## Экстракт печени оказывает угнетающее действие на нервные клетки новорожденных крыс, культивируемые *in vitro*

М.В. Шевченко

Харьковский национальный педагогический университет им. Г.С. Сковороды

## Liver Extract Affects Suppressively In Vitro Cultured Nerve Cells of Newborn Rats

M.V. SHEVCHENKO

G.S. Skovoroda Kharkov National Pedagogical University, Kharkov, Ukraine

Изучение действия экстрактов, полученных из различных тканей, на изолированные клетки, с одной стороны, позволяет исследовать *in vitro* влияние различного микроокружения на трансплантированные клетки, а с другой – изучать специфичность действия на различные клетки факторов, продуцируемых в различных тканях. Поэтому целью работы явилось изучение особенностей действия экстрактов тканей мозга и печени на нервные клетки новорожденных крыс *in vitro*.

Экстракты мозга (ЭМ) и печени (ЭП) получали гомогенизацией тканей мозга и печени новорожденных крыс с последующим их центрифугированием.

Нервные клетки (НК) получали из мозга новорожденных крыс, отмывали и культивировали в концентрации  $2\times10^6$  клеток/мл в среде DMEM/F12, обогащенной 10% сыворотки крыс. Экстракты добавляли в концентрациях 0,3 мг белка/мл среды.

В процессе культивирования как в присутствии, так и без ЭМ и ЭП большинство НК образуют агрегаты, которые отличаются по размеру, структуре и форме. В процессе культивирования изменяются структура и форма агрегатов. Упаковка клеток в некоторых агрегатах становится плотнее, что приводит к превращению агрегатов в сфероиды, поведение которых в процессе культивирования сходно с поведением нейросфер. Они могут расти, а после прикрепления к подложке составляющие их клетки мигрируют и дифференцируются в нейроны и клетки глии. Часть агрегатов сливается. Клетки, сформировавшие мелкие рыхлые агрегаты, в процессе культивирования погибают. В процессе культивирования наблюдается увеличение жизнеспособности НК, сформировавших агрегаты, более чем в 2 раза уже через 1 сутки после культивирования.

Культивирование НК в присутствии ЭМ не оказывает достоверного влияния на образование агрегатов и их структурные изменения по сравнению с контрольными клетками. Присутствие в среде культивирования ЭП оказывает ингибирующее действие на агрегацию НК. Агрегатов образуется меньше, структурно они мелкие и рыхлые, уплотнение клеток агрегатов и их слияние в процессе культивирования наблюдаются позже по сравнению с контролем и ЭМ. Также отмечается замедление скорости прикрепления агрегатов к подложке.

Экстракт мозга оказывает стимулирующее, а экстракт печени угнетающее влияние на формирование монослоя клетками глии и образование нейробластов и колоний стволовых/прогениторных клеток.

Таким образом, можно заключить, что регуляторные факторы в ЭМ активируют, а в ЭП – угнетают адгезию клеток, глиогенез, нейрогенез и пролиферацию стволовых/прогениторных клеток.

The studying of effect of the extracts, derived from different tissues, on isolated cells on the one hand enables to investigate *in vitro* the effect of various microenvironment on transplanted cells, and on the other hand to examine the effect specificity on different cells of the factors, produced in various tissues. Therefore the research aim was to study peculiarities of brain and liver extracts effect on behavior of newborn rat nerve cells *in vitro*.

Brain (BE) and liver (LE) extracts were derived by homogenization of newborn rat brain and liver tissues with their further centrifugation.

Nerve cells (NCs) were derived from newborn rat brain, washed and cultured in concentration of  $2\times10^6$  cells/ml in DMEM/F12 enriched with 10% rat blood serum. The extracts were added in concentration of 0.3 mg protein/ml of medium.

During culturing both in absence and presence of BE and LE most of NCs form aggregates differing in size, structure and shape. During culturing the structure and aggregate shape are changed. Cell packing in some aggregates becomes more compact, that results in the transformation of aggregates to spheroids, which act like neurospheres during culturing. They can grow and after attachment to a substrate the cells comprising them migrate and differentiate into neurons and glial cells. A part of aggregates merges. The cells, forming small spongy aggregates, die during culturing. During culturing the viability of NCs, forming aggregates, increases more then twice already after the 1st day of culturing.

NC culturing in presence of BE does not significantly affect the aggregate formation and their structural changes if compared with the control cells. The presence of LE in culturing medium has an inhibiting effect on NC aggregation. The number of formed aggregates is lower, they are structurally small and spongy, during culturing the packing of cell aggregates and their mergence are observed later if compared with the control and cultures with BE. In addition the reduction of rate of aggregate attachment to substrate is observed.

Brain extract has stimulating effect and liver extract has suppressing effect on formation of glial cell monolayer and the of neuroblasts and colonies of stem/progenitor cells.

Thus, we may conclude that regulatory factors of BE activate, and LE factors suppress cell adhesion, glyogenesis, neurogenesis and proliferation of stem/progenitor cells.