

Регидратированные аденокортикоциты как модель криоконсервированных стероидпродуцирующих клеток

Г.В. Дудецкая¹, Т.А. Юрчук², В.Д. Устиченко¹, Н.М. Алабедалькарим¹, Т.П. Бондаренко¹

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

²Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

Rehydrated Adrenocorticytes as Model of Cryopreserved Steroid-Producing Cells

G. V. DUDETSKAYA, T. A. YURCHUK, V. D. USTICHENKO, N. M. ALABEDALKARIM, T. P. BONDARENKO

¹Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

²Karazin National University, Kharkov

В настоящее время для органотипических культур надпочечников разработаны режимы криоконсервирования, обеспечивающие сохранение гормонсинтетической активности клеток. Было отмечено, что изменение формы или объема клеток при криоконсервировании, которое способствует пространственному сближению внутриклеточных депо холестерина и цитохрома P450_{scc}, может стимулировать стероидпродуцирующую активность. Однако прямые доказательства влияния осмотических факторов на базальный и стимулированный стероидогенез не были получены.

Цель нашей работы – изучить влияние состава и осмолярности гипертонической среды на базальный и dbcAMP-стимулированный стероидогенез аденокортикальных клеток и оценить адекватность этой модели для характеристики влияния замораживания-отогрева на стероидогенный потенциал данных клеток.

Объектом исследования были аденокортикоциты мышей и новорожденных поросят. Для определения влияния факторов криоконсервирования на секрецию гидрокортизона, клетки преинкубировали в растворах NaCl различной осмолярности при 22°C в течение 20 мин, а затем помещали на 18 ч в стандартную среду культивирования. Криоконсервированные аденокортикоциты получали из фрагментов желез, криоконсервированных по методу Гуриной. Митохондриальный потенциал клеток оценивали с использованием красителя JC-1 при последующей цитофлюориметрии.

Установлено, что криоконсервирование не влияет на уровень dbcAMP-индуцированной секреции, но повышает базальную гормонопродукцию. Усилению стероидогенной активности криоконсервированных клеток сопутствовал прирост количества клеток с высоким митохондриальным потенциалом. Для регидратированных клеток установлено, что с ростом осмолярности гипертонической среды тенденция к увеличению базального стероидогенеза реализовалась в достоверное повышение нестимулированной секреции гидрокортизона. Базальный и стимулированный гормонопоэз криоконсервированных аденокортикоцитов по абсолютным значениям соответствовал данным, полученным для клеток, регидратированных из гипертонических растворов электролита.

Таким образом, дегидратация-регидратация клеток в гипертонических растворах электролита NaCl может быть использована для моделирования влияния замораживания-отогрева на стероидогенный потенциал аденокортикальных клеток.

In present time for organotopic cultures of adrenal glands the cryopreservation protocols, proving the preservation of hormonesynthetic cell activity, were designed. There was found that changes of cell shapes or volume under cryopreservation, which contributed to spatial approaching of intracellular depot of cholesterol and P450_{scc} cytochrome, can stimulate steroid-productive activity. However direct evidence of the effect of osmolar factors on basal and stimulated steroidgeneses have not been found.

The research purpose was to study the influence of solution and osmolarity of hypertonic medium on basal and dbcAMP-stimulated steroidgenesis of adrenocortical cells and to estimate the adequacy of this model for characteristic of freeze-thawing influence on steroidgenesis potential of these cells.

The research objects were mice and newborn piglets' adrenocorticytes. For examining the influence of cryopreservation factors on the secretion of hydrocortisone, the cells were preincubated in NaCl solutions of different osmolarities, at 22°C for 20 minutes, and then they were placed for 18 hrs into standard culture medium. Cryopreserved adrenocorticytes were obtained from gland's fragments, those were cryopreserved with Gurina's method. Mitochondria cell potential was estimated with exclusion of JC-1 dye with following cytofluorimetry

It was established that cryopreservation did not affect the level of dbcAMP-inductive section, but enhanced basal hormone production. Reinforced steroidgenic activity of cryopreserved cells the accumulation of cell amount with high mitochondria potential. For rehydrated cells there was established that with growth of hypertonic medium osmolarity the trend to increasing the basal steroidgenesis was realized as statistical and significant rise in unstimulated secretion of hydrocortisone. Basal and stimulated hormonopoiesis of cryopreserved adrenocorticytes on absolute data corresponded to those showed for the cells rehydrated from hypertonic electrolyte solution.

Thus, cell dehydration and rehydration in hypertensive NaCl electrolyte solutions can be used for modeling the influence of freeze-thawing on steroidgenic potential of adrenocortical cells.