

Сравнительная морфологическая характеристика первичных культур клеток надпочечников неонатальных животных

О.Ю. Новикова^{1,2}, Е.М. Плаксина², О.С. Сидоренко², А.А. Лаврик¹, Г.А. Божок², Т.П. Бондаренко²

¹ПАО «Фармстандарт-Биолек», г. Харьков

²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Comparative Morphological Characteristics of Primary Cultures of Neonatal Animal Adrenal Cells

O.Yu. Novikova^{1,2}, E.M. Plaksina², O.S. Sidorenko², A.A. Lavrik¹, G.A. Bozhok², T.P. Bondarenko²

¹Public Joint-Stock Company Pharmstandard-Biolik, Kharkiv, Ukraine

²Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

В период эмбриогенеза мозговое вещество надпочечников формируется из клеток, которые являются симпатoadренальными производными нервного гребня. Ранее была показана возможность выделения и культивирования симпатoadренальных прогениторных клеток из надпочечников взрослых млекопитающих (быка, мыши). Особенностью таких культур было формирование флотирующих или прикрепленных цитосфер, клетки которых были способны дифференцироваться в нейроны.

Цель данной работы – сравнительная морфологическая характеристика первичных культур клеток, полученных из надпочечников неонатальных животных (свиньи, кролика, мыши, крысы).

Клеточную суспензию получали ферментативным методом из надпочечных желез животных. Клетки высевали в концентрации $1-2 \times 10^5$ кл/мл и культивировали при 37°C в атмосфере с $5\% \text{CO}_2$ в стандартных (адгезивных) условиях на среде DMEM/F12 с добавлением 10% фетальной телячьей сыворотки. Также была исследована возможность получения культур на низкоадгезивных подложках.

Культуры, полученные в стандартных условиях из надпочечников поросят и кроликов, формировали монослой из фибробластоподобных клеток. На 5–7-е сутки на монослой образовывались прикрепленные цитосферы, из которых при дальнейшем культивировании выселялись нейробластоподобные клетки, способные давать длинные отростки и «нейрональные сети». В культурах клеток надпочечников мышей и крыс в стандартных условиях не формировались монослой и цитосферы. Культура представляла собой прикрепленные одиночные клетки округлой формы. При культивировании клеток надпочечников поросят на низкоадгезивной подложке на 5-е сутки были получены флотирующие цитосферы. При перенесении на адгезивную подложку цитосферы прикреплялись, и из них выселялись клетки нейробластоподобной морфологии. В культуре клеток надпочечников кроликов в условиях низкой адгезии цитосферы формировались, однако у них отсутствовала способность к дифференцировке в нейробластоподобные клетки.

Полученные данные свидетельствуют о том, что первичные клеточные культуры неонатальных надпочечников свиньи, кролика, мыши, крысы имеют различные морфологические характеристики, возможно, связанные с видовыми или онтогенетическими особенностями млекопитающих. Для получения симпатoadренальных прогениторных клеток, растущих в виде цитосфер, необходима разработка различных подходов, учитывающих видовые особенности животных.

During embryogenesis, the adrenal medulla is formed from the cells, being sympathetic-adrenal derivatives of neural crest. Previously there was demonstrated the possibility to isolate and culture the sympathetic-adrenal progenitor cells from adrenal glands of adult mammals (bull, mouse). The peculiarity of these cultures was the formation of either floating or attached cytospheres, the cells of which were capable to differentiate into neurons.

The research aim was to make a comparative morphological analysis of primary cultures of cells, derived from neonatal animal adrenal glands (pig, rabbit, mouse, rat).

Cell suspensions were derived from animal adrenal glands using the enzymatic method. Cells were seeded in $1-2 \times 10^5$ cells/ml concentration and cultured at 37°C in $5\% \text{CO}_2$ atmosphere under the standard (adhesive) conditions in DMEM/F12 medium supplemented with 10% fetal bovine serum. The possibility to obtain the cultures on low adhesive surfaces was also studied.

The cultures, derived under the standard conditions from pig and rabbit adrenal glands formed the monolayer consisting of fibroblast-like cells. To days 5–7 the attached cytospheres were formed on the monolayer. During further culture we observed the neuroblast-like cells migration from the spheres, which produced long processes and 'neural networks'. Under the standard conditions neither monolayer nor cytospheres were formed in cell cultures of murine and rat adrenal glands. The cultures were represented by attached single round-shaped cells. In the culture of piglet adrenal cells on a low adhesive surface the floating cytospheres were obtained to day 5. After being transferred to adhesive surface the cytospheres were attached, and the cells with neuroblast-like morphology migrated from them. The cytospheres were formed in rabbit adrenal cell culture under low adhesion conditions, but no signs of neuroblast-like cells were observed there.

Our findings testify to the fact, that the primary cell cultures of pig, rabbit, murine and rat neonatal adrenal glands have different morphological characteristics, likely associated either with species or ontogenetic peculiarities of mammals. In order to obtain the sympathetic-adrenal progenitor cells forming the cytospheres it is necessary to find different approaches taking into account species peculiarities of animals.

