

Учебный курс "Технология витрификации сперматозоидов человека без криопротекторов" в Кёльне, Германия.

Уважаемые коллеги,

Мы предлагаем Вашему вниманию следующий практический семинар:

"Асептическая технология витрификации сперматозоидов человека без криопротекторов: четыре модификации двух различных технологий для ИКСИ (небольшой объем) и для внутриматочной инсеминации (большой объем) ".

Это индивидуальное обучение по принципу один-на-один увеличит эффективность обучения в сравнении с групповым обучением. Мы будем рады Вашему приезду к нам в Кёльн.

Дата: начиная с октября 2015 г. в любое удобное для Вас время.

Продолжительность: 2 дня.

Количество участников: один, максимум два на один курс.

Адрес: Научно-исследовательская лаборатория репродуктивной медицины, Университетская клиника акушерства и гинекологии, Кёльнский университет, Кёльн, Германия (Forschungsgruppe für Reproduktionsmedizin, Universitätsfrauenklinik, Kerpener Str. 34, 50931 Köln, Deutschland).

Язык: русский, немецкий, английский, испанский по индивидуальному запросу.

Информация и регистрация: Д-р В. Исаченко, адрес электронной почты: vladimir.isachenko@googlemail.com (+ 49-221-4787349)

Стоимость курса: 800 евро за одного участника, 1200 евро за двух участников.

Директора курса:

Проф., Д-р мед. Петр Мальманн, директор университетской клиники акушерства и гинекологии.

Д-р биол. Евгения Исаченко, Биологический директор ЭКО-лаборатории (на немецком: http://frauenklinik.uk-koeln.de/reproduktionsmedizin-kryokonservierung?set_language=de).

Проф., Д-р мед. Гохар Рахими, Медицинский директор ЭКО-лаборатории.

Проф., Д-р мед. Рауль Санчес, вице-ректор Университета Темуко, Темуко, Чили, (только в октябре 2015 г.).

Проф. (CL, IT), Д-р биол. Владимир Исаченко, Руководитель исследовательской группы репродуктивной медицины (на английском: <http://frauenklinik.uk->

koeln.de/klinik_fuer_frauenheilkunde/forschung/research-group-for-reproductive-medicine?set_language=en).

Дизайн курса:

Этот семинар предназначен для аспирантов и специалистов по криоконсервации клеток млекопитающих, в области репродуктивной медицины и ветеринарии.

В настоящее время для бизнеса начать производство чего бы то ни было для клинического применения стало гораздо сложнее, чем некоторое время назад, и этот процесс требует много времени. Мы объявляем наш практический семинар только сейчас потому, что только сейчас пластиковые элементы комплектов наверняка будут произведены фирмами и представлены на нашем семинаре. Ранее, без пластиковых комплектов, проводить практический семинар не имело смысла.

Наш курс будет содержать краткие базовые лекции и фильм о технологиях. Центральная часть нашего семинара - работа руками.

Каждый элемент технологии является результатом наших собственных исследований, которые мы уже опубликовали [1-16].

Сравнительная криоконсервация сперматозоидов по медленному режиму с проникающими криопротекторами и по нашей технологии будет предложена Вашему вниманию. Для этого сравнения можно будет использовать здесь, во время нашего семинара, технологии замораживания спермы, которые Вы используете в своей лаборатории. Если Вы хотите, Вы можете привезти сюда, на наш семинар Ваши инструменты, пластиковые контейнеры, растворы для замораживания и т.д. Мы вместе с Вами разделим эякулят на части, заморозим с криопротекторами и после оттаивания сравним результаты.

Несколько кратких параграфов по технологии и о семинаре:

1. Асептическая технология витрификации сперматозоидов человека, собак, котят (<http://blog.cincinnati-zoo.org/2015/05/14/glass-glass-baby-birth-of-healthy-kittens-following-sperm-vitrification-for-artificial-insemination/>) и рыб без использования проникающих криопротекторов теперь реальность [1-22].
2. Разработанные нами технологии являются оригинальными. Сперматозоиды, витрифицированные по "капиллярной" и "одна большая соломинка" методологиям, сразу после оттаивания готовы для дальнейшего использования без дополнительной обработки (центрифугирования для удаления криопротекторов, разделения в градиенте и другие). Технология позволяет получать следующее: мы витрифицировали 0,3 мл или 0,01 мл суспензии сперматозоидов, оттаяли эти 0,3 мл или 0,01 мл и эти же 0,3 мл или 0,01 мл имеем после оттаивания для инсеминации, ЭКО или ИКСИ. Сперматозоиды после оттаивания свободны от плазмы спермы.
3. Технология витрификации для внутриматочной инсеминации (большой объем) представлена в двух формах: "соломинка в соломинке" [10] и "одна большая

соломинка" [7]. Технология витрификации для ИКСИ (а также ЭКО в малых объемах) представлена в двух формах: "капиллярная технология" [12], а также "ОУС (открытая утонченная соломинка) технология" [23].

