

Разработка метода формирования клеточных пластов из мезенхимных стромальных клеток жировой ткани для использования в терапевтических целях

Дусь Татьяна Анатольевна

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия

E-mail: d-tanek@mail.ru

Введение. Благодаря высокой паракринной активности, способности к дифференцировке и доступности мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани (МСК ЖТ) являются перспективным материалом для стимуляции регенерации и ангиогенеза. Однако клинические исследования, в которых использовалась инъекция суспензии МСК ЖТ, показали низкую эффективность. Возможными причинами служат апоптоз клеток в ответ на утрату взаимодействия с матриксом при образовании суспензии (аноикис), а также гибель клеток при прохождении через иглу в момент введения. Альтернативным является метод трансплантации клеток в составе клеточных пластов, состоящих из МСК ЖТ и наработанного ими матрикса.

Цель: разработка метода получения и снятия клеточных пластов из МСК ЖТ мыши и человека.

Материалы и методы. В работе использовались МСК ЖТ мыши и человека, выделенные из ткани протеолитическим способом. Мышиные и человеческие МСК ЖТ культивировались на чашках Петри в увлажняемом инкубаторе при стандартных условиях, по достижении 4-5 пассажа снимались трипсином, ресуспендировали и высаживали на 12-луночные культуральные планшеты в количествах 0,2-0,3-0,5-0,8-1,0-1,5 млн клеток на лунку. После 48 ч инкубации производили снятие образовавшихся клеточных пластов: после отбора среды клеточные пласты промывали фосфатно-солевым буфером (ФСБ) 0,1M рН = 7,4, раствором Версена, затем обрабатывали раствором трипсина/ЭДТА, который отбирался по прошествии 10 сек., а на лунки добавлялось 3 мл ФСБ. После этого клеточный пласт очерчивался по контуру одноразовым носиком для пипетки и аккуратно снимался им же.

Результаты: был отработан метод генерирования клеточных пластов из МСК ЖТ человека и мыши. Было показано, что клеточные пласты могут быть получены при использовании высокой плотности (> 1 млн и > 500 тыс клеток/лунку для МСК ЖТ мыши и человека соответственно) в течение 48-72 ч, после чего они могут быть сняты с помощью минимальной обработки пластов трипсином. Также установлено, что клеточные пласты (на поперечном срезе) имеют толщину порядка 70-75 мкм и представляют собой многослойные конструкции (4-6 слоев клеток) при окраске ядер. Полученные клеточные пласты из МСК ЖТ мыши могут в дальнейшем использоваться для опытов на животных с ишемией конечности, инфарктом миокарда, повреждением кожных покровов.

Выводы: полученные клеточные пласты МСК ЖТ мыши и человека представляет собой клеточный биоматериал, обладающий паракринной активностью и способностью к дифференцировке. Клеточные пласты из МСК ЖТ мыши пригодны к трансплантации животным, что может быть использовано в эксперименте для стимуляции ангиогенеза в зонах ишемических повреждений при повреждении кожи, инфаркте миокарда, ишемии конечности. Кроме того, клеточные пласты, положенные один на другой могут служить

для создания клеточных конструкций, которые могут быть использованы для компенсации при потере ткани, например в случае ожога или язвенного дефекта.

Слова благодарности

Автор выражает благодарность научному руководителю П.И. Макаревичу за помощь в проведении научной работы