ХОЛОД
В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

Тезисы конференции молодых ученых "Холод в биологии и медицине 2006" 24-25 мая 2006, г. Харьков

Горохова Н.А. Криоконсервирование фетальных фибробластоподобных клеток человека методом витрификации..... 423
Кофанова О.А. Влияние глицерола на активность Ca^{2+}-АТРазы и асимметричное распределение липидов в мембране эритроцитов человека..... 424
Мусина И.А. О влиянии озона на сохранность эритроцитов человека, криоконсервированных в среде, содержащей декстран..... 425
Ямпольская Е.Е., Дубрава Т.Г., Гурина Т.М., Гольцев А.Н. Изменение функционального состояния кроветворных клеток фетальной печени в зависимости от режимов криоконсервирования..... 426
Петренко Ю.А. Морфологический и фенотипический анализ различных популяций клеток эмбриональной печени человека после выделения и криоконсервирования..... 427
Тимон В.В. Оценка состояния митохондрий в клетках после криоконсервирования..... 428
Сомова Е.В. Влияние различных концентраций озонированных растворов на динамику раневого процесса при холодовых повреждениях кожи крыс..... 429
Хоменко М.В. Активность Ca^{2+}-АТРазы эритроцитов человека в условиях гипертонии при различных температурах..... 430
Луценко Д.Г., Бабийчук В.Г. Нейро- и ангиоархитектоника головного мозга крыс разного возраста после гипотермического воздействия..... 431
Дудецкая Г.В., Юрчук Т.А., Устиченко В.Д., Алабедалькарим Н.М., Бондаренко Т.П. Регидратированные адренокортикоциты как модель криоконсервированных стероидпродуцирующих клеток..... 432
Писаренко Н.А., Рамазанов В.В. Влияние непроникающих криопротекторов и скорости охлаждения на гипертонический криогемолиз эритроцитов человека..... 433
Трифонова А.В., Лаврик А.А., Гулевский А.К. Воздействие фракции до 5 кДа крови молочных телят (Актовегин) на перевиваемые линии клеток..... 434
Даниленко Н.А. Модифицирующее влияние хлорида алюминия на чувствительность эритроцитов человека к гипертоническому криогемолизу..... 435
Александрова Д.И., Бондаренко В.А. Влияние pH, температуры на устойчивость эритроцитов к гипертоническому стрессу..... 436
Перчик О.А. Сравнительное изучение влияния криоконсервированного экстракта плаценты и препарата "Овестин"на микрофлору влагалища женщин с урогенитальными расстройствами в период климактерия..... 437
Абакумова Е.С., Моисеева Н.Н., Долгих О.Л., Гулевский А.К. Изучение язвозаживляющего действия низкомолекулярной фракции (до 5 кДа), выделенной из криогемолизата крови молочных телят, на модели хронической язвы желудка у крыс..... 438
Зубов П.М., Зубова О.Л. Структурные и функциональные показатели эритроцитов кордовой и донорской крови в норме и после криоконсервирования..... 439
Сафранчук О.В., Гольцев А.Н. Влияние температурного фактора на развитие аденокарциномы Эрлиха..... 440
Ершов С.С. К вопросу о гипертоническом криогемолизе эритроцитов млекопитающих..... 441
Мищенко А.Г., Горбунов Л.В. Инициация внеклеточного кристаллообразования при замораживании спермиев быка..... 442
Лаврик А.А., Стегний Б.Т., Белоконь В.С. Система паспортизации перевиваемых клеточных линий, хранящихся в низкотемпературных банках..... 443
Водопьянова Л.А., Жегунов Г.Ф. Криоконсервирование клеток костного мозга собак под защитой проникающих и непроникающих криопротекторов..... 444
Пакулова О.К. Влияние анионов лиотропного ряда в среде дегидратации на гипертонический лизис эритроцитов человека..... 445
Ковалёв Г. А., Черкашина Д.В. Модулирование состояния прооксидантно-антиоксидантной системы головного мозга ксенопрепаратами при экспериментальном хроническом алкогольном отравлении..... 446
Салина А.С., Горбунов Л.В. Оценка эффективности технологий криоконсервирования ооцитов млекопитающих в широком диапазоне скоростей теплообмена..... 447
Кондаков И.И. Экспериментальный атеросклероз и лейкоцитарный клиренс липидов при аллогенной трансплантации криоконсервированной плаценты..... 448
Мищенко Ю.Г., Горбунов Л.В. Влияние разного качества эмбрионов млекопитающих на показатели оцениваемой технологии криоконсервирования..... 449

COLD
IN BIOLOGY AND MEDICINE

Abstracts of the Conference of Young Scientists "Cold in Biology and Medicine 2006" May, 24-25th, 2006

