

Дифференцировка нейронов в эксплантатах сетчатки крысы и человека под действием нейротрофического фактора головного мозга.

Сергеев Сергей Александрович, Кошелева Настасья Владимировна¹

студент, молодой ученый

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: embryossa@gmail.com

В настоящее время остро стоит проблема репарации сетчатки после повреждений. Для ее решения применяются разнообразные модельные системы *in vitro*, в том числе и органотипические эксплантационные культуры в среде с трофическими факторами (Takano et al. 2002).

В связи с этим, целью нашей работы было исследование дифференцировки клеток сетчатки крыс и человека в органотипических эксплантационных культурах под действием нейротрофического фактора головного мозга (BDNF). Сетчатку выделяли из глаз крыс линии Wistar неонатального возраста и постмортального человеческого материала. Культивирование проводили в стандартных условиях (Avwenagha et al. 2003) в культуральных чашках Петри (Falcon) в модифицированной среде DMEM/F12 с добавлением ростовых факторов, 10% фетальной бычьей сыворотки и антибиотиков в течение 30 суток с концентрацией BDNF 100нг/мл. Контрольные эксплантаты культивировались в среде без BDNF.

В течение первой недели культивирования эксплантаты не прикреплялись к пластику и формировали замкнутые на себя структуры, обращенные фоторецепторами во внешнюю среду. На 7-е сутки инкубации как в присутствии BDNF, так и в контроле эксплантаты начинали оседать на пластик. Позже наблюдалось выселение клеток и расселение их за зону эксплантата. В присутствии BDNF преимущественно выселялись нейроны и глиальные клетки, а в контроле - только глиальные. При воздействии BDNF нейроны формировали длинные ветвящиеся отростки, иногда собранные в крупные пучки. В контроле отростки были немногочисленны и не ветвились.

На 30-е сутки эксплантаты фиксировали в 4% формалине и окрашивали антителами к маркерам глиальных (глиальный кислый фибриллярный белок- GFAP) и нейрональных (β -III-тубулин) клеток. Большинство клеток эксплантатов экспрессировали одновременно и GFAP и β -III-тубулин. Лишь в случае культивирования с BDNF в эксплантатах сетчатки крыс формировались отдельные β -III-тубулин положительные нейроны, не окрашенные антителами к GFAP. В эксплантатах сетчатки человека после воздействия BDNF мы обнаружили β -III-тубулин положительные длинные разветвленные нейриты, в некоторых случаях формирующие крупные пучки.

Таким образом, была показана способность эксплантационных культур сетчатки человека и крысы реагировать на нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) усилением процессов дифференцировки нейрональных клеток, сопровождающейся формированием длинных ветвящихся нейритов.

1. Avwenagha O., et al. The outgrowth response of the axons of developing and regenerating rat retinal ganglion cells *in vitro* to neurotrophin treatment. //J. Neurocytol. 2003. V.32. P.1055–1075.
2. Seigel G.M. The golden age of retinal cell culture. //M. Vision. 1999. V.5. P.1-10
3. Takano M., et al. Brain-derived neurotrophic factor enhances neurite regeneration from retinal ganglion cells in aged human retina *in vitro*. //Exp. Eye. Res. 2002. V.74. P.319-323.

¹Авторы глубоко признательны Семеновой Марии Львовне за помощь в написании тезисов и Сабуриной Ирине Николаевне за ценные методические рекомендации.