

надпочечниковой недостаточности в результате функционирования трансплантата.

Таким образом, состояние КОКННП перед трансплантацией играет важную роль в функционировании ксенотрансплантата, что отражается на уровне 11-ОКС в плазме крови экспериментальных животных и на содержании глюкокортикоидов в надпочечниках ЛО крыс с КТ.

Литература

1. Бондаренко Т.П., Геращенко А.В., Божок Г.А., Алабедаль-карим Н.М. Оптимизация условий экстрагирования и развития флуоресценции при определении глюкокортикоидов в биологических жидкостях // Лаб. диагностика. – 2001. – №3. – С. 36-39.
2. Заготівля, кріоконсервування та клінічне застосування органної культури наднирників новонароджених поросят в лікуванні недостатності наднирників: Метод. рекомендації / Укл. Грищенко В.І., Бондаренко Т.П., Божок Г.А. та ін. – Харків, 2000. – 14 с.
3. Комиссаренко В.П., Онищенко Д.С., Турчин И.С. Цитологические и функциональные измерения в клеточной культуре надпочечников собак под влиянием АКТГ // Пробл. эндокринологии. – 1974. – №3. – С. 77-81.
4. Січінава Р.М. Гормональний статус в крові хворих з постадреналектомічним гіпокортицизмом після трансплантації органної культури надниркових залоз новонароджених поросят // Трансплантологія. – 2000. – Т.1, №1. – С. 153-156.
5. Турчин И.С. Проблема трансплантації культур клітин і тканин залоз внутрішньої секреції хворим з різними формами ендокринопатії // Ендокринологія. – 1996. – Т.1, №2. – С. 6-13.
6. Пат. 34848 А України МПК С12 №5/02. Спосіб кріоконсервування клітин адренокортикальної тканини / Т.П.Бондаренко, Є.І.Легач. Заявл. 13.07.99. Публ. 15.03.01 // Бюл. №2.ІІ ч. – С.173.
7. Kowal J., Feidler R. Adrenal cells in tissue culture. I Assay of steroid products // Arch. Biochem. Biophys. – 1968. – V.128. – P.406-421.

Поступило 2.04.2002

УДК 615.361.014.41.631:57.086.13

UDC 615.361.014.41.631:57.086.13

Функциональные характеристики органной культуры семенников при кріоконсервировании

АБУ ЖАЯБ САЛЕХ, Т.П. БОНДАРЕНКО

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Functional Characteristics of Testes Organ Culture Under Cryopreservation

ABUJAYYAB SALEH, BONDARENKO T.P.

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

В настоящее время бесплодность диагностируется у 15-20 % семейных пар, причем по вине мужчин почти в 50 % случаев [2]. Для коррекции эндокринного статуса широко применяется ксенотрансплантация органных культур соответствующих эндокринных тканей, в том числе и семенников новорожденных поросят [3]. Использование нативных органных культур ограничено, а более широкое внедрение в практику данного способа коррекции эндокринного статуса организма возможно лишь на основе создания низкотемпературных запасов органных культур. Результаты, полученные при исследовании секреторной способности органных культур надпочечников, хранившихся 1 год при -196 °С, а также наши исследования органных культур

