

Особенности экспрессии гладкомышечных маркеров мезенхимальными стволовыми клетками жировой ткани человека

Кулинич Светлана Степановна

Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск

Научный(-е) руководитель(-и) – доктор медицинских наук, профессор Гаин Юрий

Михайлович, Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск

Введение

На сегодняшний день в клеточных технологиях активно разрабатываются методы направленной дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток (МСК) в гладкомышечные клетки (ГМК) с целью их использования для восстановления структурно-функциональной целостности гладкомышечной ткани. При этом вопросы, связанные с противоречивыми данными об экспрессии миоспецифических маркеров в интактных МСК, остаются не решенными.

Цель исследования

Оценить экспрессию гладкомышечных маркеров и сократительный ответ под действием карбахола МСК жировой ткани человека.

Материалы и методы

МСК выделены в ходе ферментативной дезагрегации жировой ткани под действием коллагеназы I типа. Оценку экспрессии маркеров ГМК в МСК (трансгелин, кальпонин, миокардин, гладкомышечный α -актин и тяжелые цепи миозина гладких мышц, α -актинин) проводили методом иммуноцитохимии и полимеразной цепной реакции. В качестве контрольной культуры выступали ГМК толстого кишечника. Сократительный ответ МСК на действие активатора ацетилхолиновых рецепторов оценивали при инкубации с карбахолом (10-5 М).

Результаты

Забор материала, после подписания информированного согласия доноров, осуществлялся в ходе проведения абдонопластики (жировая ткань) или резекции толстой кишки в плановом порядке по поводу колоректального рака (гладкомышечная ткань). В МСК, полученных из жировой ткани человека, выявлена экспрессия мРНК гладкомышечного α -актина, десмина и α -актинина, тогда как в гладкомышечной ткани экспрессировались все исследуемые миоспецифические гены. Синтез белков цитоскелета (гладкомышечного α -актина, десмина и α -актинина) в МСК подтверждался при иммунопероксидазном окрашивании клеток. Исследование влияния карбахола (10-5 мМ) на морфологию интактных МСК показало, что культивирование клеток в присутствии активатора ацетилхолиновых рецепторов в течение 5 минут приводило к значительному уменьшению длины клеточных отростков и, соответственно, площади поверхности, занимаемой клеткой. Сократительный ответ был обратим. При удалении карбахола из среды, морфология клеток восстанавливалась. Сократительный ответ интактных МСК может быть обусловлен наличием рецепторов к ацетилхолину на мембране клеток. Так, в последние годы в научных публикации появляются сообщения об экспрессии на поверхности интактных МСК М- и Н-холинорецепторов (Tang J.M. и соавт., 2012, Pillozzi S. и соавт., 2012).

Выводы

Мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани человека характеризуются экспрессией гладкомышечного α -актина, десмина и α -актинина как на генетическом уровне, так и на уровне синтеза белка. Интактные мезенхимальные стволовые клетки отвечают на действие активаторов ацетилхолиновых рецепторов обратимым сокращением.