

## Адаптивный ответ и окислительный стресс в криобиологии

И.П. Горячая<sup>1</sup>, В.Д. Зинченко<sup>1</sup>, И.В. Говор<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

<sup>2</sup>НТК "Институт монокристаллов" НАН Украины, г. Харьков

## Adaptive Response and Oxidative Stress in Cryobiology

I.P. GORYACHAYA<sup>1</sup>, V.D. ZINCHENKO<sup>1</sup>, I.V. GOVOR<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

<sup>2</sup>Institute for Single Crystals of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Способность клеток или организмов противостоять действию повреждающих или токсичных агентов, если предварительно они были подвергнуты экспозиции при низких дозах этих агентов, – широко распространенное явление. Адаптивный потенциал, как сумма возможностей приспособления, заложена в геноме организма.

Нами были изучены эффекты перекрестной адаптации, возникающие при использовании озона как индуктора окислительного стресса, с целью использования их для повышения устойчивости биологических объектов к действию низких температур.

Исследования проводили на клетках *S. cerevisiae*, *S. boulardii*, *E. coli* и на эритроцитах быка и человека. Реакция исследуемых клеток на озон зависит от дозы озона и находится в полном соответствии с предложенной Г. Селье схемой общего адаптационного синдрома стресса: реакция «тревоги», «стадия устойчивости» и «стадия истощения». Мы использовали дозы озона, приводящие к реакциям тревоги и устойчивости.

Для подбора необходимой дозы озона нами был разработан хемилуминесцентный метод оценки степени отклонения параметров гомеостаза за пределы нормального диапазона под действием избыточного оксиданта.

Установлено, что низкие дозы озона способствуют повышению устойчивости эритроцитов к гипертоническому лизису. Мы объясняем наблюдаемые эффекты результатом перекрестной адаптации клеток в ответ на окислительный стресс, что приводит к повышению устойчивости мембран эритроцитов против разрушения в гипертонических условиях.

Клетки *S. cerevisiae*, обработанные после замораживания-отогрева озоном в дозе 0,088 мг/л ростовой среды, имеют показатели роста в 2 раза выше, чем в контрольных образцах, не обработанных озоном. По нашему мнению, обнаруженное повышение жизнеспособности криоконсервированных клеток при добавлении озона в ростовую среду после оттаивания может быть объяснено репарацией нелетальных криоповреждений, эффективность которой увеличивается в результате вызванной окислительным стрессом перекрестной адаптации.

В клетках *C. albicans*, обработанных озоном перед замораживанием, обнаружено повышение жизнеспособности по сравнению с контрольными (не обработанными озоном) клетками при дозах озона в диапазоне 0,16–0,64 мг/л. Следовательно, вызванный озоном окислительный стресс перед замораживанием клеток приводит их в состояние, «подготовленное» к действию факторов криоконсервирования.

Таким образом, экспериментально показано, что окислительный стресс, вызванный в клетках перед замораживанием или после замораживания-отогрева, может повышать эффективность криоконсервирования клеток.

Ability of cells or organisms to resist the effect of damage or toxic agents if preliminarily they were exposed with low doses of these agents is widely spread phenomenon. Adaptive potential as the sum of adaptation possibilities is determined by organism gene pool.

We have studied the effects of cross adaptation appearing when using ozone as inducer of oxidative stress to use them for increasing the resistance of biological objects to the effect of low temperatures.

The investigations were performed in *S. cerevisiae*, *S. boulardii*, *E. coli* cells, bovine and human erythrocytes. Response of the studied cells to ozone depends on its concentration and corresponds to the suggested by H. Selye scheme of general adaptation stress syndrome: 'alarm' reaction, 'resistance stage' and 'exhaustion stage'. We used the concentrations of ozone inducing the reactions of alarm and resistance.

To choose a necessary concentration of ozone we have developed a chemiluminescent method to estimate a degree of homeostasis parameters' deviation beyond the normal range under effect of excessive antioxidant.

We have established that low concentration of ozone contribute to the increase of erythrocyte resistance to hypertonic lysis. We explain the observed effects as a result of cell cross adaptation in response to oxidative stress, that leads to the rise of erythrocyte membrane resistance against the damage in hypertonic conditions.

*S. cerevisiae* cells treated after freeze-thawing with ozone in 0.088 mg/l concentration in growth medium have growth indices 2 times lower than in the control samples not treated with ozone. We believe the revealed increase of cryopreserved cells viability after thawing if growth medium was supplemented with ozone may be explained by reparation of non-lethal cryodamages. Its efficiency increases due to cross adaptation caused by oxidative stress.

In *C. albicans* cells treated with ozone prior to freezing was found the viability increase if compared to the control (not treated with ozone) cells in the case if ozone concentrations were within the range of 0.16–0.64 mg/l. Consequently, an oxidative stress induced by ozone prior to cell freezing gets them into a state 'prepared' to the effect of cryopreservation factors.

Thus we have experimentally shown that oxidative stress induced in cells prior to freezing or after freeze-thawing may increase the efficiency of cell cryopreservation.