References

1. Bondarenko T. P., Geraschenko A. V., Bozhok G. A., Alabedalkarim N. M. Optimisation of conditions of extracting and fluorescence development when determining the glucocorticoids biological fluids // Lab. Diagnostika. – 2001. – N3. – P. 36–39.
2. Collection, cryopreservation and clinical application of newborn piglets adrenal glands organ culture in treatment of adrenal gland insufficiency: Methodical recommendations. Ed. by Gryschenko V. I., Bondarenko T. P., Bozhok G. A., et al. – Kharkov, 2000. – 14 p.
3. Komissarenko V. P., Onischenko D. S., Turchin I. S. Cytological and functional measurements in cell culture of dog adrenal glands with influence of adrenocorticotrophic hormone // Probl. endokrinologii. – 1974. – N 3. – P. 77-81.
4. Sichinava R. M. Hormonal status in blood of patients with postadrenalectomical hypocorticism after transplantation of newborn piglets adrenal glands organ culture // Transplantologiya. – 2000. – V.1, N1. – P. 153-156.
5. Turchin I. S. Problem of transplantation of endocrine glands cells and tissue cultures to patients with various endocrinopathy forms // Endokrinologiya. – 1996. – V. 1, N 2. – P. 6-13.
6. Patent of Ukraine 34848 A, IPC^b C 12 N5/02. Method of cryopreservation of adrenocortical tissue cells / Bondarenko T. P., Legach E. I. Filed in 13. 07. 99. Published 15. 03. 01. Bulletin N 2. 2nd part. – P. 173.
7. Kowal J., Feidler R. Adrenal glands in tissue culture. 1. Assay of steroid products // Arch. Biochem. Biophys. – 1968. – V.128. – P. 406-421.

Accepted in 1.04.2002

Nowadays the infertility is diagnosed in 15-20% of couples, moreover in 50% of cases was due to the men [2]. Xenotransplantation of organ cultures of corresponding endocrine tissues, including the newborn piglets' testes, is widely applied for endocrine status correction [3]. Usage of native organ cultures is limited, and a wider introduction of this method into the practice for an organism's endocrine status correction is possible only at the base of establishment of low temperature stocks for organ cultures. The results obtained when studying the secreting capabilities of adrenal gland's organ cultures, stored for 1 year under -196°C, as well as our investigations of testes organ cultures, stored during 1 month, testify to the equal secreting capability of cryopreserved material during these

семенников, хранившихся 1 мес., свидетельствуют об одинаковой секретирующей способности криоконсервированного материала на протяжении данных сроков хранения, значит, можно создавать его запасы для последующего использования в клинике.

Цель данной работы - исследование способности размороженного эндокринного материала к секреции тестостерона после низкотемпературного хранения и утилизации экзогенного холестерина - косвенного свидетельства наличия процессов стероидогенеза.

Получение, криоконсервирование органной культуры семенников новорожденных поросят и определение гормонов осуществляли, как описано в [1]. Выбор показателей для тестирования органной культуры обусловлен тем, что клетки Лейдига (основная популяция ткани семенников) синтезируют и секретируют в кровь тестостерон, являющийся основным гормоном данной эндокринной железы. Его синтез и секреция контролируются лютеинизирующим гормоном (ЛГ). Предшественником стероидогенеза тестостерона является холестерин. Для процессов стероидогенеза существенное значение имеет сохранение морфофункциональных характеристик плазматической мембраны клеток Лейдига с поверхностью рецепторов, ответственных за связывание с ЛГ.

В результате проведенных экспериментов нами было установлено, что при низкотемпературном хранении в течение 1-30 сут. секретирующая способность органной культуры семенников была на уровне 79,36 - 80,86 нМ/мг белка тестостерона, что составляло примерно 80 % от уровня секреции тестостерона органной культурой семенников до замораживания. Следует также отметить, что рекультивирование размороженного материала показало его способность к стероидогенезу и секреции тестостерона. В первые 2-е суток отмечались несколько меньшая выработка и секреция тестостерона, однако к 3-4-м суткам рекультивирования нативные и криоконсервированные культуры практически не отличались по их способности секретировать тестостерон.

Из представленных на рисунке данных по утилизации холестерина нативными и криоконсервированными органными культурами семенников видно, что с увеличением времени инкубации происходит снижение количества холестерина, а это может быть свидетельством развития процессов стероидогенеза. Следует указать, что на начальных этапах инкубирования изменения уровня холестерина в средах, содержащих нативные культуры, были более выраженными. Однако к 150-й минуте криоконсервированные органные культуры начинают несколько опережать нативные, т.е. они перерабатывают больше холестерина за одинаковый промежуток времени. Возможно, это обусловлено тем, что на начальных этапах, когда клетки после отогрева имели уменьшенный объем, в них происходили репаративные процессы, направленные на восстановление объема. При достижении определенного объема включались процессы, связанные с непосредственным выполнением функциональных особенностей секретирующих клеток. И, по всей видимости, в результате низкотемпературного воздействия произошли изменения, связанные с большей доступностью холестерина для участия в процессах стероидогенеза. Обработка культур экстрактом гипофиза, содержащим

