

Тези 42-ї щорічної конференції молодих учених «Холод у біології і медицині. Актуальні питання кріобіології, трансплантології і біотехнології», 23–24 травня 2018 р., м. Харків

Шевченко Н.О., Івченко Т.В., Мозговська Г.В., Мірошніченко Т.М., Баїтан Н.О. Збереженість меристем батату за різних режимів кріоконсервування.....	156
Жаркова Є.Є., Гулевський О.К. Дія низкомолекулярної фракції з кріогемолізованої кордової крові людини на відновлення морфологічних властивостей і метаболізм АТФ і 2,3-ДФГ еритроцитів донорської крові людини після гіпотермічного зберігання.....	157
Сазонова Т.М., Проценко О.С., Шаповал О.В. Засоби профілактики ускладнень у постраждалих від холодової травми.....	158
Коваль Г.К., Останков М.В., Бондарович М.О., Ямпольська К.Є., Останкова Л.В., Гольцев А.М. Вплив кріоконсервованої кордової крові на функціональний стан дендритних клітин шкіри щурів із атопічним дерматитом.....	159
Айдарова В.С. Вплив ритмічної краніоцеребральної гіпотермії на морфологічні та морфометричні характеристики тканини головного мозку щурів лінії SHR.....	160
Антоненко Є.О., Чиж М.О., Буряк М.М., Осипенко О.О. Розробка системи телеметрії для експериментальної кріомедицини.....	161
Буцький К.І., Пуговкін А.Ю. Особливості отримання сперми білого товстолобика (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> Val., 1844) для кріоконсервування при гормональній стимуляції.....	162
Мабана М.А., Скрипник Т.В., Чижевський В.В., Голояд М.О., Горобченко О.О. Діелектричні властивості кріозахисних середовищ на основі ДМСО і глюкози в присутності діоксиду церію.....	163
Петров І.В., Буряк І.А., Черкашина Я.О. Вплив структурних складових модифікованого гелевого носія на ферментативні властивості іммобілізованого промислового штаму <i>Lactococcus lactis</i> після низькотемпературного зберігання.....	164
Потапов В.О., Білий Д.В. Перспективи використання двоокису вуглецю в низькотемпературних установках для кріогенних технологій.....	165
Бачинський Р.О., Щолок Т.С., Молчанова Г.В. Вплив нітробензолу на морфометричні показники сім'яників щурів в умовах холодового стресу.....	166
Леонова О.Ю., Богданюк А.О. Кріоконсервування тканини гонад методом повільного заморожування перед протипухлинною терапією для збереження фертильності.....	167
Будерацька Н.О., Ільїн І.Є., Лавриненко С.В. Компетенція кріоконсервованих ооцитів після енуклеації ядра та трансферу першого полярного тіла в ооплазму.....	168
Варяниця В.В., Висеканцев І.П. Довгострокове зберігання фіксованих штамів вірусу сказу <i>L. Pasteur</i> і CVS при температурах –20 і –80°C із застосуванням захисних середовищ.....	169
Власов О.О., Ковальов Г.О., Мірошніченко М.С. Вплив водного колоїдного розчину фулерену C ₆₀ на епітелій після кріодеструкції шкіри.....	170
Гапон Г.О., Юрчук Т.О., Павлович Є.В., Піняєв В.І., Петрушко М.П. Життєздатність сперматозоїдів людини після кріоконсервування в середовищах без відмивання.....	171
Глоба В.Ю., Рудик Д.Ю., Алі С.Г., Божок Г.А., Легач Є.І. Скорочувальна активність детрузора щурів із інфравезикальною обструкцією після введення «Кортесину» і біологічно активних продуктів культури мантийних гліоцитів.....	172
Гречишнікова М.П., Голояд М.О., Ліпіна О.В., Фалько О.В., Чижевський В.В. Застосування розчинів нанорозмірних частинок діоксиду церію і ортованадату гадолінію для гіпотермічного зберігання культури клітин <i>Spirulina platensis</i>	173
Землянський А.О. Показники обміну ліпідів у сироватці крові тварин за деяких незаразних хвороб та після переохолодження.....	174

