

**Нейропротекторный эффект факторов плацентарного происхождения на клетки головного мозга новорожденных крыс в модели глутамат-индуцированной токсичности**

О.В. Чуб, М.В. Шевченко, В.Ю. Прокопюк

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

**Neuroprotective Effect of Placental Factors in Model of Glutamate Induced Toxicity in Newborn Rat Brain Cells**

O.V. Chub, M.V. Shevchenko, V.Yu. Prokopyuk

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

Глутамат-опосредованная токсичность является одним из механизмов повреждения нейронов при различных заболеваниях, в частности ишемии, травмах головного мозга и нейродегенеративных патологиях [Coyle J.T., Puttfarcken P., 1993]. Ранее было показано нейропротекторное действие эстрогена, мезенхимальных стволовых клеток, жировой ткани, экстракта плаценты на нейроны, состоящее в сокращении количества поврежденных клеток головного мозга в результате токсического инсульта [Brinton R.D. *et al.*, 2000].

Целью работы явилось изучение влияния факторов плацентарного происхождения на метаболическую активность клеток головного мозга новорожденных крыс в модели глутамат-индуцированной токсичности.

В работе использовали модель глутамат-индуцированной токсичности клеток головного мозга (КГМ) новорожденных крыс. Клетки повреждали путем инкубации с 10 мМ глутамата в течение суток. До и после инкубации с глутаматом КГМ культивировали в среде DMEM, кондиционированной с факторами плацентарного происхождения (ФПП): мезенхимальными стволовыми клетками плаценты, эксплантом плаценты (50 мг эксплантов плаценты инкубировали в 10 мл среды DMEM в течение суток) или обогащенным 10% экстрактом плаценты (гомогенизировали ткань плаценты в 0,9% NaCl (1:2) и центрифугировали при 7 000g в течение 10 мин). В другой серии экспериментов компоненты сред инактивировали нагреванием в течение 10 мин при 95°C. Метаболическую активность клеток оценивали по МТТ-тесту. Контролем были клетки, которые культивировали в среде DMEM без добавок.

После инкубации КГМ с глутаматом метаболическая активность клеток составляла ~20% от контроля. При культивировании в средах с ФПП метаболическая активность нативных клеток увеличивалась на 20–30%. При культивировании сред с ФПП до обработки клеток глутаматом отмечалось значительное нейропротекторное действие, метаболическая активность восстанавливалась до 60–95%. Культивирование с ФПП после обработки глутаматом приводило к восстановлению метаболической активности до 40–43%, т. е. нейропротекторное действие было менее выраженным. Инактивированные нагреванием среды с ФПП не оказывали влияния на метаболическую активность как нативных КГМ, так и в модели глутамат-индуцированной токсичности.

Таким образом, среды с ФПП характеризуются нейропротекторным и терапевтическим действием. Более эффективным является применение сред с ФПП до повреждающего действия глутамата. Факторы плацентарного происхождения, характеризующиеся нейропротекторным действием, являются термолabile.

Glutamate-mediated toxicity is an important mechanism of neuronal death in various pathologic conditions including ischemia, trauma, and neurodegenerative disorders [Coyle J.T., Puttfarcken P., 1993]. Estrogen, mesenchymal stem cells, adipose tissue, placental extract on neurons rendered neuroprotective effects, consisting in decreased number of damaged brain cells following toxic insult [Brinton R.D. *et al.*, 2000].

The research aim was to study the influence of placental factors on metabolic activity of newborn rat brain cells in the model of glutamate-induced toxicity.

We used a model of glutamate-induced toxicity of newborn rat brain cells (BCs) in the research. The BCs were incubated with 10 mM glutamate for 1 day. Prior to and after incubation with glutamate the BCs were cultured in DMEM conditioned with placental factors (PFs), *i. e.* placental mesenchymal cells, placental explants (50 mg of placental explants were incubated with 10 ml of DMEM for 1 day) or the medium enriched with 10% placental extract (placental tissue was homogenized with 0.9% NaCl (1:2) and centrifuged at 7000 g for 10 min). In other experiments the medium components were inactivated by heating for 10 min at 95°C. Metabolic activity of the cells was assessed using MTT assay. The cells cultured in DMEM without additives were used as the control.

After incubation of the BCs with glutamate a metabolic activity of the cells was about 20% of the control. When culturing in the media with PFs the metabolic activity of native cells increased by 20–30%. When culturing the media with PFs prior to glutamate treatment there was observed a significant neuroprotective effect, metabolic activity was recovered up to 60–95%. Culturing with PFs after glutamate treatment resulted into recovery of metabolic activity up to 40–43%, *i. e.* neuroprotective effect was less expressed. Heat-inactivated media with PFs did not affect metabolic activity of both native BCs and in the model of glutamate-induced toxicity.

Thus the media with PFs are characterised by neuroprotective and therapeutic effect. Application of media with PFs was more effective prior to damaging effect of glutamate. Placental factors possessing a neuroprotective effect are thermolabile.

