

# Особенности криоустойчивости органотипических культур тканей надпочечников крыс в онтогенезе

Ю.Х. РУМИЕХ

*Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина*

## Cryoresistance Peculiarities of Organotypic Cultures of Rat Adrenal Tissues in Ontogenesis

YU.KH. RUMIEKH

*V.N. Karazin Kharkiv National University*

С возрастом изменяется гормональная активность тканей надпочечников, а утрата глюкокортикоидной функции надпочечников приводит к летальному исходу. При криоконсервировании культур тканей надпочечников погибает 15% клеток. Предположительно это более старые клетки, имеющие липидный состав мембран и являющиеся первичным звеном действия низких температур.

Цель работы – исследование криоустойчивости культур тканей надпочечников крыс разного возраста (1, 3, 6, 12 и 24 месяцев).

Эндокринные клетки в случае сохранения структурной целостности мембран могут секретировать в культурах гормоны при наличии экзогенных предшественников и потреблять их для синтеза. Показатель структурной целостности мембран – способность исключать трипановый синий. Жизнеспособность клеток культур при использовании данного красителя во всех возрастных группах после 1-х суток культивирования составляла 73-78%. Исследование функциональной характеристики культур (базальная секреция) показало, что профили кривых динамики секреции 11-ОКС культур всех возрастных групп совпадали. Однако у культур тканей старых животных уровень секреции был снижен на 17-20%. При введении стимулятора стероидогенеза (экстракта гипофиза) во всех культурах отмечалось повышение уровня секреции, которое зависело от возраста ткани: у 1-6-месячных животных прирост стимулированной секреции составлял 19-20%, а у 12 и 24-месячных – 9-11%. С возрастом уровень секреции изменяется за счет снижения синтетических процессов либо изменения рецепторных взаимодействий. Разный уровень секреции гормонов культурами тканей в онтогенезе соответствует ответу на действие стимулятора стероидогенеза, что обусловило целесообразность исследования их ответа на стресс при включении адаптационных механизмов. Для этих целей использовали метод двухэтапного замораживания культур: охлаждение до  $-80^{\circ}\text{C}$  со скоростью  $1^{\circ}\text{C}/\text{мин}$  и последующее погружение в жидкий азот. После отогрева количество жизнеспособных клеток снижалось на 32-48%.

Криочувствительность тканей надпочечников обусловлена возрастом: у тканей молодых животных сохранялось 68-69% клеток, у старых – 52-56%. Следовательно, возрастные изменения в тканях надпочечников снижают адаптационные механизмы к действию повреждающих факторов среды, реализующихся в процессе низкотемпературного консервирования.

Hormonal activity of adrenal tissues changes with age and a loss of adrenal glucocorticoid function results in lethal outcome. During cryopreservation of adrenal tissue culture 15% of cells die. These are presumably the older cells with lipid membrane composition and being a primary link of low temperature effect.

This research was targeted to investigate the cryoresistance of adrenal tissue culture of different age rats (1, 3, 6, 12 and 24 months).

Endocrine cells with preserved membrane structural integrity may secrete hormones at the presence of exogenous precursors and consume them for synthesis. The index of membrane structural integrity is the capability of trypan blue exclusion. Culture cell viability when using this dye in all age groups after 1<sup>st</sup> day of culturing made 73-78%. Studying the functional characteristics of cultures (basal secretion) has demonstrated that the curve profiles of 11-OCS secretion dynamics of cultures coincide in all age groups. However in tissue cultures of old animals the secretion level was reduced by 17-20%. When introducing steroidogenesis stimulator (pituitary gland extract) in all cultures there was noted an increase in secretion level, which depended on tissue age: in 1-6 months' animals the growth of stimulated secretion made 19-20% and 9-11% for 12-24 months. With age the secretion level changes due to either a decrease in synthetic processes or change in receptor interactions. Different level of hormone secretion by tissue cultures in ontogenesis corresponds to the response on steroidogenesis stimulator effect, that stipulated the expediency to study their response to stress under adaptation mechanism triggering. For this purpose we used the method of two-stage freezing: cooling down to  $-80^{\circ}\text{C}$  with  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$  rate with following immersion into liquid nitrogen. After thawing the number of viable cells reduced by 32-48%. Cryosensitivity of adrenal tissues is age-stipulated: 68-69% of cells were preserved in young animals and 52-56% in old ones. Consequently, age changes in adrenal tissues reduce adaptation mechanisms to the effect of medium damage factors, realizing in the process of low temperature preservation.