

Цель работы – сравнительное изучение влияния экстрактов из нативной и подвергшейся замораживанию-оттаиванию ткани плаценты человека на уровень гемолиза и кинетику кислотного гемолиза эритроцитов донорской крови.

Экстракты получали из свежей и замороженной со скоростью 0,3°C/мин до –20°C плаценты, затем их добавляли к отмытым физиологическим раствором эритроцитам в различной концентрации. Методом спектрофотометрии изучали уровень гемолиза и кинетику кислотного гемолиза эритроцитов после различных сроков экспозиции суспензий в растворах, содержащих экстракты.

Установлено, что уровень гемолиза в суспензии эритроцитов зависит от состояния ткани исходной плаценты и может достигать 50%, причем увеличение сроков экспозиции (больше чем 10 мин) практически не влияет на этот показатель. Уровень гемолиза после экспозиции в присутствии экстрактов, полученных из замороженной ткани плаценты, значительно ниже. Автоклавирование экстракта также позволяет снизить его гемолитическое действие. Учитывая тот факт, что уровень продуктов перекисного окисления и pH экстрактов, полученных из нативных, замороженных тканей, а также автоклавированных экстрактов, одинаков, можно предположить, что гемолитическое действие экстрактов обусловлено веществами белковой природы. Установлено, что экстракты, проявляющие гемолитическое действие, влияют и на кинетику кислотного гемолиза эритроцитов, приводя к более быстрому разрушению клеток под действием кислых pH. У экстрактов из замороженных тканей этот эффект менее выражен. Экстракты, полученные из тканей с низкой гемолитической активностью, напротив, оказывают стабилизирующее действие на мембраны эритроцитов, замедляя их гемолиз в кислой среде. Таким образом, можно предположить, что предварительная низкотемпературная обработка ткани плаценты приводит к деструкции веществ белковой природы, вызывающих нежелательный эффект гемолиза.

tissue from human placenta on the level of hemolysis and kinetics of acid hemolysis of donor blood erythrocytes.

Extracts were derived from fresh and frozen placenta with the rate of 0.3°C/min down to –20°C, afterwards they were added to washed-out with physiological solution erythrocytes under various concentrations. With spectrophotometry method the hemolysis level was studied after different exposure terms in the suspensions, containing extracts and kinetics of acid hemolysis of erythrocytes.

It has been found that hemolysis level in erythrocyte suspension depends on tissue state of initial placenta and may reach 50%, moreover the value of exposure higher than 10 min does not practically affect this index. Hemolysis level after exposure in the presence of extracts derived from frozen placenta tissue is significantly lower. Extract autoclaving also enables to reduce its hemolytic effect. Taking into account the fact that the level of lipid peroxidation products and pH extracts derived from native, frozen tissues as well as autoclaved extracts is similar, one may suppose that hemolytic effect of extracts is stipulated by substances of protein origin. It has been established that extracts manifesting hemolytic effect affect also kinetics of acid hemolysis of erythrocytes, resulting in more rapid destruction of erythrocytes under the effect of acid pH. In extracts from frozen tissues this effect is less manifested. Extracts derived from tissues with low hemolytic activity in contrast render stabilizing effect on erythrocyte membranes, by slowing down their hemolysis in acid medium. Thus it could be supposed that preliminary low temperature treatment of placenta tissue results in a destruction of substances of protein origin, causing unfavorable effect of hemolysis.

Влияние колебаний температуры хранения в диапазоне –196÷–100°C на жизнеспособность клеток с различной структурной организацией

А.Л. Кирилюк, Л.Г.Абрафикова, С.В.Казанжан

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Effect of Storage Temperature Fluctuation within Range of –196÷–100°C on Viability of Cells with Various Structural Organizations

A.L. KIRILYUK, L.G. ABRAFIKOVA, S.V. KAZANZHAN

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

В современной биологии и медицине одно из актуальных направлений научных исследований – изучение механизмов криповреждения, криозащиты и разработка надежных способов долгосрочного хранения биообъектов при низких температурах. Эти исследования дают возможность усовершенствовать технологии криоконсервирования биологических объектов, используемых в различных областях медицины, биологии, сельского хозяйства, биотехнологических производствах.

In contemporary biology and medicine actual research trends are studying the mechanisms of cryoinjury, cryoprotection and designing the reliable ways of long-term storage of biological objects at low temperatures. These investigations enable the improving of cryopreservation technique for biological objects used in different fields of medicine, biology, agriculture, biotechnological industries. However the issue of possible damage of biological objects during storage at low temperatures is poorly investigated.

