

активностью в ней, возрастание концентрации ЦИК в сыворотке крови и двукратное увеличение  $Ia^+$ -клеток в ПП. Применение в качестве терапевтического препарата как нативных, так и криоконсервированных КЭП способствовало снижению практически до уровня контроля процента адгезивных клеток в ПП, концентрации ЦИК в сыворотке крови и нормализации уровня экспрессии  $Ia^+$ -клеток в период как острого, так и хронического развития иммуновоспалительного процесса. Кроме того, было установлено, что КЭП могут реализовывать свой терапевтический эффект через включение механизмов коррекции апоптотических процессов в клетках МФС при АА, что выражалось в повышении содержания в них Хехст<sup>+</sup>-клеток. Отмечен позитивный эффект использования криоконсервированных КЭП, который проявлялся в усилении апоптотических процессов в организме животных после их введения.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о разбалансировке структурно-функционального состояния субстратов МФС при развитии АА и о корригирующем воздействии на них как нативных, так и криоконсервированных КЭП.

mechanisms of correction of apoptotic processes in cells of MPhS at AA, that was manifested in a rise in the content of Hoechst cells in them. There was found positive effect of using ELCs which was manifested in strengthening of apoptotic processes in an organism of animals after their injection.

Thus the obtained data testify to a misbalance of structural and functional state of MPhS substrates at AA development and to correcting effect on them both of native and cryopreserved ELCs.

## **Механизмы образования АТФ при краткосрочном гипотермическом хранении печени крыс, подвергшихся предобработке**

Е.Н. ТКАЧЁВА, А.Ю. ПЕТРЕНКО

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков*

## **Mechanisms of ATP Generation during Short-Term Liver Hypothermic Storage after Rat Preconditioning**

E.N. TKACHYOVA, A.YU. PETRENKO

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

Сохранение уровня АТФ в ходе гипотермического хранения – общепризнанный показатель функциональной полноценности органа и его пригодности для трансплантации.

Ранее в нашей лаборатории было показано, что после предобработки животных эмбриоспецифическими факторами (ЭСФ) содержание АТФ в печени после часа гипотермического хранения органа достоверно повышается. Однако механизмы, лежащие в основе данного эффекта, к настоящему времени не изучены.

Цель данной работы – исследование влияния предварительной обработки животных эмбриоспецифическими факторами на возможные пути генерации АТФ при краткосрочном гипотермическом хранении печени крыс.

Для моделирования гипотермического хранения использовали белых беспородных крыс-самок массой 200-250 г, которые были разделены на 2 группы – контрольную и опытную. Опытной группе за 4 ч до изоляции печени вводили в бедренную вену 0,3 мл/100 г массы “Фетотек” (цитозоль эмбриональных тканей человека), контрольной – равный объем физиологического раствора. Печень извлекали, отмывали от крови, помещали в сахарозосодержащий раствор, разработанный в ИПКиК, и хранили на протяжении 1 ч в бытовом холодильнике при температуре 4°C. Затем печень гомогенизировали и выделяли митохондрии

ATP level maintenance during hypothermic storage is generally recognized index of organ functional activity and its convenience for transplantation.

Previously in our research there was shown that after animal preconditioning with embryospecific factors (ESFs) the ATP content in liver after 1 h organ hypothermic storage was significantly increased. However, the mechanisms underlying the given effect to the present time remain unclear.

The purpose of this study was to investigate the influence of animal preconditioning with ESF on the possible way of ATP generation during short-term hypothermic storage of isolated rat liver.

To model hypothermic storage we used 200-250 g white outbred female rats which were divided into two groups: control and experiment. Experimental group 4 hours prior to liver isolation there was injected 0.3 ml of ‘Fetotek’ (human embryonic tissue cytosol) per 100 g into rat femoral vein. Control group received an equal volume of physiological solution; liver was washed-out of blood and saturated *per v. porta* with sucrose-based solution (SBS), developed at the Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the National Academy of Sciences of the Ukraine and stored for 1 hr in a domestic freezer at 4°C. Afterwards liver was homogenized and isolated mitochondria were obtained using differential centrifugation. Respiratory and oxidative phosphorylation parameters of isolated mitochondria were

методом дифференциального центрифугирования. Показатели дыхания и окислительного фосфорилирования изолированных митохондрий определяли полярографическим методом с использованием субстратов: малат (5 мМ) + глутамат (5 мМ) или сукцинат (8 мМ). В гомогенатах и постмитохондриальных фракциях печени оценивали активность окислительно-восстановительных ферментов по восстановлению Alamar Blue (AB).

