



УКРАЇНА

(19) UA (11) 38000 (13) A

(51) 7 C12N5/08

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ ОХОЛОДЖЕНИХ СПЕРМІЇВ ЛЮДИНИ

(21) 2000052761

(22) 15.05.2000

(24) 15.05.2001

(33) UA

(46) 15.05.2001, Бюл. № 4, 2001 р.

(72) Грищенко Валентин Іванович, Алексєєвська  
Ема Іванівна, Крамар Марія Йосипівна(73) Інститут проблем кріобіології і кріомедицини  
Національної академії наук України(57) Спосіб підвищення життєздатності охолодже-  
них спермій людини шляхом додавання до еяку-  
ляту цитохрому С, який **відрізняється** тим, що  
додатково вводять токоферол в концентрації  
1,0...1,3 мМ, а цитохром С беруть в концентрації  
(1,2...1,4)х10<sup>-3</sup> мМ.

Винахід відноситься до медицини і може бути використаний для лікування неплідності.

Відомий спосіб підвищення життєздатності охолоджених спермій людини шляхом додавання до еякуляту цитохрому С в концентрації 2,4х10<sup>-3</sup> мМ [1].

Однак цей спосіб дозволяє підвищити життєздатність спермій тільки на 20%. Це обумовлено тим, що цитохром С каталізує перекисне окислення ліпідів, яке перешкоджає значному підвищенню життєздатності [2].

В основу винаходу покладено задачу створити такий спосіб підвищення життєздатності охолоджених спермій людини, в якому шляхом використання антиоксиданту забезпечувалося б зниження перекисного окислення ліпідів і, таким чином, досягався більш високий рівень їх життєздатності.

Ця задача вирішується тим, що в способі підвищення життєздатності спермій людини шляхом додавання до еякуляту цитохрому С, додатково вводять токоферол в концентрації 1,0...1,3 мМ, а цитохром С беруть в концентрації (1,2...1,4)х10<sup>-3</sup> мМ.

Використання цитохрому С сумісно з токоферолом дозволяє підвищити життєздатність охолоджених спермій людини на 19-23% порівняно з прототипом.

Приклад 1. Еякулят об'ємом 1,0 мл з концентрацією клітин 45 млн/мл вміщували в колонку зі скловатою, яка була попередньо промита фосфатним буфером (рН 7,4). Далі суспензію спермій розводили 1:1 живильним середовищем 199 і центрифугували 7 хв при 1300 об./хв. Надосад зливали, додавали 1 мл середовища 199 і термостатували 15 хв під кутом 45°. Відбирали верхній шар, в якому знаходились тільки активно рухомі

спермій, і охолоджували у холодильнику до 8°C. Через добу відбирали 1 мл суспензії клітин і додавали 1,4х10<sup>-3</sup> мМ цитохрому С і 1,2 мМ токоферолу. Через 15 хв визначали життєздатність спермій цитохімічним способом за рівнем активності сукцинатдегідрогенази [3]. Активність СДГ виражали середнім гістохімічним коефіцієнтом (СТК) [4].

Результати наведені в табл. 1 порівняно з прототипом.

Дані табл. 1 свідчать про те, що після стимуляції способом, який пропонується, життєздатність спермій на 19-23% вища, ніж у прототипі.

Приклад 2. Спосіб здійснювали аналогічно до прикладу 1, за винятком того, що до охолоджених спермій додавали цитохром С у різних концентраціях: 0,5, 1,0, 1,2, 1,4, 1,6 і 2,0 мМ. Результати наведені в табл. 2.

Приклад 3. Спосіб здійснювали аналогічно до прикладу 1, за винятком того, що до охолоджених спермій додавали токоферол у різних концентраціях: 0,2, 0,5, 1,0, 1,3, 1,7, 3,0. Результати наведені у табл. 3.

З даних табл 3 видно, що найвища життєздатність спермій досягається при доданні токоферолу у концентрації 1,0...1,3 мМ.

## Джерела інформації

1. Крамар М.И., Обозная-Печенежская Э.И., Луцкая Л.И., Чадаев В.Е., Терпячая И.В. Использование цитохрома С для повышения фертильности спермы, которая сохранялась в условиях гипотермии // 1-й съезд Укр. общ. криобиологии и криомедицины. – Харьков, 1995. – С. 120-122.

2. Бондаренко В.А. Перекисное окисление липидов в мембранах митохондрий под влиянием низких температур: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Харьков, 1997. – С. 30.

3. Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenyl substituted tetrazole // J. Histochem. Cytochem, 1987, № 5, p. 420-436.

4. Astaldi G., Verga L. The glycogen content of the cells of lymphatic leucemia // Acta haematol, 1957, № 17, 3, p. 129-136.

Таблиця 1

Життєздатність охолоджених спермій людини до і після стимуляції  
n=10

Спосіб	Рівень активності СДГ, СГК	
	До стимуляції	Після стимуляції
За прототипом	1,55±0,03	1,91±0,02
За винаходом	1,67±0,01	2,27±0,02

Таблиця 2

Життєздатність охолоджених спермій залежно від концентрації цитохрому С  
n=60

Концентрація цитохрому С, мМ	Рівень активності СДГ, СГК
0,5x10 <sup>-3</sup>	1,02±0,03
1,0x10 <sup>-3</sup>	1,42±0,02
1,2x10 <sup>-3</sup>	1,76±0,01
1,4x10 <sup>-3</sup>	1,83±0,01
1,6x10 <sup>-3</sup>	1,69±0,01
2,0x10 <sup>-3</sup>	1,50±0,02

Таблиця 3

Життєздатність охолоджених спермій залежно від концентрації токоферолу  
n=60

Концентрація токоферолу, мМ	Рівень активності СДР, СГК
0,2	1,3±0,03
0,5	1,82±0,02
1,0	1,99±0,01
1,3	2,00±0,01
1,7	1,79±0,02
2,0	1,51±0,03

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)  
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26  
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку \_\_\_\_\_ 2001 р. Формат 60x84 1/8.  
Обсяг \_\_\_\_\_ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. \_\_\_\_\_

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.  
(044) 268-25-22