Gorokhova N.A. Cryopreservation of Human Fetal Fibroblast-like Cells by Vitrification..... 423
Kofanova O.A. Effect of Glycerol on Ca^{2+}-ATPase Activity and Asymmetrical Distribution of Lipids in Human Erythrocyte Membrane..... 424
Musina I.A. Effect of Ozone on Integrity of Human Erythrocytes, Cryopreserved in Dextrane Based Solution..... 425
Yampolskaya E.Ye., Dubrava T.G., Gurina T.M., Goltsev A.N. Changes in Functional State of Foetal Liver Haemopoietic Cells Depending on Cryopreservation Regimen..... 426
Petrenko Yu.A. Morphological and Phenotypical Analysis of Different Populations in Human Embryonic Liver Cells After Isolation and Cryopreservation..... 427
Parfenova V.V. Assessment of Mitochondria State in Frozen-Thawed Cells..... 428
Somova E.V. Effect of Dissolved Ozone in Different Concentrations on Wound Healing Process During Cold Damages of Rat Skin..... 429
Khomenko M.V. Human Erythrocyte Ca^{2+}-ATPase Activity Under Hypertonic Conditions at Different Temperatures..... 430
Lutsenko D.G., Babijchuk V.G. Brain Neuro- and Angioarchitectonics in Rats of Different Age after Hypothermic Effect..... 431
Dudetskaya G.V., Yurchuk T.A., Ustichenko V.D., Alabedalkarim N.M., Bondarenko T.P. Rehydrated Adrenocorticocytes as Model of Cryopreserved Steroid-Producing Cells..... 432
Pisarenko N.A., Ramazanov V.V. Influence of Non-Penetrative Cryoprotectants and Cooling Rate on Hypertonic Cryohemolysis of Human Erythrocytes..... 433
Trifonova A.V., Lavrik A.A., Gulevsky A.K. Effect of Fraction up to 5 kD of Vealer Blood (Actovegin) on Inoculated Cell Lines..... 434
Danilenko N.A. Modifying Effect of Aluminium Chloride on Human Erythrocyte Sensitivity to Hypertonic Cryohemolysis..... 435
Aleksandrova D.I., Bondarenko V.A. Influence of pH, Temperature on Erythrocyte Resistance to Hypertonic Stress..... 436
Perchik O.A. Comparative Study of Influence of Cryopreserved Placenta Extract and "Ovestin" Preparation on Vaginal Microflora in Women with Urogenital Disorders During Climacterium..... 437
Abakumova E.S., Moiseyeva N.N., Dolgikh O.L., Gulevsky A.K. Studying of Ulcer-healing Effect of Low Molecular Fraction (up to 5 kD), Isolated From Cryohemolysate of Vealer Blood on Model of Chronic Gastric Ulcer in Rats..... 438
Zubov P.M., Zubova O.L. Structural and Functional Indices of Cord and Donor Blood Erythrocytes in Norm and Following Cryopreservation..... 439
Safranchuk O.V., Goltsev A.N. Temperature Factor Effect on Ehrlich Adrenocarcinoma Development..... 440
Ershov S.S. To the question of hypothermal mammalian erythrocyte cryohemolysis..... 441
Mischenko A.G., Gorbunov L.V. Initiation of Extracellular Crystal Formation When Freezing Bovine Sperm..... 442
Lavrik A.A., Stegniy B.T., Belokon V.S. Certification System for Recultured Cell Lines, Stored at Low Temperature Banks..... 443
Vodopyanova L.A., Zhegunov G.F. Cryopreservation of canine bone marrow cells under protection of penetrating and non-penetrating cryoprotectants..... 444
Pakulova O.K. Influence of Lyotropic Series Anions in Dehydration Medium on Hypertonic Lysis of Human Erythrocytes 445
Kovalev G.A. , Cherkashina D.V. Modulating the State of Prooxidant-Antioxidant Brain System With Xenopreparations Under Experimental Chronic Alcohol Poisoning..... 446
Salina A.S., Gorbunov L.V. Estimation of Cryopreservation Technology Efficiency for Mammalian Oocytes within a Wide Range of Heat Exchange Rates..... 447
Kondakov I.I. Experimental Atherosclerosis and Leukocyte Clearance of Lipids Under Allogenic Transplantation of Cryopreserved Placenta..... 448
Mischenko Yu. G., Gorbunov L.V. Influence of Different Quality of Mammalian Embryos on Indices of Cryopreservation Technology Under Study..... 449

Влияние непроникающих криопротекторов и скорости охлаждения на гипертонический криогемолиз эритроцитов человека

Н.А. Писаренко[2], В.В. Рамазанов[1]
[1]Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков
[2]Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

Influence of Non-Penetrative Cryoprotectants and Cooling Rate on Hypertonic Cryohemolysis of Human Erythrocytes

N.A. Pisarenko[2], V.V. Ramazanov[1]
[1]Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov
[2]V.N. Karazin National University, Kharkov

Гипертонический криогемолиз (ГК) – повреждение эритроцитов человека, обусловленное экспозицией клеток в гипертоническом растворе солей или неэлектролитов в диапазоне от 45 до 20°С и последующим охлаждением до температур, близких к 0°С. В настоящее время определены факторы, вызывающие сенсибилизацию клеток к ГК, однако влияние криопротекторов на динамику развития этого процесса не изучено.

