

Коротков О.С.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАИБОЛЕЕ ЭФФЕКТИВНОГО ИСТОЧНИКА ПОЛУЧЕНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

*Научные руководители: канд.биол. наук, доц. Толстой В. А.,
науч. сотр. лаборатории клеточных биотехнологий МНПЦ ХТиГ
Примакова Е. А.*

Кафедра биологии

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск
Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии*

Актуальность. Открытие стволовых клеток считается одним из величайших достижений учёных в области биологии наравне с установлением структуры ДНК и расшифровкой человеческого генома. Вследствие их способности к дифференцировке в различные клеточные линии, стволовые клетки по сей день являются предметом исследований для оценки возможности их применения в терапии различных заболеваний. В настоящее время выделяют несколько типов стволовых клеток в зависимости от источника их получения. В данной работе проводилось сравнение мезенхимальных стволовых клеток (МСК), полученных из различных источников.

Цель: определить наиболее эффективный источник получения МСК.

Материалы и методы. В исследовании проводилось изучение МСК различных анатомических зон (n=16): жировой ткани (ЖТ) параумбиликальной (n=4) и паранефральной (n=4) локализации, большого сальника (n=4), а также стромы костного мозга (n=4). Выделение МСК из костного мозга проводили на градиенте плотности Histopaque-1,077 (Sigma-Aldrich, Германия). Выделение и культивирование МСК из жировой ткани большого сальника выполнялось согласно действующим протоколам: клетки, полученные после ферментативной обработки ткани и центрифугирования, высевались в культуральные флаконы и выращивались в среде DMEM-LG (Gibco, UK) в CO₂-инкубаторе (+37°C, 5% CO₂, 90% влажность). Для подтверждения принадлежности культивируемых клеток к мезенхимальным стволовым клеткам был применён метод проточной цитофлуориметрии, а также метод инвертированной микроскопии с использованием фазового контраста.

Результаты и их обсуждение. В ходе исследований было установлено, что МСК ЖТ параумбиликальной и паранефральной локализации, а также МСК, полученные из костного мозга, имели аналогичную веретеновидную, фибробластоподобную морфологию. При культивировании образцов, полученных из большого сальника, помимо МСК выделялись также клетки мезотелия, поэтому сравнение данных образцов на предмет пролиферативной активности не проводилось. Суммарное время культивирования МСК из различных источников оказалось сопоставимым (37,5±5,5 дней). Однако следует отметить, что продолжительность культивирования на этапе P₀-P₁ (первичная культура) МСК ЖТ параумбиликальной локализации составила в среднем 18 дней; на следующих пассажах время культивирования соответствовало аналогичному для МСК ЖТ паранефральной локализации и МСК костного мозга. При сравнении количества клеток, полученных на различных пассажах, было установлено, что пролиферативный потенциал МСК ЖТ параумбиликальной локализации после третьего пассажа превышал аналогичный показатель для МСК ЖТ паранефральной локализации и МСК костного мозга в 3,6 и 4,2 раза соответственно.

Выводы. Наиболее эффективным источником для получения МСК является жировая ткань параумбиликальной локализации. МСК, полученные из данной анатомической зоны, характеризовались наибольшей пролиферативной активностью при сопоставимых сроках культивирования по сравнению с культурами из других источников. Жировая ткань паранефральной локализации и строма костного мозга также являются пригодными для получения МСК, однако клетки, полученные из данных источников, обладают несколько меньшей пролиферативной активностью. Использование большого сальника в качестве источника МСК нецелесообразно ввиду наличия значительной примеси мезотелиальных клеток.