

Тезисы конференции молодых ученых “Холод в биологии и медицине – 2010” 27–28 мая 2010, г. Харьков

Артуянц А.Ю. Криоконсервирование дрожжеподобных грибов <i>Candida albicans</i> в условиях воздействия полиенового антимикотика нистатина на цитоплазматическую мембрану.....	174
Сосимчик И.А., Черкашина Д.В. Митохондриально адресованный антиоксидант SkQ ₁ снижает повреждение печени крыс при гипотермическом хранении.....	175
Венцовская Е.А. Влияние различных видов ритмических холодовых воздействий на цикл сон-бодрствование крыс.....	176
Кучков В.Н. Разработка криоскопического осмометра для криобиологических исследований.....	177
Аверченко Е.А., Кавок Н.С., Боровой И.А., Погребняк Н.Л. Влияние экзогенного криопротектора на функциональное состояние митохондрий изолированных гепатоцитов и клеток костного мозга крысы при оценке флуоресцентным методом.....	178
Есипова Ю.С., Компаниец А.М., Николенко А.В. Криоконсервирование эритроцитов человека в криозащитных средах, содержащих комбинации криопротекторов.....	179
Малюкина М.Ю., Кавок Н.С., Боровой И.А. Криовлияние экзогенного криопротектора на динамику гормон-стимулированных изменений трансмембранного потенциала изолированных гепатоцитов крыс при оценке флуоресцентным методом.....	180
Юрчук Т.А., Божок Г.А., Коваленко И.Ф., Бондаренко Т.П. Влияние гипертонии на объемные изменения и пространственное расположение липидных капель адренокортикоцитов.....	181
Розанова С.Л. Влияние замораживания-оттаивания тканей плаценты на восстановительную активность их экстрактов...	182
Чернобай Н.А. Зависимость проницаемости мембран клеток надпочечников для молекул ряда криопротекторов от температуры.....	183
Вязовская О.В., Николенко А.В. Оценка криозащитных свойств непроницающего криопротектора оксипропилированного метилцеллолозы при замораживании эритроцитов донорской крови человека.....	184
Ляшенко Т.Д. Влияние криоконсервирования на способность нервных клеток новорожденных крыс пролиферировать и дифференцироваться.....	185
Маркова К.В., Рамазанов В.В. Антигемолитический эффект хлорпромазина при модификации цитоскелет-мембранного комплекса эритроцитов человека в условиях холодового шока.....	186
Мартынюк И.Н., Гавилей О.В. Влияние амидов и диолов на интенсивность перекисного окисления липидов спермы птиц при гипотермии.....	187
Петренко Ю.А. Мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани взрослого человека: дифференцировочные свойства и потенциал для низкотемпературного консервирования.....	188
Бондаренко О.В. Изучение клеточных механизмов холодовой адаптации млекопитающих.....	189
Говорова Ю.С., Зинченко А.В. Дифференциальная адиабатическая сканирующая калориметрия как метод изучения конформационной стабильности белков в криобиологии.....	190
Димитров А.Ю., Бондарович Н.А., Сафранчук О.В., Челомбитко О.В., Останков М.В., Гольцев А.Н. Влияние криоконсервирования на структурно-функциональные характеристики клеток фетальной печени поздних сроков гестации ..	191
Зайков В.С., Труфанова Н.А., Правдюк А.И., Петренко Ю.А. Витрификация мезенхимальных стромальных клеток в составе альгинатных микросфер.....	192
Дудецкая Г.В., Божок Г.А., Гурина Т.М., Бондаренко Т.П. Влияние факторов криоконсервирования на сохранность клеток надпочечников крыс.....	193
Поверенная Ю.А., Петренко Ю.А. Методы оценки адипогенной и остеогенной дифференцировки криоконсервированных мезенхимальных стромальных клеток.....	194
Robilotto A.T., J.M. Baust, R.G. Van Buskirk, Gage A.A., Baust J.G. Оценка клеточной смерти и выживаемости при криогенном воздействии на тканеинженерной модели рака простаты человека.....	195
Baust J. M., Klossner D. P., Van Buskirk R. G. Gage, A. A., Mouraviev V., Polascik T.J., Baust J.G. Целенаправленное изменение экспрессии интегринов увеличивает холодовую чувствительность андроген-независимого рака простаты.....	196
Snyder K.K., Baust J.M., Van Buskirk R.G., Baust J.G. Реакция неонатальных вентрикулярных кардиомиоцитов крысы на кратковременные температурные воздействия.....	197

