

Тезисы 40-й ежегодной конференции молодых ученых «Холод в биологии и медицине. Актуальные вопросы криобиологии, трансплантологии и биотехнологии», 23–24 мая 2016 г., г. Харьков

Муценко В.В., Гришков А.П., Роговская Е.Ю., Петренко Ю.А. Предобработка сахарозой повышает криоустойчивость мезенхимальных стромальных клеток, криоконсервированных на двух- и трехмерных носителях.....	158
Мартынова Ю.В., Бабийчук В.Г. Влияние повторных циклов ритмических экстремальных холодовых воздействий (–120°C) на структурное состояние миокарда в динамике старения крыс.....	159
Пуговкин А.Ю., Кононенко И.С., Кононенко Р.В., Буцкий К.И., Черепнин В.А., Конейка Е.Ф. Криоконсервирование спермы стерляди: оптимизация состава криозащитной среды.....	160
Борисов П.А., Димитров А.Ю., Гольцев А.Н., Останков М.В. Влияние криоконсервирования на экспрессию stemness-генов в клетках фетальной печени мышей.....	161
Буркова В.В. Хранение штаммов вируса бешенства <i>L. Pasteur</i> и CVS при низких температурах под защитой криопротекторов.....	162
Огурцова В.В. Коефіцієнти проникності мембран еритроцитів миші для води та криопротекторів.....	163
Тарусин Д.Н., Муценко В.В., Зайков В.С. Причины толерантности инкапсулированных мезенхимальных стромальных клеток к краткосрочному хранению.....	164
Таранник А.К., Останкова Л.В., Гриша И.Г., Сокол Л.В., Луценко Е.Д., Бондарович Н.А., Останков М.В., Гольцев А.Н. Лиофилизированный лейкоконцентрат кордовой крови человека как корректор состояния иммунного статуса при лечении атопического дерматита (экспериментальное исследование).....	165
Трофимова А.В., Чиж Н.А., Белочкина И.В., Волина В.В., Сандомирский Б.П. Структура сердца после терапевтической гипотермии и введения МСК при экспериментальном инфаркте миокарда.....	166
Юрчук Т.А., Петрушко М.П., Пиняев В.И. Эффективность криоконсервирования экспандированных бластоцист человека методом витрификации с использованием коллапсирования.....	167
Бабинец О.М., Буряк И.А. Лечение экспериментальной кишечной инфекции иммобилизованными в геле антибактериальными препаратами, хранившимися при низких температурах.....	168
Юхта М.С., Волкова Н.А., Степанюк Л.В., Чернышченко Л.Г., Гольцев А.Н. Криоконсервированные мезенхимальные стромальные клетки в терапии экспериментального оофорита.....	169
Власов А.А., Ковалев Г.А., Белочкина И.В., Тыныныка Л.Н., Сандомирский Б.П. Влияние экстрактов криоконсервированных фрагментов кожи поросят на состояние про- и антиоксидантной системы при криодеструкции кожи.....	170
Чернявская Е.А., Бабийчук В.Г. Влияние криоконсервированной кордовой крови на состояние вегетативной регуляции сердечного ритма у крыс с алиментарным ожирением.....	171
Панов С.И., Белочкина И.В., Сандомирский Б.П. Влияние криоконсервированной сыворотки кордовой крови и фуллерена C ₆₀ на показатели прооксидантно-антиоксидантной системы крыс с некрозом миокарда.....	172
Кисель А.В., Киروشка В.В., Бондаренко Т.П., Петрова В.А., Баклагина Ю.Г., Черняков Д.Д., Скорик Ю.А. Характер распастьвания и структура цитоскелета мезенхимальных стволовых клеток костного мозга при культивировании на хитозановых матрицах.....	173
Нарожный С.В., Розанова С.Л. Влияние низких температур на протекторное действие экстрактов плаценты человека по отношению к эритроцитам в условиях окислительного стресса.....	174
Васькович А.М., Кондаков И.И., Репин Н.В. Влияние криоэкстракта плаценты на морфофункциональное состояние почек при экспериментальном нефрите Хеймана.....	175
Чуб О.В., Шевченко М.В., Прокопюк В.Ю. Нейропротекторный эффект факторов плацентарного происхождения на клетки головного мозга новорожденных крыс в модели глутамат-индуцированной токсичности.....	176
Трутаева И.А., Киروشка В.В., Гурина Т.М., Бондаренко Т.П. Морфологические и биохимические характеристики овариальной ткани при разных режимах криоконсервирования.....	177
Новикова О.Ю., Пласина Е.М., Сидоренко О.С., Лаврик А.А., Божок Г.А., Бондаренко Т.П. Сравнительная морфологическая характеристика первичных культур клеток надпочечников неонатальных животных.....	178

