

Влияние глиального клеточного микроокружения на нейрогенез изолированных клеток мозга новорожденных крыс

Т.Д. ЛЯШЕНКО¹, А.Н. СУКАЧ², В.С. ХОЛОДНЫЙ²

¹Харьковский национальный педагогический университет им. Г.С. Сковороды

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

Effect of Glial Cell Microenvironment on Neurogenesis of Isolated Brain Cells of Newborn Rats

T.D. LYASHENKO¹, A.N. SUKACH², V.S.KHOLODNYI²

¹G.S. Skovoroda Kharkov National Pedagogic University, Kharkov, Ukraine

²Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Вопрос поддержания нейрогенеза в постнатальном мозге до сих пор изучен недостаточно. Существует предположение, что нейрональные предшественники могут пролиферировать только в определенном микроокружении, которое обеспечивается специфическими типами клеток, контактирующими между собой особым образом. Помимо этого известно, что астроциты продуцируют разнообразные межклеточные сигнальные вещества: как растворимые, так и мембранно-связанные, которые влияют на развитие центральной нервной системы. Поэтому мы исследовали возможность обеспечения клетками глии нейrogenного микроокружения в мозге новорожденных крыс. Эксперимент проводили на изолированных клетках, полученных из мозга новорожденных крыс. Суспензию клеток культивировали на протяжении 60 суток в CO₂-инкубаторе в среде DMEM/F12 в присутствии сыворотки взрослых крыс. Клетки иммуноцитохимически окрашивали на β-тубулин III и GFAP.

Проведенные исследования показали, что в процессе культивирования *in vitro* клетки мозга новорожденных крыс первоначально формируют монослой клеток глии, состоящий из астроцитов. Вероятно, в процессе образования монослоя астроцитов формируется соответствующее клеточное микроокружение, которое стимулирует нейрогенез, и мы наблюдаем образование нейробластов, которые мигрируют, созревают и образуют нейрональную сеть. В процессе культивирования также образуются колонии недифференцированных β-тубулин – положительных клеток, которые, вероятно, представляют собой пролиферирующие предшественники нейронов. В процессе культивирования их размер увеличивается, и они создают контакты с соседними колониями. При этом миграцию клеток этих колоний мы не наблюдали. Следует отметить, что в нашем эксперименте вначале происходило образование нейробластов и их созревание и лишь затем образовывались колонии нейрональных предшественников. При этом образование этих колоний происходило исключительно на монослое клеток глии, в отличие от нейробластов и дифференцированных нейронов, которые формировали нейрональную сеть как на глиальном монослое, так и на подложке, не содержащей клеток глии.

Таким образом, выявлена стимуляция клетками глии как нейрональной дифференциации, так и нейрогенеза. При этом микроокружение и факторы роста очевидно, выделяемые астроцитами, регулируют не только эти два процесса, но и миграцию нейробластов.

The question of neurogenesis maintenance in postnatal brain has not been studied well yet. There is the suggestion that neuronal precursors could proliferate only in special microenvironment, provided with specific types of cells, specifically contacting with each other. Besides, it has been known that astrocytes produce various intercellular signal substances, not only soluble, but also membrane-bound, affecting the development of central nervous system. Therefore we studied the possible providing of ability with glia cells of neurogenic microenvironment in newborn rats' brain. The experiment was carried out in isolated cells, derived from newborn rats' brain. Suspension of cells was cultured for 60 days in CO₂ incubator in DMEM/F12 medium at the presence of adult rat serum. Cells were immunohistochemically stained for β-tubulin III and GFAP.

The carried-out researches have shown that during *in vivo* culturing the brain cells of newborn rats firstly form monolayer of glia cells, containing astrocytes. Probably during formation process of astrocytes' monolayer a proper cell microenvironment, stimulating neurogenesis, is formed and we observed the formation of neuroblasts, which migrate, mature and form a neuronal net. During culturing the colonies of undifferentiated β-tubulin positive cells, probably being proliferating precursors of neurons, are also formed. During culturing their size grows and they are in contact with the adjacent colonies. Herewith we did not observe a cell migration of these colonies. It should be noted that in our experiment first of all the formation of neuroblasts and their maturation, took place, and only later the colonies of neuronal precursors were formed. Herewith the formation of these colonies took place only on monolayer of glia cells, contrary to neuroblasts and differentiated neurons, which formed neuronal net not only on glial monolayer, but also on embedding of glia-free cells.

Thus, the stimulation of glia cells of both neuronal differentiation and also neurogenesis was revealed. Herewith the microenvironment and growth factors, derived apparently by astrocytes, regulate not only these both processes, but also neuroblasts migration.