использование данного метода соответствует международным принципам биоэтики. Прижизненное получение материала исключает необходимость эвтаназии животных, что позволяет



РИС. 3.

Головка сперматозоида в камере Горяева, увеличение $\times 400$

FIG. 3.

Sperm head in the Goryaev chamber, at $\times 400$ magnification

проводить исследования на одних и тех же особях и повышает гуманность эксперимента. Возможность отбора мужских особей с одинаковым клеточным потенциалом сперматозоидов для экспериментальных работ на животных позволяет исключить мужской фактор бесплодия и оценить значимость только женского организма на процесс размножения при воздействии различных внешних и внутренних факторов.

Анализ литературных данных показал, что при ректальной электростимуляции семенных бугорков в экспериментальных работах были использованы различные режимы стимуляции (табл. 4).

Выявление большого числа модификаций метода электростимуляции семенных бугорков, отсутствие конкретного режима воздействия прибора на семенные бугорки животных (частоты, напряжения, силы тока, времени воздействия) обосновало целесообразность разработки пошагового способа получения сперматозоидов у самцов крыс. Для определения наиболее благоприятного режима электростимуляции, используя результаты ранее проведенных исследований, при одном варианте силы тока применили 2 варианта частоты (60 Гц и 70 Гц) и напряжения (4 В и 9 В). Критериями выбора оптимального режима электростимуляции служили минимальные временные затраты на получение эякулята. В сравнении с ранее опубликованными методиками, предлагаемый режим позволяет существенно сократить время воздействия на семенные бугорки до 1 минуты, необходимое для возникновения эрекции и успешного получения материала. Это не только повышает производительность экспериментальной работы, но и минимизирует стрессовое воздействие на животное, предотвращая мышечные сокращения и сохраняя морфологическую целостность сперматозоидов.

В ходе работы установлено, что наиболее безопасным и клеточносберегающим способом получения сперматозоидов, позволяющем получить активные

ТАБЛИЦА 4

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МЕТОДОВ
ТРАНСРЕКТАЛЬНОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ
СЕМЕННЫХ БУГОРКОВ КРЫС [17, 18, 19]

TABLE 4

COMPARATIVE EVALUATION OF TRANSRECTAL
ELECTRICAL STIMULATION METHODS FOR THE RAT
SEMINAL COLLICULUS [17, 18, 19]

Режим электростимуляции	Частота, Гц	Напряжение, В	Сила тока, А	Продолжительность электростимуляции, мин
1	60	8,1	нет информации	10,0
2	60	5,8	нет информации	5,5
3	60	7,4	нет информации	5,0
4	60	3	0,5	до эякуляции самца
5	нет информации	2–10	нет информации	до эякуляции самца

морфологически сохраненные сперматозоиды является ректальная электростимуляция семенных бугорков крыс при показателях электрического тока 60 Гц и 4 В. Напротив, превышение частотного порога свыше 60 Гц запускает каскад необратимых деструктивных процессов в структуре клеток. Известно, что при частоте 70 Гц возникают высокочастотные микровибрации, входящие в резонанс с элементами цитоскелета сперматозоида. Из-за инерционной разницы масс головки и хвоста в уязвимой области шейки создается избыточное механическое напряжение, приводящее к массовой декапитации клеток [22]. Помимо механического разрыва, интенсивное электрическое поле провоцирует электропорацию мембран и окислительный стресс, что нарушает ионный гомеостаз и ведет к быстрой потере подвижности [23]. Дополнительным негативным фактором выступает локальный нагрев тканей, вызывающий денатурацию белков аксонемы и двигательного аппарата хвоста [24].

Использование оптимальных параметров частоты электрического тока 60 Гц и напряжения 4 В позволяет получить у самцов крыс большее количество клеток (8,7 (8,10; 9,40) млн. кл/мл) за 1 минуту только в сравниваемых по режимам электростимуляции группах животных в данном экспериментальном исследовании, но и с ранее опубликованными научными исследованиями по применению различных параметров тока.

ВЫВОДЫ

Разработана методика прижизненного получения сперматозоидов у крыс линии Wistar, ключевым преимуществом которой является оптимизация параметров электрического тока – 60 Гц и 4 В. Выбор данных характеристик позволил достичь максимального сокращения продолжительности манипуляции, что выгодно отличает предложенный способ от существующих аналогов и сводит к минимуму стрессовое воздействие на лабораторных животных.