<i>Золотько К.М., Сукач О.М., Оченашко О.В.</i> Ефект застосування кріоконсервованих нейральних клітин плодів шурів на моделі інтрацеребрального крововиливу.....	175
<i>Літовченко О.Л.</i> Біологічні ефекти сполученої дії низьких температур та електромагнітного випромінювання.....	176
<i>Ліхницький О.О.</i> Ефективність комбінованого застосування кріоконсервованої тканини плаценти людини та цитрату кальцію на перебіг метаболічних процесів у кістковій тканині шурів за умов перелому нижньої щелепи на тлі остеопору.....	177
<i>Нарожний С.В.</i> Вплив низькотемпературного зберігання плаценти на антиоксидантну дію її екстрактів по відношенню до еритроцитів у стані окисного стресу, викликаного нітритом натрію.....	178
<i>Новікова О.Ю., Сидоренко О.С., Божок Г.А., Бондаренко Т.П.</i> Вивчення експресії хромограніна А в кріоконсервованій культурі клітин наднирників неонатальних поросят.....	179
<i>Наглов О.В., Товстуха І.А.</i> Ефективність кріогенної реабілітації військовослужбовців АТО шляхом загальної повітряної кріотерапії.....	180
<i>Онищенко О.І., Ткаченко А.С., Харченко Е.А., Склярук Д.О.</i> Вміст HSP70 у сироватці крові пацієнтів із хронічним поліпозним риносинуситом.....	181
<i>Ходько О.Т.</i> Поляризаційна мікроскопія як метод вивчення фазових перетворень у кріобіологічних системах.....	182
<i>Чабаненко О.О., Шпакова Н.М., Орлова Н.В.</i> Чутливість еритроцитів людини до постгіпертонічного шоку в присутності гліцерину.....	183
<i>Юрчук Т.О., Петрушко М.П., Піняєв В.І., Будерацька Н.О.</i> Вітрифікація ембріонів людини після маніпуляцій на zona pellucida.....	184
<i>Юхта М.С., Волкова Н.О., Гольцев А.М.</i> Кріоконсервування звитих каналців сім'яників статевонезрілих шурів із застосуванням низьких швидкостей охолодження.....	185
<i>Пацунова С., Галик Я., Павел Я., Заводська М., Бімбова К., Бачова М., Федорова Я., Стропковська А., Кисуцька А., Шулла І., Ледецький В., Лукакова Н.</i> Позитивний вплив гіпотермічної перфузії на моделі травматичного пошкодження спинного мозку свиней.....	186
<i>Шекіова Е., Словінська Л., Блашко Ю., Чижкова Д.</i> Середовище, кондиційоване мезенхімальними стовбуровими клітинами, як джерело нейропротекторних факторів.....	187
<i>Севастьянов С.С., Осецький О.І.</i> Особливості утворення і плавлення кластерної фази у висококонцентрованих кріопротекторних розчинах.....	188
<i>Улізко П.Ю., Боброва О.М., Водоп'янова Л.О.</i> Застосування флуоресцентних барвників для оцінки стану деконсервованих еритроцитів коня і бика.....	189
<i>Юрченко Л.І., Цихановська І.В., Приходько О.Ю.</i> Технологія низькотемпературної обробки м'ясних напівфабрикатів на основі яловичого фаршу, модифікованого біологічною домішкою «Магнетофуд».....	190

холод в биологии и медицине

актуальные вопросы криобиологии,
трансплантологии и биотехнологии

Тезисы 42-й ежегодной конференции молодых ученых «Холод в биологии и медицине. Актуальные вопросы криобиологии, трансплантологии и биотехнологии», 23–24 мая 2018 г., г. Харьков

<i>Шевченко Н.А., Ивченко Т.В., Мозговская Г.В., Мирошниченко Т.М., Баштан Н.А.</i> Сохранность меристем батата при разных режимах кріоконсервирования.....	156
<i>Жаркова Е.Е., Гулевский А.К.</i> Действие низкомолекулярной фракции кріогемолизированной кордовой крови человека на восстановление морфологических свойств и метаболизм АТФ и 2,3-ДФГ эритроцитов донорской крови человека после гипотермического хранения.....	157
<i>Сазонова Т.М., Проценко О.С., Шаповал О.В.</i> Средства профилактики осложнений у пострадавших от холодовой травмой.....	158
<i>Коваль А.К., Останков М.В., Бондарович Н.А., Ямпольская Е.Е., Останкова Л.В., Гольцев А.Н.</i> Влияние кріоконсервированной кордовой крови на функциональное состояние дендритных клеток кожи крыс с atopическим дерматитом.....	159

Изучение экспрессии хромогранина А в криоконсервированной культуре клеток надпочечников неонатальных поросята

О.Ю. Новикова, О.С. Сидоренко, Г.А. Божок, Т.П. Бондаренко

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Study of Chromogranin A Expression in Native and Cryopreserved Cell Culture of Adrenal Glands of Neonatal Piglets

O.Yu. Novikova, O.S. Sidorenko, G.A. Bozhok, T.P. Bondarenko

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

Хромогранин А (ХрА) относится к семейству кислых белков, которые составляют основной компонент секреторных гранул нейроэндокринных клеток. Изучение динамики экспрессии ХрА после криоконсервирования является актуальным, поскольку может выявить вероятные молекулярные перестройки клеток нейроэндокринной системы при действии холодовых факторов.

Цель работы – изучение экспрессии ХрА в первичной культуре надпочечников неонатальных поросят до и после криоконсервирования.