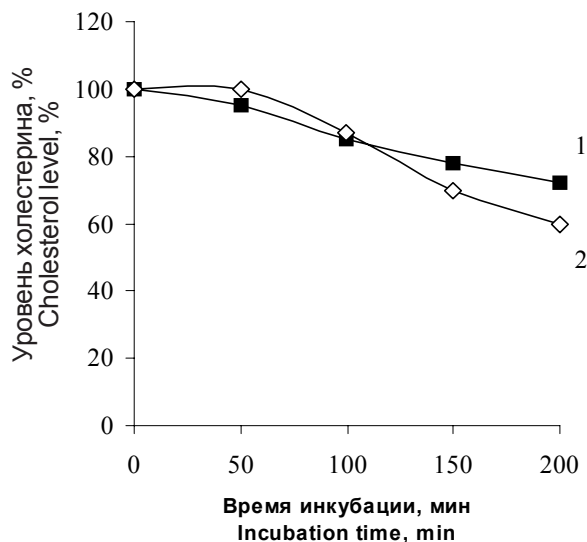
storage terms, so these stocks for the following usage in clinic can be established.

The aim of this work was to investigate the capability of frozen-thawed endocrine material to testosterone secretion after low temperature storage and to exogenous cholesterol utilisation, that is an indirect evidence of the presence of steroidogenesis processes.

Obtaining, cryopreservation of testes' organ culture of newborn piglets and the hormone determination were carried-out as described in the paper [1]. The choice of indices for organ culture testing is stipulated by the fact that the Leydig cells (main population of testes tissue) synthesise and secrete testosterone into the blood, that is the basic hormone of this endocrine gland. Its synthesis and secretion are controlled by luteinizing hormone (LH). Cholesterol is the precursor of testosterone steroidogenesis. For steroidogenesis processes the preservation of morphofunctional characteristics of Leydig cells plasmatic membrane with the receptors surface, responsible for the binding with LH, is of great importance.

As a result of the experiments conducted we have found, that under low temperature storage during 1-30 days a secreting capability of testes organ culture was at the level of 79,36-80,86 nM/mg of testosterone protein, that made approximately 80% of the level of testosterone secretion by testes organ culture before freezing. It should be also noted, that the reculturing of frozen-thawed material demonstrated its capability to steroidogenesis and testosterone secretion. In the first 2 days we noted a quite lower production and secretion of testosterone, although to the 3rd -4th day the reculturing of native and cryopreserved culture did not practically differ by their capability to secrete testosterone.

As it is seen from the data on cholesterol utilisation by native and cryopreserved testes organ culture, presented in the Figure, with an increase of incubation time there is a decrease in cholesterol number, and this fact can testify to the development of steroidogenesis processes. It should be noted, that at the initial stages of incubation, the changes in



Уровень суммарного холестерина в среде культивирования органной культуры семенников: 1 – нативная; 2 – криоконсервированная. За 100 % принят уровень холестерина в среде до момента инкубации при 37°C.

Level of total cholesterol in culturing medium of testes organ culture: 1 – native one; 2 – cryopreserved one. The cholesterol level in the medium prior to the incubation moment at 37°C was assumed by us as 100%.

ЛГ, приводила к увеличению потребления холестерина на 8 % для нативных и 9 % для криоконсервированных органных культур семенников, а это являлось подтверждением того, что криоконсервирование сохраняет и способность эндокринного материала реагировать на стимулятор стероидогенеза, что важно для материала, используемого для трансплантации.

