

Влияние низких температур на биологическую активность и некоторые биохимические характеристики фолликулярной жидкости яичника человека

В.И. ГРИШЕНКО, Е.А. ЯКОВЛЕВА, Н.Н. ЧУБ, В.В. ЧЕРЕПАНОВ

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Effect of Low Temperatures on Biological Activity and Some Biochemical Characteristics of Human Ovarian Follicular Fluid

V.I. GRISCHENKO, E.A. YAKOVLEVA, N.N. CHUB, V.V. CHEREPANOV

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

В последнее время в связи с развитием метода оплодотворения *in vitro* (IVF) стало возможным получение фолликулярной жидкости (ФЖ) яичника человека для исследования и применения в биотехнологии. Известно, что биологические свойства ФЖ могут зависеть от стимуляции суперовуляции, степени зрелости фолликулов и других факторов.

Цель работы – изучение влияния низких температур на биологическую активность и некоторые биохимические характеристики ФЖ яичника человека, выделенной из фолликулов различного диаметра.

Фолликулярную жидкость аспирировали из малых (диаметром 13–15 мм) и больших (16–22 мм) фолликулов у женщин во время проведения программы IVF. После выделения ооцит-кумуляного комплекса ФЖ центрифугировали при 1500 g в течение 20 мин для осаждения клеток крови и дебриса, расфасовывали по 1 мл в пластиковые ампулы, герметизировали и криоконсервировали погружением в жидкий азот (300–400 град/мин). Ампулы размораживали на водяной бане при температуре 40°C. Методом гель-хроматографии изучали белковый состав ФЖ. Состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса ФЖ яичника человека определяли по содержанию гидроперекиси липидов методом Асакава. Содержание стероидных гормонов в ФЖ исследовали модифицированным методом твердофазного иммуноферментного анализа.

В результате исследования было показано, что быстрый способ охлаждения и хранение в течение одного года при –196°C статистически достоверно не влияют на содержание стероидных гормонов в ФЖ и состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса в ФЖ. Вместе с тем было установлено, что размер фолликулов, из которых выделяли ФЖ, достоверно влияет на состав некоторых белков, гормонов и цитокинов.

Деконсервированная 10%-я ФЖ, введенная в среду инкубации спермиев, повышает кинетические свойства спермиев человека на 10–40%, в зависимости от нормы или астенозооспермии.

Таким образом, технологически простой и эффективный способ криоконсервирования позволяет сохранить биологическую активность ФЖ и успешно использовать ее в клинической практике и биотехнологии.

Recently, with the development of the method of fertilization *in vitro* (IVF) the obtaining of human ovarian follicular fluid (FF) has become possible for studying and application in biotechnology. It is known that biological properties of FF may depend on stimulation of superovulation, follicle maturity rate and other factors.

The research aim was to study the effect of low temperatures on biological activity and some biochemical characteristics of human ovarian FF isolated from the follicles of different diameters.

Follicular fluid was aspirated from small (of 13–15 mm diameter) and large (16–22 mm) follicles in women during IVF. Once isolated, the oocyte-cumulus complexes the FF was centrifuged at 1500 g for 20 min to pellet the blood cells and debris, packed into 1 ml plastic vials, sealed and cryopreserved by immersion into liquid nitrogen (300–400 deg/min). Ampoules were thawed on water bath at 40°C. The protein composition of FF was studied by gel chromatography. State of prooxidant-antioxidant balance of human ovarian FF was examined by the content of lipid hydroperoxide by Asakawa method. The content of steroid hormones in FF was investigated with modified method of solid-phase enzyme immunoassay.

The study showed that the rapid cooling and storage for one year at –196°C did not significantly affect the content of steroid hormones in FF and the state of prooxidant-antioxidant balance in the FF. In addition, it has been found that the size of the follicles from which the FF was isolated significantly and statistically affect the composition of some proteins, hormones and cytokines.

Frozen-thawed 10% FF introduced into incubation medium of spermatozoa increases kinetic properties of human sperm by 10–40%, depending on the rate or asthenozoospermia.

Thus technologically simple and effective way of cryopreservation allows the preservation of biological activity of FF and its successful use in clinical practice and biotechnology.