Али С.Г., Лаврик А.А., Божок Г.А. Морфологические характеристики первичных культур клеток спинномозговых узлов неонатальных кроликов.....	179
Третьяк Д.В., Гулевский А.К. Исследование количественного и качественного состава низкомолекулярных веществ белково-пептидной природы из личинок <i>Tenebrio molitor</i> до и после холодной акклимации.....	180
Севастьянов С.С., Осецкий А.И., Гурина Т.М. Термомеханический анализ кластерной кристаллизации водных растворов полиэтиленгликоля с м. м. 1500.....	181
Семионова Е.А., Еришова Н.А. Постгипертонический лизис эритроцитов человека в присутствии хлорпромазина.....	182
Макашова Е.Е., Зубова О.Л., Зубов П.М. Использование антиоксиданта N-ацетил-L-цистеина при криоконсервировании ядродержащих клеток кордовой крови.....	183
Улізко П.Ю., Боброва О.М. Вплив кріопротекторів і низьких температур на збереженість еритроцитів бика, коня та кролика.....	184
Кулик В.В., Бабийчук В.Г. Ультраструктурные перестройки гипоталамуса старых крыс после ритмических экстремальных холодových воздействий.....	185
Первушина О.А. Применение криоконсервированной эритроцитарной массы при коррекции анемического синдрома у собак, вызванного <i>Babesia canis</i>	186
Роечко А.А., Пасиешвили Н.М. Назначение иммуномодуляторов при материнско-плодовой инфекции снижает инфицированность плаценты и ее оболочек.....	187
Плакшина Е.М., Сидоренко О.С., Легач Е.И., Божок Г.А. Получение культуры нейробластоподобных клеток из надпочечников новорожденных поросят методом селективной адгезии.....	188
Гребенюк А.И., Чиж Н.А., Бызов Д.В., Рогоза Л.А., Антоненко Е.А., Лукьяненко П.Г., Сандомирский Б.П. Разработка установки для эндоскопических операций на экспериментальных животных.....	189
Мотко А.В., Долгопятенко А.Д., Чиж Н.А., Аврунин О.Г., Сандомирский Б.П. Разработка инфулятора для проведения эндоскопических операций на экспериментальных животных.....	190
Богуславский К.И., Алабедалькари Н.М., Пахомов А.В., Божок Г.А. Влияние инкубации с кріопротекторами на присутствие эпитопа Gal-alpha-1,3-Gal в клетках линии РК-15.....	191

cold in biology and medicine

current issues of cryobiology,
transplantology and biotechnology



Abstracts of the 40th Annual Conference of Young Scientists 'Cold in Biology and Medicine. Current Issues in Cryobiology, Transplantology and Biotechnology' May 23–24, 2016, Kharkov, Ukraine

Mutsenko V.V., Gryshkov A.P., Rogulskaya E.Yu., Petrenko Yu.A. Pretreatment with Sucrose Increases Cryoresistance of Mesenchymal Stromal Cells Cryopreserved on Two- and Three-Dimensional Carriers.....	158
Martynova Yu.V., Babiichuk V.G. Influence of Repeated Cycles of Rhythmic Extreme Whole-Body Cooling (–120°C) on Myocardium Structure in Dynamics of Rats' Aging.....	159
Puhovkin A.Yu., Kononenko I.S., Kononenko R.V., Butskiy K.I., Cherepnin V.A., Kopeika E.F. Cryopreservation of Sterlet Sperm: Optimization of Cryoprotective Medium Composition.....	160
Borysov P.A., Dimitrov A.Yu., Goltsev A.N., Ostankov M.V. Effect of Cryopreservation on Expression of Stemness-Genes in Mouse Fetal Liver Cells.....	161
Burkova V.V. Storage of Rabies Virus Strains <i>L. Pasteur</i> and CVS at Low Temperatures Using Cryoprotectants.....	162
Ogurtsova V.V. Permeability Coefficients of Murine Enterocyte Membranes for Water and Cryoprotectants.....	163
Tarusin D.N., Mutsenko V.V., Zaikov V.S. Cause of Encapsulated Mesenchymal Stromal Cells Tolerance to Short-Term Storage.....	164
Tarannik A.K., Ostankova L.V., Grisha I.G., Sokol L.V., Lutsenko E.D., Bondarovich N.A., Ostankov M.V., Goltsev A.N. Frozen-Dried Human Cord Blood Leukoconcentrate as Correcting Agent of Immune Status when Treating Atopic Dermatitis (Experimental Study).....	165



Получение культуры нейробластоподобных клеток из надпочечников новорожденных поросят методом селективной адгезии

Е.М. Плаксина, О.С. Сидоренко, Е.И. Легач, Г.А. Божок

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Neuroblast-Like Cell Culture Derivation from Newborn Piglet Adrenal Glands Using Selective Adhesion Method

K.M. Plaksina, O.S. Sidorenko, E.I. Legach, G.A. Bozhok

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

Изучение особенностей роста, пролиферации, миграции, дифференциации нейробластов в культуре *in vitro* имеет большое значение для понимания принципов формирования головного и спинного мозга в онтогенезе. Ранее нами было установлено появление нейробластоподобных клеток в культуре клеток надпочечников (ККН) новорожденных поросят, растущей с образованием цитосфер. Кроме того, в этой культуре присутствовали фибробластоподобные клетки, которые были идентифицированы как клетки соединительнотканной капсулы и коркового вещества надпочечника.