Литература

1. Абу Жаяб Салех, Луговой С.В., Губина Н.Ф. Влияние криоконсервирования на секрецию тестостерона органоидной культурой семенников крыс // Патогенетичні аспекти фармакоterapiї ендокринних захворювань.– Харків, 2002.– С. 17-18.
2. Золотухина В.М., Тарасенко Н.Е. Нові пропозиції негормональної корекції порушеного сперматогенезу // Патогенетичні аспекти фармакоterapiї ендокринних захворювань.– Харків, 2002.– С.46.
3. Лучицький С.Б., Кобяков С.К., Зубкова Г.А. та ін. Імуногенність та функціональна активність органоїд ксенокультури сім'яників // Трансплантологія.– 2000. – Т.1, № 1.– С. 159-160.

Поступило 2.04.2002

cholesterol level in the media, containing native cultures, were more manifested. However to the 150th min the cryopreserved organ cultures begin to slightly outstrip of the native ones, i.e. they process the greater number of cholesterol for the same time period. This is possibly stipulated by the fact, that at the initial stages, when the cells after thawing had a reduced volume, the reparative processes, orientated to the volume recovery, occurred in them. When reaching a certain volume there was the triggering of the processes, related to the direct realisation of functional peculiarities of secreting cells. As well, apparently, as a result of a low temperature effect there were the changes, related to the higher availability of cholesterol for participation in steroidogenesis processes. Culture treatment with LH containing hypophysis extract, resulted in an increase in cholesterol consumption by 8% for native and 9% for cryopreserved testes organ cultures, that confirmed the fact, that cryopreservation preserved the capability of endocrine material to respond to steroidogenesis stimulator, that was quite important for the material used for transplantation.

References

1. Abujayyab Saleh, Lugovoj S.V., Gubina N.F. Cryopreservation effect on testosterone secretion by rat's testes organ culture // Patogenetychni aspekty farmakoterapii endokrynnykh zakhvoryuvan'.– Kharkiv, 2002.– P.17-18.
2. Zolotukhina V.M., Tarasenko N.E. New proposals of non-hormonal correction of disordered spermatogenesis // Patogenetychni aspekty farmakoterapii endokrynnykh zakhvoryuvan'.– Kharkiv, 2002.– P. 46.
3. Luchyts'ky S.B., Kobayakov S.K., Zubkova G.A. et al. Immunogenicity and functional activity of testes organ xenoculture // Transplantologiya.– 2000.– V.1, N1.– P. 159-160.

Accepted in 2.04.2002

УДК 615.361.811.013.014.413: 57.043.085.2

UDC 615.361.811.013.014.413: 57.043.085.2

Влияние гипотермического хранения эмбриональной нервной ткани крыс на жизнеспособность клеток после замораживания-отогрева

М.С. ПЛАЧИНТА, А.Н. СУКАЧ, К.В. БЕЗРУКОВА

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Effect of Hypothermic Storage of Rat's Embryonic Nerve Tissue on Cell Viability After Freeze-Thawing

PLACHINTA M.S., SUKACH A.N., BEZRUKOVA K.V.

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

Открытие стволовых клеток, которые могут воспроизводить нервную ткань, предоставило новые возможности для лечения поврежденной нервной системы. Для создания банков эмбриональных нервных клеток (ЭНК) их криоконсервируют при температуре жидкого азота. Однако криоконсервированию предшествуют процессы получения эмбрионов, выделения из них нервной ткани и ее дезагрегации на единичные клетки. Все эти процессы, как правило, проводятся в гипотермических условиях и приводят к значительному падению жизнеспособности клеток, и, следовательно, к уменьшению эффективности их трансплантации. Цель работы - изучение влияния гипотермического хранения эмбриональной нервной

Discovery of stem cells, capable of reproducing nerve tissue, provided the new opportunities for treating nervous system damages. In order to establish the banks of embryonic neuronal cells (ENCs), they are cryopreserved under liquid nitrogen temperature. However the processes of embryos obtaining, nerve tissue isolation from them and its desaggregation for single cells precede the cryopreservation. All these processes, as a rule, are carried-out under hypothermic conditions and result in a considerable decrease of viable cells, and, consequently, in a reduction in their transplantation efficiency. The aim of work was to study the effect of hypothermic storage of rat's embryonic nerve tissue on cell viability before and after freezing.