Объектом исследования служили эритроциты донорской крови человека II группы. ГК осуществляли посредством переноса аликвот клеточной суспензии эритроцитов из проб, подвергнутых инкубации при 37°С в среде 1,2М NaCl,10мМ трисбуфера, pH 7,6 в течение 1-60 мин (первая стадия), в 1 мл раствора дегидратации при температуре 37 или 0°С на 10 мин (вторая стадия). Криопротекторы (полиэтиленгликоль 2000 и декстран 20000) в концентрации 20% добавляли в исследуемый раствор на этапах дегидратации, охлаждения либо на обоих этапах ГК.

Проведенные исследования показали, что полиэтиленгликоль (ПЭГ) снижает чувствительность эритроцитов человека к ГК как при медленном, так и при быстром охлаждении, причем его действие более выражено в условиях последнего. При медленном охлаждении присутствие ПЭГ на стадии дегидратации приводит практически к 100%-му лизису эритроцитов, однако с увеличением продолжительности инкубации наблюдается резкое снижение процента лизиса клеток. В случае быстрого охлаждения удаление ПЭГ перед второй стадией приводит к резкому возрастанию чувствительности клеток к ГК. При быстром охлаждении присутствие ПЭГ на второй стадии ГК проявляется в выраженном его криозащитном действии. Декстран снижает чувствительность эритроцитов человека к ГК и проявляет более эффективные защитные свойства при медленном охлаждении. При быстром охлаждении присутствие декстрана на первой стадии приводит к более резкому увеличению чувствительности эритроцитов к ГК, чем при медленном. На стадии охлаждения он вызывает снижение чувствительности эритроцитов к ГК по сравнению с его присутствием на обоих стадиях. Максимальное криозащитное действие данного криопротектора наблюдается при медленном охлаждении (не более 3 % лизиса).

Таким образом, защитное действие ПЭГ выявляется при быстром охлаждении, когда он присутствует на второй стадии ГК. Декстран проявляет криопротекторные свойства более эффективно в условиях медленного охлаждения, при этом максимальное криозащитное действие наблюдается в его присутствии на стадии охлаждения. Удаление ПЭГ перед охлаждением вызывает более значительное снижение чувствительности эритроцитов к ГК по сравнению с удалением декстрана, на основании этого можно предположить, что десорбция от мембраны ПЭГ вызывает большее повреждение, чем десорбция декстрана.

Hypertonic cryohemolysis (HC) is human erythrocytes damage, stipulated by cell exposure to either hypertonic solution of salts or non-electrolytes within the range from 45 to 20°C and following cooling down to the temperatures close to 0°C. Nowadays the factors, causing cell sensibilization to HC are determined, but the effect of cryoprotectants on the dynamics of this process development has not been studied yet.

Erythrocytes of A(II) human donor blood served as investigation object. HC was realised via transferring erythrocyte cell suspension aliquots from the samples, subjected to incubation at 37°C in 1.2M NaCl, 10mM tris buffer medium, pH 7.6 within 1-60 min (the first stage) into a 1 ml dehydration solution at 37 or 0°C for 10 min (the second stage). Cryoprotectants (polyethylene 2000 and dextran 20000) in 20% concentration were added into the studied solution at the stages of dehydration, cooling or at both HC stages.

The performed research demonstrated polyethylene glycol (PEG) as reducing human erythrocyte sensitivity to HC both under slow and rapid cooling, moreover under the latter its effect was more manifested. Under slow cooling down the PEG presence at dehydration stage results in almost 100% erythrocyte lysis, but with an increase in incubation duration a sharp decrease in percentage of cell lysis is noted. In case of rapid cooling the PEG removal before the second stage results in a sharp increase in cell sensitivity to HC. Under rapid cooling the PEG presence at the second HC stage manifests in expressed cryoprotective effect. Dextran reduces human erythrocyte sensitivity to HC and manifests more efficient protective properties under slow cooling. Under rapid cooling the dextran presence at the first stage results in sharper augmentation of erythrocyte sensitivity to HC than under slow one. At cooling stage it reduces erythrocyte sensitivity to HC in comparison with its presence at both stages. Maximum cryoprotective effect of this cryoprotectant is observed under slow cooling (not more than 3% lysis).

Thus, PEG cryoprotective effect is revealed under rapid cooling, when it is present at the second HC stage. Dextran cryoprotective properties are more efficient under slow cooling conditions, at the same time the maximum cryoprotective effect is observed at its presence at cooling stage. PEG removal prior to cooling reduces more significantly erythrocyte sensitivity to HC in comparison with dextran removal. Due to this, PEG desorption from a membrane may be assumed as causing higher damage than dextran one.