Научно-обоснованный режим электростимуляции гарантирует получение морфологически сохраненных и функционально активных сперматозоидов,

что открывает широкие возможности для использования полученных результатов: при изучении этиологии и патогенеза различных форм мужского бесплодия; для анализа эффективности и безопасности новых иммунобиологических препаратов, направленных на повышение мужской фертильности; для отработки и совершенствования протоколов экстракорпорального оплодотворения на лабораторных животных; при исследовании влияния комплексных факторов внешней и внутренней среды на репродуктивный потенциал организма.

Разработанная методика представляет собой надежный инструмент для стандартизации андрологических исследований, обеспечивая высокую воспроизводимость результатов при строгом соблюдении принципов биоэтики.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке гранта программы УМНИК (договор № 18682ГУ/2023) и гранта ФГБОУ ВО «Кировский ГМУ» Минздрава России № 7-2026-ГРАНТ.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Babakhanzadeh E, Nazari M, Ghasemifar S, Khodadadian A. Some of the factors involved in male infertility: a prospective review. *Int J Gen Med*. 2020; 13: 29–41. doi: 10.2147/IJGM.S241099
2. Andone BA, Handrea-Dragan IM, Botiz I, Boca S. State-of-the-art and future perspectives in infertility diagnosis: conventional versus nanotechnology-based assays. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2023; 54: 102709. doi: 10.1016/j.nano.2023.102709
3. Carson SA, Kallen AN. Diagnosis and management of infertility: a review. *JAMA*. 2021; 326(1): 65–76. doi: 10.1001/jama.2021.4788