Цель данной работы – получение очищенной культуры нейробластоподобных клеток из надпочечников поросят разных сроков неонатального развития методом селективной адгезии.

Клеточную суспензию получали ферментативным методом из надпочечников поросят возрастом 1, 7, 14, и 28 дней (P1, P7, P14 и P28 соответственно). Клетки культивировали на низкоадгезивной поверхности при температуре 37°C и атмосфере с 5% CO₂ в среде 199 с 10% фетальной телячьей сыворотки и антибиотиками. При этом наблюдалось образование флотирующих цитосфер. Половину культуральной среды с цитосферами переносили на адгезивную поверхность на 4, 7, 11, 14, 17, 21-е сутки культивирования. Для определения экспрессии β-III-тубулина методом иммуноцитохимии использовали первичные мышиные антитела к β-III-тубулину (1:200) и вторичные козы антимышинные HiLyte Fluor 488 – конъюгированные антитела (1:400).

Цитосферы, образовавшиеся в ККН поросят P1 после переноса на адгезивную поверхность, на 4, 7 и 11-е сутки культивирования прикреплялись, затем наблюдалось выселение из цитосфер фибробластоподобных и нейробластоподобных клеток. При этом конфлюентность монослоя составляла ~50% при переносе на 4-е, 40% – 7-е, 1,5% – 11-е сутки. При переносе на 14, 17, 21-е сутки цитосферы прикреплялись, но монослой из фибробластоподобных клеток не формировался. При переносе на 14-е сутки из цитосфер активно выселялись нейробластоподобные клетки, которые позитивно окрашивались антителами к β-III-тубулину. При переносе на 17-е сутки активность выселения этих клеток уменьшалась, а на 21-е сутки они отсутствовали. В ККН поросят P7 и P14 формировались цитосферы, при переносе которых наблюдалась тот же эффект. При переносе цитосфер, образовавшихся в ККН поросят P28, большая их часть теряла способность к прикреплению, а из тех цитосфер, которые прикреплялись, выселение клеток не наблюдалось.

Таким образом, очищенная культура нейробластоподобных клеток может быть получена при культивировании клеток надпочечников поросят 1–14-суточного возраста в течение 14 суток с последующим переносом флотирующих цитосфер на адгезивную поверхность.

Studying the features of neuroblast growth, proliferation, migration and differentiation in culture *in vitro* is of great importance to understand the principles of brain and spinal cord formation in ontogenesis. Previously we have established the fact of neuroblast-like cell appearance in newborn piglet adrenal gland cell culture (AGCC), featured with the formation of cytospheres. Moreover, this culture contained the fibroblast-like cells, identified as the cells of connective tissue capsule and adrenal cortex.

The research aim was to derive a purified culture of neuroblast-like cells from adrenal glands of piglets of different terms of neonatal development using selective adhesion method.

Cell suspension was procured with enzyme method from adrenal glands of 1-, 7-, 14- and 28-day-old piglets (P1, P7, P14 and P28, respectively). Cells were cultured on low adhesive surface at 37°C and 5% CO₂ atmosphere in medium 199 with 10% fetal bovine serum and antibiotics. The formation of floating cytospheres was observed under these conditions. The half of culture medium with cytospheres was transferred to adhesive surface to days 4, 7, 11, 14, 17, 21 of culture. To determine the beta III Tubulin expression by means of immunocytochemistry method we used the beta III Tubulin primary mouse antibodies (1:200) and secondary goat anti-mouse HiLyte Fluor 488-conjugated antibodies (1:400).

The cytospheres, formed in AGCC of P1 piglets after transferring to adhesive surface were attached to days 4, 7, and 11 of culture, then the migration of fibroblast-like and neuroblast-like cells out of cytospheres was noted. The monolayer confluency was thereby ~50, 40 and 1.5% during transfer to days 4, 7 and 11, respectively. Following the transfer to days 14, 17 and 21 the cytospheres were attached, but no monolayer of fibroblast-like cells was formed. After the transfer to day 14 the neuroblast-like cells actively migrated from cytospheres, which were positively stained with beta III Tubulin antibodies. When transferring to day 17 the migration activity of these cells reduced, and after transfer to day 21 they were absent. The AGCC of P7 and P14 piglets contained the cytospheres, representing the same features following their transfer. Transferring the cytospheres formed in AGCC of P28 piglets showed that majority of the structures lost their ability to attach, and no migration was observed from the attached cytospheres.

Thus, a purified culture of neuroblast-like cells may be derived following culturing of adrenal gland cells from 1–14-day-old piglets involving the transfer of floating cytospheres to an adhesive surface.