Однако вопрос о возможности повреждений биологических объектов во время хранения при низких температурах изучен недостаточно. Принято считать, что в биологических объектах, которые хранятся при постоянной температуре в жидком азоте, дополнительные повреждения не возникают. При эксплуатации низкотемпературных банков уровень жидкого азота в хранилищах изменяется, что приводит к колебаниям температуры хранения объектов и возможности развития дополнительных повреждений клеток. Поэтому цель работы – изучение влияния колебаний температуры хранения при $-196\div-100^{\circ}\text{C}$ на жизнеспособность бактерий *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* B, дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, клеток карциномы Герена крыс. Образцы, помещенные на длительный срок хранения в низкотемпературные хранилища, подвергали циклическому колебанию температуры. Во время одного цикла образцы находились 16 ч в жидком азоте и 8 ч – в парах жидкого азота при температурах $-150, -130, -100^{\circ}\text{C}$. Контроль жизнеспособности клеток определяли после 5 и 10-ти циклов.

Экспериментальные исследования показали, что однократный отогрев от -196 до $-150, -130, -100^{\circ}\text{C}$ и дальнейшее хранение при конечных температурах не приводят к дополнительной гибели бактерий, дрожжей, перевиваемых клеток, эмбриональных клеток печени и нейроткани эмбриона человека. Циклическое изменение температуры от -196 до -150°C и хранение при конечной температуре -150°C после 5 и 10-ти циклов также не вызывают дополнительную гибель клеток. Неоднократное колебание температуры хранения образцов в диапазонах $-196\div-130^{\circ}\text{C}$, $-196\div-100^{\circ}\text{C}$ и их выдерживание в течение 8 ч при конечных температурах -130 и -100°C приводят к дополнительной гибели криоконсервированных клеток. Количество погибших клеток увеличивается как при повышении конечной температуры выдерживания, так и увеличении количества циклов колебания температуры. Рассмотрены возможные механизмы повреждения клеток при циклическом изменении температуры хранения.

Установлено, что на чувствительность клеток к колебаниям температуры хранения влияют исходные морфофункциональные свойства, а также состав среды криоконсервирования.

It is a common notion that in biological objects, stored at constant temperature in liquid nitrogen, no additional damages appear. When low temperature banks are under exploitation the levels of liquid nitrogen in storehouses varies that results in fluctuations of storage temperature of objects and probable development of additional cell damage. Therefore the research aim was to study the effect of variations of storage temperature within the range of $-196\div-100^{\circ}\text{C}$ on the viability of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* B, *Saccharomyces cerevisiae* yeast, cells of rats' Guerin carcinoma. The samples placed for a long storage term into low temperature storehouses were subjected to cyclic temperature variation. During a cycle the samples were maintained for 16 hrs in liquid nitrogen and 8 hrs in its vapors at $-150, -130, -100^{\circ}\text{C}$. The control of viable cells was determined after 5 and 10 cycles.

Experiments showed that a single thawing from -196 to $-159, -130, -100^{\circ}\text{C}$ and further storage at final temperatures did not lead to an extra-death of bacteria, yeast, rats' Guerin carcinoma cells. Cyclic change in temperature from -196 to -150°C and storage at final temperature -150°C after 5 and 10 cycles also did not cause an additional death of cells. Not single fluctuations of storage temperature of samples within the range of -196 to -100°C may result in an additional death of cryopreserved cells. The number of dead cells enhances both with a rise in a final exposure temperature and increase in the number of temperature fluctuation cycles. There are considered different mechanisms of cell damage at cyclic change in storage temperature.

Cell sensitivity to fluctuation of storage temperature has been established to be affected by initial morphofunctional properties as well as the composition of cryopreservation medium.

Исследование влияния глицерина, 1,2-пропандиола и ДМСО на термоденатурацию микросомальных белков методом дифференциальной сканирующей калориметрии

Е.В. Онищенко, А.В. Зинченко

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Study of Glycerol, 1,2-Propanediol and DMSO Influence to Thermal Denaturation of Microsomal Proteins by Differentiating Scanning Calorimetry Method

E.V. ONISCHENKO, A.V. ZINCHENKO

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

Метод дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) является одним из прямых методов изучения процесса денатурации белков. ДСК может быть использован для исследования эндотермических пере-

Method of differentiating of scanning calorimetry (DSC) is one of direct methods of studying denaturation proteins which may be used for research of endothermal transition of such difficult structures as isolated organelles,