4. Витрификационный кит состоит только из одного раствора без проникающих криопротекторов. Это обычная культуральная среда с добавлением небольшого количества сахарозы.

5. Мы рекомендуем наши технологии не только из-за их простоты, но прежде всего потому, что наша технология лучше сохраняет сперматозоиды (особенно из эякулятов низкого качества при астенозооспермии и криптозооспермии) по сравнению с традиционным "медленным" замораживанием с проникающими криопротекторами.

Кельн - популярное туристическое место (<http://www.koelntourismus.de>). Ваше пребывание в Кельне позволяет легко добраться до Голландии, Бельгии, Люксембурга и Франции. Например, поездка в Амстердам с 5-6 ч пребыванием в этом городе и транспортировкой Кёльн-Амстердам-Кёльн занимает немного больше, чем один световой день и стоит до 25 евро, а 4-дневная поездка в Париж (3 дня в этом городе), включая транспортировку и отель стоит от 90 до 180 евро (на русском: <http://kompass-komfort.de/index.php>).

ПРОГРАММА

Первый день

8: 00-8: 45 Лекция: Криобиология как область знаний и применение в репродуктивной медицине и онкологии. В. Исаченко.

9: 00-9: 45 Лекция: Витрификация сперматозоидов человека: теория и практическое применение. Е. Исаченко

10: 00-10: 45 Фильм с комментариями: Витрификация сперматозоидов человека: две асептические технологии (для ИКСИ / ЭКО в микро-объемах и для внутриматочной инсеминации. В. Исаченко

10: 45-12: 45 и 13: 40-16: 00 Работа руками:

1. Подготовка среды витрификации.

2. Смешивание сперматозоидов со средой витрификации.

3. Витрификация сперматозоидов для внутриматочной инсеминации (до 500 мкл на соломинку, модификация "одна большая соломинка");

3. 1. Аспирация сперматозоидов в пластиковую соломинку, герметизация соломинки и погружение в жидкий азот.

3.2. Оттаивание сперматозоидов в водяной бане и выдувание сперматозоидов из соломинки для оценки качества и осеменения.

4. Витрификация сперматозоидов для внутриматочной инсеминации (до 100 мкл на соломинку, модификация "соломинка в соломинке"):

4.1. Аспирация сперматозоидов в открытую внутреннюю соломинку, герметизация наружной соломинки и погружение в жидкий азот.

4.2. Оттаивание сперматозоидов в пробирке, центрифугирование сперматозоидов и оценка качества.

Р. Санчес (только октябрь 2015), Е. Исаченко, Г. Рахими, В. Исаченко.

Второй день

8: 00-8: 45 Лекция: Интеграция сперматозоида в ооцит: искусственная активация и коррекция положения пронуклеусов. Е. Исаченко.

9: 00-12: 50 и 13: 40-16: 00 Работа руками:

1. Витрификация 10 мкл сперматозоидов для ИКСИ ("капиллярная технология"):

1.1. Аспирация сперматозоидов в капилляр, помещение капиллара в защитную соломинку, герметизация защитной соломинки и погружение в жидкий азот (охлаждение).

1.2. Оттаивание сперматозоидов в пробирке.

2. Витрификация 10 мкл сперматозоидов для ИКСИ (или ЭКО в микро-объемах) с использованием ОУС (открытой утонченной соломинки).

2.1. Аспирация сперматозоидов в ОУС, помещение ОУС в защитную соломинку, герметизация защитной соломинки и погружение в жидкий азот (охлаждение).

2.2. Оттаивание сперматозоидов в пробирке.

3. Оценка качества оттаяных сперматозоидов по принципу "лучше один раз увидеть, чем сто раз услышать":

3.1. Витрификация сперматозоидов в сравнении с традиционным медленным замораживанием с глицерином: сравнение эффективности. Для этого типа сравнительных криоконсерваций сперматозоиды будут распределены на две части, для витрификации без криопротекторов и обычного замораживания с проникающими криопротекторами.

В. Исаченко, Е. Исаченко, Г. Рахими, Р. Санчес.

