

ПОЛУЧЕНИЕ И ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КУЛЬТУРЫ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА ИЗ ЭНДОМЕТРИЯ

Полешко А.Г., Пинчук С.В., Мисюкевич А.Ю., Тишук О.И.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Известно, что эндометрий, будучи активно регенерирующей тканью, богат гетерогенной популяцией резидентных клеток со свойствами стволовых, которые в основном локализованы в его базальном слое и обеспечивают восстановление функционального слоя эндометрия, сформированного железистым эпителием и стромой, после физиологической циклической десквамации в конце лютеиновой фазы. Эндометриальные стволовые клетки мезенхимально-стромальной природы в условиях культуры пролиферативно активны, мультипотентны и способны к колониеобразованию, обладают паракринной и иммуномодулирующей активностью, что определяет их терапевтический потенциал. В связи с этим актуальным является подобрать оптимальный протокол получения мезенхимальных стромальных клеток из эндометрия (эМСК) *in vitro* и охарактеризовать их в культуре, полученной в пассажах.

Биопсийный материал нормального неизмененного эндометрия ($n = 3$) секреторной фазы, полученный с использованием урогенитального зонда типа Пайпель с информированного согласия донора, в стерильной транспортной среде с добавлением антибиотиков транспортировали в лабораторию в течение не более часа. Далее в условиях ламинарного бокса биоптат обрабатывали коллагеназой 4-го типа и проводили выделение из него эМСК по общепринятому протоколу [1] с модификациями. Полученные клетки помещали в культуральные флаконы из расчета 500 на 1 см^2 площади флакона и культивировали в стандартных условиях (37°C , 5% CO_2 , влажность 100%) в ростовой среде (DMEM/F12, 10% фетальной бычьей сыворотки, 2 мМ глутамина, 1% смеси антибиотиков-антимикотиков) с полной ее заменой каждые 3 сут до образования 80% конфлюэнтного монослоя. Клетки пассировали с использованием 0,25% раствора трипсин-ЭДТА. Следует отметить, что полученные в культуре клетки 2-3 пассажа хорошо адгезировали к культуральному пластику, имели правильную веретеновидную форму и имели размер меньший, чем МСК из жировой ткани. Фенотипирование с использованием проточной цитофлуориметрии показало, что в полученной популяции 99% клеток экспрессировали CD29, CD44, CD73, 80% - CD90, 95% - CD105, при этом не более 1% клеток экспрессировало маркеры гемопоэтических клеток: CD34, CD45 и HLADR. Культивированные эМСК (92%) также коэкспрессировали периваскулярный фактор CD146, интегрин $\alpha\text{V}\beta 3$. Стоит отметить, что 35% клеток в популяции экспрессировало специфический маркер высококлоногенных стволовых МСК эндометрия – белок SUSD2. Это подтверждает принадлежность полученных в культуре клеток к мезенхимальным мультипотентным стромальным стволовым и демонстрирует гомогенность полученных первичных клеточных культур. Тестирование на микробиологическую чистоту и стерильность выделенных и культивированных клеток показало полное отсутствие в системе культивирования аэробных и анаэробных бактерий и микоплазменной инфекции. Что доказывает пригодность использованных условий забора биопсийного материала и способов его процессинга в лаборатории для получения стерильных культур аутологичных МСК эндометрия с целью приготовления на их основе биомедицинского клеточного продукта.

Библиографические ссылки

1. Cervello I., Mas A., Gil-Sanchis C. et al. Reconstruction of endometrium from human endometrial side population cell lines // PLoS ONE. 2011. Vol. 6(6). e21221.