Установлено, что после гипотермического хранения печени в опытной группе скорость сукцинат-зависимого дыхания в состоянии  $V_3$  и  $V_4$  по Чансу достоверно увеличивалась. В присутствии малата и глутамата данные показатели не отличались от контрольных значений. Нами показано, что накопление восстановленной формы Alamar Blue пропорционально активности окислительно-восстановительных ферментов. При раздельном определении флюоресценции АВ в гомогенатах и постмитохондриальных фракциях печени установлено, что около 90% интенсивности флюоресценции АВ связано с работой митохондрий. Не митохондриальная составляющая восстановленного АВ принадлежит в основном гликолитической оксидоредукции, так как в постмитохондриальной фракции ингибитор гликолиза моноидоацетат ингибировал флюоресценцию АВ в контрольной группе животных на 94%. В то же время после предобработки крыс ЭСФ вклад негликолитического пути восстановления АВ увеличивался в 5 раз.

Обсуждаются возможные механизмы образования АТФ в условиях гипотермии под действием предобработки. Приведенные результаты свидетельствуют о том, что введение животным ЭСФ может существенно повысить устойчивость клеток к гипоксии за счёт активации работы дыхательной цепи и других ферментов, прямо или косвенно участвующих в образовании АТФ в клетке. Однако для более детального изучения механизмов действия ЭСФ на процессы генерации энергии в гипотермических условиях необходимы дальнейшие исследования.

determined by polarographic method using malate (5mM) + glutamate (5mM) or succinate (8 mM) as substrates. Activity of oxidation-reduction enzymes was evaluated by the reduction of Alamar Blue (AB) in liver homogenates and postmitochondrial fractions.

It was found that succinate-dependent rate of respiration in  $V_3$  and  $V_4$  state according to Chance increased significantly in experimental group after rat liver hypothermic storage. In presence of malate and glutamate these data did not differ from the control. It was shown that accumulation of AB reduction form was proportional to the redox enzymes activity. Separate determination of AB fluorescence in liver homogenates and post-mitochondrial fractions shown that about 90% AB fluorescence strength related with mitochondrial function. Non-mitochondrial component of recovered AB generally belongs to glycolysis oxireduction, since in post-mitochondrial fraction an inhibitor of inhibitor of glycolysis, monoiodoacetate, inhibited AB fluorescence in animals' control group by 94%. At the same time contribution of non-glycolytic way of AB reduction in 5 times increased after rat preconditioning with ESF.

Possible ways of ATP generation under liver hypothermic storage after preconditioning are discussed. The obtained results testify to the fact that injection of ESFs to the animals can essentially improve stability of cells to ischemia due to the activation of mitochondrial respiratory chain and other enzymes, directly or indirectly participating in ATP generation in cells. However, for more detailed comprehension of mechanisms of ESFs influence on processes of energy generation under hypothermic conditions the further researches are required.

## Калориметрические исследования водных растворов оксиэтилированных производных глицерина со степенью полимеризации 5 и 25

Е.Н. Животова, А.В. Зинченко, В.В. Чеканова, А.М. Компаниец

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков*

## Calorimetric Investigations of Aqueous Solutions of Glycerol Oxyethylated Derivatives with Polymerization Degrees of 5 and 25

E.N. ZHIVOTOVA, A.V. ZINCHENKO, V.V. CHEKANOVA, A.M. COMPANIETS

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

Количество криопротекторов, применяемых для криоконсервирования различных биологических объектов, увеличивается не только за счет синтеза принципиально новых, но и химической модификации тех, которые зарекомендовали себя как эффективные криопротекторы. Одним из способов такой модуляции является оксиэтилирование, т.е. добавление полимерной цепочки  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ . Оксиэтилированные производные глицерина, синтезированные в отделе криопротекторов

Increase in variety of cryoprotectants used for cryopreservation of various biological objects occurs not only due to synthesis of principally new cryoprotectants but also due to chemical modification of those already recommended themselves as effective ones. One of the ways of such modification is oxyethylation, i.e. addition of  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$  polymeric chain. Glycerol oxyethylated derivatives synthesized at Cryoprotectants' Department of Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of