<i>Corwin W.L., Baust J.M., Van Buskirk R.G., Baust J.G.</i> Исследование <i>in vitro</i> апоптоза и некроза при холодовом хранении на модели клеток дыхательных путей человека.....	198
<i>Порожан Е.А., Останков М.В., Гольцев А.Н.</i> Влияние криоконсервированных фетальных нервных клеток на фенотипические характеристики Т-клеток тимуса животных с экспериментальным аллергическим энцефаломиелитом.....	199
<i>Тищенко Ю.О., Киروشка В.В., Бондаренко Т.П.</i> Стадия гистогенеза овариальной ткани как фактор, определяющий ее морфофункциональное развитие после трансплантации.....	200
<i>Чиж Н.А., Слепа И.В., Гальченко С.Е., Шило А.В., Сандомирский Б.П.</i> Моделирование некроза миокарда у крыс.....	201
<i>Носенко Л.А., Сироус М.А., Останков М.В., Рассоха И.В., Гольцев А.Н.</i> Влияние криоконсервированных клеток фетальной печени на иммуноморфологические особенности кожи при atopическом дерматите.....	202
<i>Трифонов В.Ю., Прокопюк В.Ю., Фалько О.В.</i> Криоконсервированный препарат сыворотки кордовой крови в профилактике акушерского антифосфолипидного синдрома.....	203
<i>Кузнецова В.Г., Жегунов Г.Ф.</i> Влияние экстрактов из эмбрионов кур на иммунную систему и сердце крыс.....	204
<i>Кравченко М.А., Сироус М.А., Осецкий А.И., Гольцев А.Н.</i> Оценка иммуномодулирующей активности липидного криоэкстракта плаценты.....	205
<i>Иванов Е.Г., Гулевский А.К.</i> Влияние низкомолекулярной фракции (до 5 кДа) кордовой крови на морфологические изменения в хряще коленного сустава при механической травме.....	206
<i>Бондарович Н.А., Сафранчук О.В., Останков М.В., Гольцев А.Н.</i> Влияние криоконсервированных клеток фетальной печени на состояние иммунной системы у мышей линии СЗН до клинического проявления рака молочной железы.....	207
<i>Бызов Д.В., Сандомирский Б.П.</i> Применение замораживания и гамма-облучения для создания сосудистых ксеноскаффолдов.....	208
<i>Сидоренко О.С., Холодный В.С., Гурина Т.М., Легач Е.И., Божок Г.А.</i> Морфологические особенности первичной культуры клеток надпочечников, полученной из нативных и криоконсервированных фрагментов ткани.....	209
<i>Правдюк А.И.</i> Сохранение дифференцировочного потенциала мезенхимальных стромальных клеток в составе альгинатных микросфер после криоконсервирования.....	210
<i>Гулевский А.К., Горина О.Л., Моисеева Н.Н.</i> Изучение влияния низкомолекулярной фракции кордовой крови (до 5 кДа) на фагоцитарную и метаболическую активность деконсервированных нейтрофилов.....	211
<i>Лебеда Е.А., Петренко Ю.А.</i> Разработка перфузионной термостатируемой системы для культивирования стромальных клеток в составе трехмерных пористых носителей.....	212
<i>Шевченко М.В.</i> Особенности влияния экстрактов печени и нервной ткани новорожденных крыс на культивирование постнатальных нервных клеток.....	213
<i>Муценко В.В., Петренко Ю.А.</i> Окрашивание фибробластов кожи взрослого человека карбоцианиновыми красителями DiI и DiO.....	214
<i>Бабинцев О.М., Гурина Т.М., Кирилюк А.Л.</i> Вопросы криоконсервирования пробиотика <i>Saccharomyces boulardii</i>	215
<i>Прокопюк В.Ю., Прокопюк О.С., Фалько О.В., Чижевский В.В., Волина В.В.</i> Экспериментальное обоснование эффективности мультифакторных программ криоконсервирования плацентарной ткани.....	216
<i>Сироус М.А., Гольцев А.Н., Рассоха И.В., Гольцев К.А.</i> Применение криоконсервированных клеток фетальной печени для лечения аутоиммунной гемолитической анемии.....	217
<i>Ябланович И.Г., Жегунов Г.Ф.</i> Влияние кардиотропных препаратов на электрофизиологические параметры сердца крыс при гипотермии.....	218
<i>Гольцев К.А., Кожина О.Ю., Сафранчук О.В., Грищенко В.И., Криворучко И.А.</i> Экспериментальное обоснование применения кордовой крови для лечения послеоперационных осложнений.....	219
<i>Лебединец Д.В., Сироус М.А., Останков М.В., Рассоха И.В., Гольцев А.Н.</i> Влияние криоконсервированных фетальных нервных клеток на маркеры иммунного воспаления ткани головного мозга при развитии ишемического инсульта.....	220

Морфологические особенности первичной культуры клеток надпочечников, полученной из нативных и криоконсервированных фрагментов ткани

О.С. СИДОРЕНКО, В.С. ХОЛОДНЫЙ, Т.М. ГУРИНА, Е.И. ЛЕГАЧ, Г.А. БОЖОК
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Morphological Peculiarities of Primary Culture of Adrenal Cells, Obtained From Native and Cryopreserved Tissue Fragments

O.S. SIDORENKO, V.S. KHOLODNYI, T.M. GURINA, YE.I. LEGACH, G.A. BOZHOK
Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

Первичная культура клеток (ПКК) эндокринных органов широко используется в качестве объекта биомедицинских исследований. Для ее длительного хранения применяется криоконсервирование, перед которым нативная ткань подвергается механическому измельчению на фрагменты, ферментативной обработке, полученные клетки культивируются.