Опыты проводили на надпочечниках поросят возраста P_0-P_1 . Органы фрагментировали, при этом одну часть фрагментов криоконсервировали в криозащитной среде, содержащей 10% ДМСО и 90% DMEM/F12 со скоростью охлаждения 0,3 град/мин, вторую подвергали ферментативной обработке [О. Сидоренко и соавт., 2012] для получения первичной культуры клеток. Клетки культивировали на среде DMEM/F12 с 10% фетальной телячьей сыворотки и антибиотиками в течение 9 суток при 37°C, 5% CO₂. По этому же методу получали первичную культуру из криоконсервированных фрагментов. Для цитофлуориметрического (ЦФ) и иммуноцитохимического (ИЦХ) анализов клетки фиксировали каждые трое суток. Для этого отдельно собирали флотирующие и растущие в виде монослоя клетки, окрашивали первичными кроличьими антителами к ХрА («Abcam», Великобритания) в разведении 1:200 и вторичными антикроличьими Alexa488-конъюгированными антителами («Abcam») в разведении 1:400. Анализ проводили на цитофлуориметре FACSCalibur («BD Biosciences», США). Данные ЦФ-анализа сравнивали с результатами, полученными при ИЦХ-анализе, для которого окрашенные антителами по стандартной методике культуры подвергали микроскопическому исследованию.

В результате ЦФ-анализа установлено, что процентное содержание клеток, позитивно-меченных антителами к ХрА, не изменяется в процессе культивирования во флотирующей и прикрепленной фракциях интактной культуры, и в среднем составляет $(51,9 \pm 2,4)$ и $(75,9 \pm 11,5)\%$ соответственно. Сходная динамика была характерна для криоконсервированной культуры, в которой содержание ХрА-позитивных клеток составляло в среднем $(51,0 \pm 5,3)$ и $(67,5 \pm 6,5)\%$ соответственно. Визуальный анализ первичной культуры показал ее неоднородный состав: на монослое присутствовали прикрепленные мультиклеточные сфероиды. Результаты ИЦХ-анализа показали уменьшение содержания ХрА в монослое и повышение в составе МС в течение срока культивирования.

Таким образом, криоконсервирование не оказывает значительного влияния на относительное количество клеток надпочечников, экспрессирующих ХрА *in vitro*. Качественное перераспределение ХрА-экспрессирующих клеток указывает на важность сохранения специфического микроокружения в первичной культуре надпочечников.

Chromogranin A (ChrA) belongs to the family of acid proteins, which form the main component of the secretory granules of neuroendocrine cells. The study of the dynamics of ChrA expression after cryopreservation is relevant, because may indicate the probable molecular rearrangements of neuroendocrine system cells under the action of cold factors.

The aim of the work was to study ChrA expression in the primary adrenal culture of neonatal piglets prior to and after cryopreservation.

The experiments were carried out in the adrenal glands of piglets of P_0-P_1 age. The adrenal glands were fragmented, one part of the fragments were cryopreserved in the cryoprotective medium containing 10% DMSO and 90% DMEM/F12 at a cooling rate of 0.3 deg/min. The second part was subjected to enzymatic treatment by [Sidorenko O. *et al.*, 2012] to obtain of the primary cell culture. The cells were cultured with DMEM/F12 medium with 10% fetal bovine serum and antibiotics for 9 days at 37°C, 5% CO₂. By the same method, a primary culture was obtained from the cryopreserved fragments. The cells were fixed every 3 days for cytofluorimetric (CF) and immunocytochemical (ICC) analyzes. For this purpose, floating and adherent cells were separately collected. The cells were stained with primary rabbit antibodies to ChrA (Abcam, UK) at a dilution of 1:200 and secondary anti-rabbit Alexa488-conjugated antibodies (Abcam) at 1:400 dilution. Flow cytometry was performed with the FACSCalibur (BD Biosciences, USA). The data of CF-analysis were compared with the results of ICC-analysis, for which the cultures were stained with antibodies by the standard procedure and then microscopically examined.

As a result of the CF-analysis, it was established that the percentage of cells positively labeled with antibodies to ChrA did not change when culturing in floating and adherent fractions of the intact culture averaged (51.9 ± 2.4) and $(75.9 \pm 11.5)\%$, respectively. A similar dynamics was in cryopreserved culture, where the content of ChrA-positive cells were (51.0 ± 5.3) and $(67.5 \pm 6.5)\%$, respectively. Visual analysis of the primary culture showed its heterogeneous composition as the presence of attached multicellular spheroids (MS) on the cell monolayer. The results of the ICC-analysis showed a decrease of ChrA-positive cells in the monolayer and an increase of ChrA-positive cells in the MS during the culturing period.

Thus, cryopreservation does not significantly affect the relative quantity of adrenal gland cells expressing ChrA *in vitro*. The qualitative redistribution of ChrA-expressing cells points to the importance of maintaining a specific microenvironment in the primary adrenal cell culture.

