

Влияние проникающих криопротекторов на осмотическую устойчивость и электрические параметры ооцитов мыши

Е.И. СМОЛЯНИНОВА¹, В.А. ШИГИМАГА², Е.В. ДАВЫДОВА¹,
А.А. КОЛЕСНИКОВА², Е.Г. ЛИСИНА², Е.А. ГОРДИЕНКО¹

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

²Институт животноводства УААН, п. Кулинич, Харьковская обл.

Effect of Penetrating Cryoprotectants on Osmotic Resistance and Electric Parameters of Murine Oocytes

E.I. SMOLYANINOVA¹, V.A. SHIGIMAGA², E.V. DAVYDOVA¹,
A.A. KOLESNIKOVA², E.G. LISINA², E.A. GORDIENKO¹

¹Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

²Cattle Breeding Institute of Ukrainian Academy of Agrarian Sciences, Kulinichi, Kharkov Region, Ukraine

Поиск путей оптимизации программ криоконсервирования ооцитов млекопитающих тесно связан с исследованиями, направленными на поиск эффективных криопротекторов и снижение их токсичного влияния на клетки. Однако критериев, по которым можно вести предварительный отбор эффективных криопротекторов, недостаточно, что обусловлено отсутствием адекватных методических подходов к исследованию комплексного влияния криопротекторов на мембранные и цитоплазматические структуры клетки.

Цель работы – исследование влияния проникающих криопротекторов на осмотическую устойчивость и электрическую проводимость ооцитов мыши.

Методом световой микроскопии и теоретического моделирования исследовано осмотическое поведение ооцитов мыши МП в 1,0 М растворах наиболее часто используемых в практике криоконсервирования криозащитных веществ: сахарозы, этиленгликоля, глицерина, 1,2-пропандиола, ацетамида, диметилсульфоксида, а также определены коэффициенты проницаемости их плазматических мембран для указанных веществ. Методом электропорации определяли зависимость электрической проводимости ооцитов мыши в процессе их эквilibрации в указанных растворах от величины напряженности приложенного электрического поля. Показано, что проводимость ооцитов мыши возрастает с увеличением амплитуды прикладываемого импульса, причем характер этой зависимости близок к линейному. Следует отметить, что ооциты мыши, экспонированные в растворах исследуемых криопротекторов, обладают различной устойчивостью к действию импульсного электрического поля. Этиленгликоль и ацетамид, несмотря на практически одинаковую их способность проникать через плазматические мембраны ооцитов мыши ($K_p = 0,95 \times 10^{-7}$ м/с и $K_p = 0,78 \times 10^{-7}$ м/с), оказывают различное влияние на ооциты, что отражается на их устойчивости к действию электрического импульса. На основе фундаментальных положений теории упругости тонких оболочек, электродинамики и биофизики построена теоретическая модель электрического пробоя клеточных мембран. Установлена количественная зависимость между напряжением электрического поля на мембране клетки и ее модулем упругости. Различная устойчивость клеточных мембран к электрическому пробоя в растворах криопротекторов объясняется их влиянием на модуль изотропного растяжения плазматической мембраны.

The search for ways to optimise the cryopreservation programs for mammalian oocytes is tightly related to the researches, oriented to select the efficient cryoprotectants and reduce their toxic effect on cells. However, there is an insufficient number of criteria for preliminary selection of efficient cryoprotectants, stipulated by the absence of any adequate methodical approach in studying a combined effect of cryoprotectants on membrane and cytoplasm cell structures.

The research was targeted to investigate the effect of penetrative cryoprotectants on an osmotic resistance and electric conductivity of murine oocytes.

An osmotic behaviour of murine oocytes MII in 1.0 M solutions of cryoprotective substances, being most frequently used in cryopreservation practice such as: sucrose, ethylene glycol, glycerol, 1,2-propanediol, acetamide, dimethyl sulfoxide (DMSO), has been investigated with light microscopy and theoretic modelling methods, as well as the permeability coefficients of their plasmatic membranes for the mentioned substances have been determined. The dependency of electrical conductivity of murine oocytes during equilibration in the mentioned solutions on the applied electric field intensity value has been detected with electroporation method. Murine oocyte conductivity was shown as increasing with amplitude augmentation of the applied impulse, moreover this dependency character was close to a linear one. Of note is the fact that the murine oocytes, exposed to the studied cryoprotectant solutions have different resistance to the impulse electric field effect. Ethylene glycol and acetamide in spite of their quite an equal ability to penetrate through plasmatic membranes of murine oocytes ($C_p = 0.95 \times 10^{-7}$ m/sec and $C_p = 0.78 \times 10^{-7}$ m/sec) differently affect the oocytes, that is reflected on their electric impulse resistance. Basing on the fundamental statements of the elasticity theory of thin-walled shells, electrostatics and biophysics there was built a theoretic model of electric breakdown of cell membranes. Quantity dependency between electric field tension on cell membrane and its elasticity modulus has been established. Different cell membrane resistance to electric breakdown in cryoprotectant solution is explained by their effect on the modulus of plasmatic membrane isotrop tension.