16: 00-17: 00 Обсуждения и повторение практических манипуляций. Получение сертификатов и отъезд.

П. Мальманн, Е. Исаченко, В. Исаченко, Г. Рахими, Р. Санчес.

Публикации, упомянутые в этом объявлении:

1. F. Nawroth et al. Vitrification of human spermatozoa without cryoprotectants. *CryoLetters*, 23: 93-102 (2002)
2. E. Isachenko et al. Vitrification of mammalian spermatozoa in the absence of cryoprotectants: from practical difficulties to present success. *Reprod. Biomed. Online*, 6:191-200 (2003)
3. V. Isachenko et al. Cryoprotectant-free cryopreservation of human spermatozoa by vitrification and freezing in vapor: effect on motility, DNA integrity, and fertilization ability. *Biol. Reprod.*, 71:1167-1173 (2004)
4. E. Isachenko et al. DNA integrity and motility of human spermatozoa after standard slow freezing versus cryoprotectant-free vitrification. *Hum. Reprod.*, 19:932-939 (2004)
5. V. Isachenko et al. Clean technology for cryoprotectant-free vitrification of human spermatozoa. *Reprod. Biomed. Online*, 10:350-354 (2005)
6. E. Isachenko et al. Acrosomal status and mitochondrial activity of human spermatozoa vitrified with sucrose. *Reproduction*, 136:167-73 (2008)
7. V. Isachenko et al. Cryoprotectant-free vitrification of human spermatozoa in large (up to 0.5 mL) volume: a novel technology. *Clin. Lab.*, 57:643-650 (2011)
8. V. Isachenko et al. Human spermatozoa vitrified in the absence of permeable cryoprotectants: birth of two healthy babies. *Reprod Fertil Dev.*, 24:323-326 (2011)
9. O. Merino et al. Fish (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa cryoprotectant-free vitrification: stability of mitochondrion as criterion of effectiveness. *Anim. Reprod. Sci.*, 124:125-131 (2011)
10. R. Sanchez et al. Live birth after intrauterine insemination with spermatozoa from an oligo-astheno-zoospermic patient vitrified without permeable cryoprotectants. *J Androl.*, 33:559-562 (2011)
11. R. Sánchez et al. Canine sperm vitrification with sucrose: effect on sperm function. *Andrologia*, 43:233-241 (2011)
12. V. Isachenko et al. Vitrification of human ICSI/IVF spermatozoa without cryoprotectants: new capillary technology. *J. Androl.*, 33:462-468 (2012)
13. O. Merino et al. Cryoprotectant-free vitrification of fish (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa: first report. *Andrologia*, 44 Suppl. 1:390-395 (2012)
14. R. Sánchez et al. Vitrified sperm banks: the new aseptic technique for human spermatozoa allows cryopreservation at -86 °C. *Andrologia*, 44:433-435 (2012)
15. E. Figueroa et al. Effect of seminal plasma on Atlantic salmon (*Salmo salar*) sperm vitrification. *Theriogenology*, 83:238-245 (2015)
16. O. Merino et al. Protective effect of butylated hydroxytoluene on sperm function in human spermatozoa cryopreserved by vitrification technique. *Andrologia*, 47:186-193 (2015)
17. Y. Chen et al. Small-volume vitrification for human spermatozoa in the absence of cryoprotectants by using Cryotop. *Andrologia*, doi: 10.1111/and.12320 (2014)
18. M.A. Khalili et al. Vitrification of neat semen alters sperm parameters and DNA integrity. *Urol. J.*, 11:1465-1470 (2014)
19. A. Agha-Rahimi et al. Vitrification is not superior to rapid freezing of normozoospermic spermatozoa: effects on sperm parameters, DNA fragmentation and hyaluronan binding. *Reprod. Biomed. Online*, 28:352-358 (2014)
20. M.A. Mansilla et al. High temperature is essential for preserved human sperm function during the devitrification process. *Andrologia*, doi: 10.1111/and.12406 (2015)

21. V. Kuznyetsov et al. Vitrification of a small number of spermatozoa in normozoospermic and severely oligozoospermic samples. *Syst Biol Reprod Med.*, 61:13-17 (2015)
22. M. Slabbert et al. Large volume cryoprotectant-free vitrification: an alternative to conventional cryopreservation for human spermatozoa. *Andrologia*, 47:594-599 (2015)
23. G. Vajta et al. Open Pulled Straw (OPS) vitrification: a new way to reduce cryoinjuries of bovine ova and embryos. *Mol Reprod Dev.*, 51:53-58 (1998)