

# Особенности влияния экстрактов печени и нервной ткани новорожденных крыс на культивирование постнатальных нервных клеток

М.В. ШЕВЧЕНКО

Харьковский национальный педагогический университет им. Г.С. Сковороды

## Peculiarities of Effect of Liver Extracts and Nerve Tissue of Newborn Rats on Culturing of Postnatal Nerve Cells

M.V. SHEVCHENKO

G.S. Skovoroda Kharkov National Pedagogical University

Для исследования постнатального развития нервной системы, а также возникновения неврологических патологий используют культивируемые *in vitro* нервные клетки (НК) новорожденных животных.

Изучение эффекта экстрактов различных тканей животных на культивирование нервных клеток (НК) позволяет определить влияние микроокружения клеток на нейрогенез, глиогенез и их взаимосвязь, что может быть основой для создания протоколов лечения заболеваний нервной системы.

Цель работы – исследование влияния экстрактов мозга (ЭМ) и печени (ЭП) новорожденных крыс на поведение НК новорожденных крыс при краткосрочном культивировании.

Экстракты получали гомогенизацией тканей мозга и печени новорожденных крыс с последующим их центрифугированием. НК получали из мозга новорожденных крыс, отмывали в бессывороточной среде и культивировали в концентрации  $4 \times 10^6$  клеток/мл в среде DMEM/F12, обогащенной сывороткой крови. ЭМ и ЭП добавляли в концентрациях 100, 200 и 300 мкг белка/мл среды. Также определяли влияние экстрактов на пересеянные агрегаты НК.

Проведенные исследования показали, что в первые сутки культивирования ЭМ и ЭП стимулируют образование агрегатов и способствуют увеличению жизнеспособности клеток на 15%. При этом наиболее эффективной была максимальная исследованная концентрация экстрактов (300 мкг белка/мл). Выраженной зависимости интенсивности прикрепления агрегатов и последующей миграции и дифференциации клеток при добавлении экстрактов не наблюдалось. Отличий в интенсивности образования монослоя в контроле и при добавлении ЭМ не наблюдалось. Добавление ЭП замедляло скорость образования монослоя пропорционально концентрации белка в экстракте.

При пересеве агрегатов (2 суток культивирования) как в контроле, так и в присутствии экстрактов отмечалось прикрепление агрегатов и слияние неприкрепленных агрегатов. В присутствии ЭМ в концентрации 0,2 мг белка на 3-и сутки культивирования наблюдалось более интенсивное прикрепление агрегатов, чем в контроле, однако все они прикрепилась на сутки позже по сравнению с контролем (на 7-е сутки). Добавление ЭП препятствовало прикреплению агрегатов к подложке, причем этот эффект прямо пропорционально зависел от количества добавленного экстракта.

Таким образом, ЭМ и ЭП способствуют восстановлению поврежденных свежeweделенных клеток в первые сутки культивирования. Однако при пересеве агрегатов ЭМ способствует, а ЭП препятствует как прикреплению агрегатов, так и расплыванию и миграции клеток, составляющих агрегаты.

*In vitro* cultured nerve cells (NCs) of newborn animals represent wide opportunities for their use as the research tool for the processes of postnatal development of nervous system as well as studying the appearance of pathologies of nervous system.

Investigation of the effect of extracts of different animal tissues on NC culturing enables the revealing of the effect of microenvironment on neurogenesis, gliogenesis and their relationship, that may serve as the base for designing the treatment protocols for diseases of nervous system.

The research aim is to study the effect of newborn rat brain tissue extracts (BE) and liver extracts (LE) on behavior of their NCs at short-term culturing.

Extracts were derived by means of homogenization of brain and liver tissues of newborn rats with their following centrifugation.

NCs were derived from brain tissues of newborn rats, washed-out in serum-free medium and cultured under  $4 \times 10^6$  cells/ml concentration in DMEM/F12 medium, enriched with blood serum. BE and LE were added under concentrations of 100, 200 and 300  $\mu\text{g}$  of protein per ml of medium. NC aggregates were re-plated after 48 hrs of culturing.

The performed studies have shown that within the first 24 hrs of culturing, BE and LE stimulate the formation of aggregates and contribute to the rise of cell viability by 15%. Herewith the most effective was maximum concentration of extracts (300  $\mu\text{g}$  of protein/ml) being studied. The manifested dependence of adherence intensity of aggregates and following migration and differentiation of cells when adding the extracts was not observed. There was no differences in monolayer forming intensity between the control and the case of BE adding. LE adding slowed-down the rate of monolayer formation.

During re-plating of aggregates (after 2 days of culturing) both in the control and in the case of extracts' presence the adherence of aggregates and fusion of non-adhered aggregates was observed. In BE presence in the first 24 hrs of culturing there was observed more intensive adherence of aggregates than in the control, though the adherence of all the aggregates took place 24 hrs later if compared with the control (to the 7<sup>th</sup> day). Adding of LE inhibited the aggregates' adherence to surface, moreover this effect was in direct proportion to amount of added extract.

Thus, both BE and LE contribute to a recovery of damages in freshly isolated NCs during the first 24 hrs of culturing. However during further culturing the BE facilitates and LE prevents adherence of aggregates, as well as flattening and migration of NCs, being the part of aggregates.