4. ВОЗ: бесплодием страдает каждый шестой человек в мире. Всемирная организация здравоохранения: официальный сайт. 2023. 4 апреля. [WHO: 1 in 6 people globally affected by infertility. World Health Organization: official website. 2023. April 4.] URL: <https://www.who.int/ru/news/item/04-04-2023-1-in-6-people-globally-affected-by-infertility> [date of access: March 15, 2025].
5. Cardona BA, Boel A, Vanden Meerschaut F, Stoop D, Heindryckx B. Diagnosis and treatment of male infertility-related fertilization failure. *Journal of Clinical Medicine*. 2020; 9(12): 1–31. doi: 10.3390/jcm9123899
6. Duca Y, Calogero AE, Cannarella R, Condorelli RA, La Vignera S. Current and emerging medical therapeutic agents for idiopathic male infertility. *Expert Opin Pharmacother*. 2019; 20(1): 55–67. doi: 10.1080/14656566.2018.1543405
7. Houston BJ, et al. A systematic review of the validated monogenic causes of human male infertility: 2020 update and a discussion of emerging gene–disease relationships. *Human reproduction update*. 2022; 28(1): 15–29. doi: 10.1093/humupd/dmab030
8. Aitken RJ, Drevet JR, Moazamian A, Gharagozloo P. Male infertility and oxidative stress: a focus on the underlying mechanisms. *Antioxidants*. 2022; 11(2): 306. doi: 10.3390/antiox11020306
9. Cannarella R, Gul M, Rambhatla A, Agarwal A. Temporal decline of sperm concentration: role of endocrine disruptors. *Endocrine*. 2023; 79(1): 1–16. doi: 10.1007/s12020-022-03136-2
10. Levine H, et al. Temporal trends in sperm count: a systematic review and meta-regression analysis of samples collected globally in the 20th and 21st centuries. *Hum Reprod Update*. 2023; 29(2): 157–176. doi: 10.1093/humupd/dmac035
11. Sunder M, Leslie SW. Semen Analysis. StatPearls Publishing; 2025.
12. World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 6th ed. World Health Organization. 2021.
13. Богачева Н.В., Зайцева И.В., Попова С.В., Коротаева К.Н. Основные проблемы экспериментальных исследований новых иммунобиологических препаратов на биологических моделях лабораторных животных. *Вятский медицинский вестник*. 2020; 4(68): 74–81. [Bogacheva NV, Zaitseva IV, Popova SV, Korotaeva KN. Basic problems of experimental studies of new immunobiological preparations on biological models of laboratory animals. *Vjatskij medicinskij vestnik*. 2020; 4(68): 74–8 (In Russ.)]. doi: 10.24411/2220-7880-2020-10135
14. Волкова Н.А., Коржилова С.В., Котова Т.О., Ветох А.Н., Волкова Л.А., Зиновьева Н.А. Выделение, культивирование и характеристика сперматогониев петуха (*Gallus gallus*). *Сельскохозяйственная биология*. 2016; 51(4): 450–458. [Volkova NA, Korzhikova SV, Kotova TO, Vetokh AN, Zinovieva NA. Isolation and characterization of rooster (*Gallus gallus*) spermatogonia. *Agricultural Biology*. 2016; 51(4): 450–458 (In Russ.)]. doi: 10.15389/agrobiol.2016.4.450rus
15. Патент № 2092129 Российская Федерация, МПК A61D 19/02 (2006.01). Способ получения семени от зубров: № 95102586/13; заявл. 21.02.1995; опубл. 10.10.1997 / Абилов А.И., Кононов В.П., Комбарова Н.А., Сипко Т.П., Шумов А.В.; заявитель: Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства – 5 с. [Russian Federation patent RU 2092129 (IPC A61D 19/02) (2006.01). Method for obtaining semen from bison. № 95102586/13; application: February 21, 1995; Published October 10, 1997 / Abilov AI, Kononov VP, Kombarova NA, Sipko TP, Shumov AV. (In Russ.)].
16. Barroso LVS, et al. Impact of testicular sperm extraction and testicular sperm aspiration on gonadal function in an experimental rat model. *Int Braz J Urol*. 2018; 44(1): 172–179. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2016.0652
17. Зуева А.А., Крышень К.Л., Матичин А.А., Каргопольцева Д.Р., Кательникова А.Е., Трофимец Е.И. и др. Апробация метода трансректальной электростимуляции семенных бугорков крыс. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2019; 3: 1–11. [Zueva AA, Kryshen KL, Matichin AA, Kargopolceva DR, Katelnikova AE, Trofimets EI, et al. Approbation of transrectal electroejaculation technique for rats. *Lab animals journal*. 2019; 3: 1–11. (In Russ.)]. doi: 10.29296/2618723X-2019-03-07
18. McCoy MR, Montonye D, Bryda EC. Electroejaculation of chimeric rats. *Lab Anim (NY)*. 2013; 42(6): 203–205. doi: 10.1038/labani.301
19. Paick SH, et al. Electroejaculation in the Male Rat. *Korean J Urol*. 2008; 49(3): 266–270. doi: 10.4111/kju.2008.49.3.266
20. Патент на полезную модель RU 230453 U1, 04.12.2024.. Электростимулятор ректальный для эякуляции у животных / Богачева Н.В., Богачев Н.Н., Дунаева Е.Б., Хасаншина З.Р., Козвонин В.А. заявитель и правообладатель: ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России. Заявка № 2024119277 от 10.07.2024. [Utility Model Patent RU 230453 U1, December 4, 2024. Rectal Electrostimulator for Ejaculation in Animals / Bogacheva NV, Bogachev NN, Dunaeva EB, Khasanshina ZR, Kozvoinin VA. applicant and patent holder: FSBEI HE Kirov SMU MOH Russia. Application No. 2024119277 dated July 10, 2024 (In Russ.)].
21. Шатохина И.С., Кузнецова В.С. *Исследование эякулята: учебное пособие*. М.: МОНИКИ; 2014: 20. [Shatohina IS, Kuznecova VS. *Ejaculate Examination: A Tutorial*. М.: MONIKI; 2014: 20 (In Russ.)].
22. Cankara FN, et al. The impact of electric fields on testis physiopathology, sperm parameters and DNA integrity-the role of resveratrol. *Andrologia*. 2018; 50(4): 1–11. doi: 10.1111/and.12971
23. Takalani NB, et al. Role of oxidative stress in male infertility. *Reprod Fertil*. 2023; 4(3): e230024. doi: 10.1530/RAF-23-0024
24. Cichowska AW, et al. Proteome profiling of canine epididymal fluid: in search of protein markers of epididymal sperm motility. *International Journal of Molecular Sciences (IJMS)*. 2023; 24(19): 14790. doi: 10.3390/ijms241914790

Сведения об авторах

Хасаншина Зулейха Рамилевна – эмбриолог в ООО «Ради меня»; соискатель кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Кировский Государственный Медицинский Университет» Минздрава России; e-mail: khasanshina.99@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1390-3204>

Богачева Наталья Викторовна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Кировский Государственный Медицинский Университет» Минздрава России; e-mail: bogacheva70@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7021-6232>

Information about the authors

Zuleikha R. Khasanshina – embryologist at «Radi menya» Ltd. Co., applicant at the Department of Microbiology and Virology, Kirov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: khasanshina.99@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1390-3204>

Natalya V. Bogacheva — Dr. Sc. (Med.), associate professor, Kirov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: bogacheva70@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7021-6232>

Вклад авторов:

Хасаншина З.Р. — написание исходного текста, доработка текста;

Богачева Н.В. — научное руководство, написание исходного текста, доработка текста.