

Снижение цитотоксичности мембранотропных криопротекторов до замораживания спермы индюка в присутствии белковых добавок

М.А. ПЕТРИК¹, И.Н. МАРТЫНЮК²

¹Харьковский государственный университет им. В.Н. Каразина

²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Cytotoxicity Reduction of Membrane-Tropic Cryoprotectants Prior to Freezing of Turkey Sperm in Presence of Protein Additives

M.A. PETRIK¹, I.N. MARTYNYUK²

¹V.N. Karazin Kharkiv National University

²Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Инкубация спермиев птиц с криопротекторами (КП) до замораживания в течение короткого времени увеличивает количество морфологически аномальных клеток, снижает подвижность и через 3–4 ч контакта, даже при гипотермии (4°C), наблюдается их полная гибель. Обнаружено, что одним из способов снижения цитотоксичности КП с выраженной мембранотропностью является введение в криозащитную среду белковых добавок, в частности альбуминов.

Цель данной работы – исследовать механизм снижения цитотоксичности мембранотропных КП на этапе подготовки к замораживанию спермы индюка в присутствии белковых добавок.

Использовали сперму индюка породы “Белая широкогрудая” возрастом 10–12 месяцев, получая ее асканийским способом. Для оценки сохранности спермиев определяли подвижность, переживаемость (подвижность во времени), количество клеток с поврежденной мембраной и морфологическими аномалиями. Изучены КП: этиленгликоль (ЭГ), 1,2-пропандиол (1,2-ПД), 2,3-бутандиол (2,3-БД), формамид (ФА), диметилформамид (ДМФА), диметилацетамид (ДМАц). Изучено взаимодействие КП с яичным альбумином (ЯА) в присутствии бромтимолового синего. Проведен анализ литературных данных по указанной проблеме.

Обсуждается механизм снижения цитотоксичности КП в присутствии ЯА, основанный на образовании прочного комплекса “ЯА + КП”, который влияет на распределение КП между клеткой и внеклеточной средой и тем самым не позволяет достичь критических значений их концентраций, при которых начинает проявляться повреждающее действие. Гидрофильные ФА, ЭГ, 1,2-ПД образуют комплекс “ЯА + КП” преимущественно специфическим взаимодействием с поверхностью белка Н-связями. В образовании комплекса белка с ДМФА, ДМАц и 2,3-БД, обладающими выраженными мембранотропными свойствами, играют роль как специфические (Н-связь), так и неспецифические гидрофобные взаимодействия с преимущественным вкладом последних. Соотношение в пользу того или другого механизма взаимодействия альбумина с КП зависит от гидрофильно-гидрофобного баланса их молекул.

Incubation of avian sperm with cryoprotectants (CPs) prior to freezing for a short period induces the increasing of morphologically abnormal cell number, reduces motility and after 3–4 hrs later the contact even under hypothermia conditions (4°C) their complete death is observed. It was found that one of the methods of cytotoxicity reduction for CP with an expressed membrane-tropicity was introduction into cryoprotective medium of protein additives, particularly, albumins.

The research aim was to study the cytotoxicity reduction mechanism of membrane-tropic CPs at the stage of preparation to freezing of turkey sperm in presence of protein additives.

There was used turkey sperm of “White deep-chested” breed of 10–12-month-old individuals, deriving it by the Askaniya method. To estimate sperm survival the motility (motility vs. time), a number of cells with damaged membrane and morphological abnormalities were determined. There were studied CPs such as: ethylene glycol (EG), 1,2-propane diol (1,2-PD), 2,3-butane diol (BD), formamide (FA), dimethyl formamide (DMFA), dimethyl acetamide (DMAc). The interaction of CPs with egg albumin (EA) in presence of bromthymol blue was investigated. Literature data on the mentioned problem were analyzed.

There is discussed the mechanism of CP cytotoxicity reduction in presence of EA based on the formation of solid complex “EA + CPs”, affecting the distribution of CPs between cell and intercellular medium, therefore not enabling to achieve their critical concentrations, within which their damaging effect starts to be manifested. Hydrophilic FA, EG, 1,2-PD form the complex “EA + CPs” mainly by specific interaction of H-bonds with protein surface. In formation of protein complex with DMFA, DMAc and 2,3-BD, possessing the expressed membrane-tropic properties both specific (H-bond) and non-specific hydrophobic interactions with predominant contribution of the latter play a role. A balance in favor of one or another mechanism of albumin interaction with CPs depends on hydrophilic-hydrophobic balance of their molecules.