Цель работы – получить ПКК из нативных и криоконсервированных фрагментов ткани надпочечников новорожденных поросят и изучить ее морфологические особенности.

Клетки, полученные из нативных надпочечных желез ферментативным методом, культивировали в среде 199 с 10 и 2% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС). Фрагменты надпочечников криоконсервировали под защитой 10% ДМСО с высокой ($>100^{\circ}\text{C}/\text{мин}$) и низкой ($5^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ до -70°C) скоростями охлаждения с последующим погружением в жидкий азот.

После 1-х суток культивирования клетки, полученные из нативных надпочечных желез, прикреплялись к поверхности и распластывались. К 3–4-м суткам образовывался монослой, состоящий из крупных фибробластоподобных и веретенообразных клеток и достигающий 80% конфлюентности. При замене на 3-и сутки питательной среды на аналогичную, но содержащую 2% ЭТС, к 6–7-м суткам культивирования в ПКК наблюдались разрежение монослоя и формирование сфероподобных структур, прикрепленных к монослою. При переносе сфероподобных структур в среду культивирования, содержащую 10% ЭТС, отмечалось их прикрепление к поверхности и выделение из них нейроноподобных клеток в последующие 2–3-и сутки.

При культивировании клеток, полученных из криоконсервированных фрагментов надпочечных желез (замороженных с высокой и низкой скоростями охлаждения), к 3-м суткам были обнаружены одиночные живые клетки, плавающие в среде, а также прикрепившиеся, но не распластанные. В таких культурах не происходили пролиферация клеток и формирование монослоя.

Таким образом, ПКК надпочечников новорожденных поросят в виде монослоя может быть получена из нативных фрагментов ткани. После криоконсервирования фрагментов как с высокой, так и с низкой скоростями охлаждения не наблюдается формирование монослоя. Возможно, это является следствием совместного действия криоповреждающих факторов и ферментативной обработки. Кроме того, при снижении концентрации ЭТС в среде культивирования в ПКК надпочечников новорожденных поросят, полученной из нативных фрагментов, формируются сферические колонии клеток, из которых в дальнейшем выселяются клетки, морфологически отличающиеся от клеток первичного монослоя.

Primary cell culture (PCC) of endocrine organs is widely used as the object of biomedical researches. For its long-term storage the cryopreservation is used, prior to which native tissue is subjected to mechanical fragmentation, enzymatic processing, and culturing of obtained cells.

The research aim was to obtain PCC from native and cryopreserved fragments of newborn pig adrenal tissues and study their morphological peculiarities.

The cells obtained from native adrenal glands by means of enzymatic method were cultured in medium 199 with 10 and 2% fetal calf serum (FCS). Adrenal fragments were cryopreserved under 10% DMSO protection with high ($>100^{\circ}\text{C}/\text{min}$) and low ($5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ down to -70°C) cooling rates with following plunging into liquid nitrogen.

After first 24 hrs of culturing the cells obtained from native adrenal glands adhered to the surface and flattened. To the 3rd–4th days the monolayer, consisting of large fibroblast-like and spindle-like cells and achieving 80% confluence, was formed. After changing the nutrient medium at the 3rd day to similar one, but containing 2% FCS in PCC we found monolayer loosening and formation of sphere-like structures adhered to monolayer to the 6–7th culturing days. After transfer of sphere-like structures into culturing medium, containing 10% FCS we observed their adherence to a surface and release of neurone-like cells within the following 2–3 days.

During culturing the cells obtained from cryopreserved adrenal fragments (frozen both with high and low cooling rates) to the 3rd day we found single living cells, floating in the medium, as well as adhered ones, but not flattened. In these cultures no proliferation and formation of monolayer took place.

Thus, the PCC of newborn pig adrenal glands as the monolayer may be obtained from native tissue fragments. After cryopreservation of the fragments with both high and low cooling rates no formation of monolayer was observed. Probably it was the consequence of combined action of cryodamage factors and enzymatic processing. In addition, when lowering the concentration of FCS in culturing medium, the newborn pig adrenal PCC obtained from native fragments gave the formation of spheric cell colonies, and following release of the cells morphologically different from primary monolayer cells.