

ПОЛУЧЕНИЕ ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ПАРАТИРОЦИТОВ

Ткалич Е.С.¹, Позняк Т.А.¹, Ширвель Д.Ю.¹, Большов А.В.², Третьяк С.И.²,
Гончаров А.Е.¹

¹Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Введение. Лечение послеоперационного гипопаратиреоза является немаловажной проблемой эндокринологии. Гипопаратиреоз представляет собой эндокринное заболевание, которое сопровождается дефицитом паратиреоидного гормона, что приводит к гипокальциемии и, в ряде случаев, к гиперфосфатемии и гиперкальциурии. Существует множество научных публикаций, описывающих результаты экспериментальных и клинических исследований, которые направлены на разработку новых технологий лечения гипопаратиреоза. Наиболее перспективными в настоящее время являются исследования в области применения биомедицинских клеточных продуктов (БМКП) в регенеративной медицине, в том числе на основе паратириоцитов (ПТ) [1, 2].

Цель работы: подобрать оптимальные условия транспортировки образцов паращитовидной железы (ПЩЖ), получения и культивирования первичной культуры ПТ.

Материалы и методы. Донорами биоптата ПЩЖ являлись пациенты с гиперфункцией ПЩЖ, которым проводили паратиреоидэктомию по медицинским показаниям. От каждого донора получали фрагмент ПЩЖ, размером от 5-12±3 мм³. Для получения первичной культуры клеток применяли метод эксплантов или метод гомогенизации с помощью автоматического диссоциатора (MiltenyiBiote, Германия). Были проведены сравнительные эксперименты по подбору оптимальной питательной среды для культивирования, типа сыворотки (пулированная АВ0-сыворотка крови человека или эмбриональная сыворотка крупного рогатого скота) и ее концентраций (10-30%).

Для метода эксплантов образцы ткани мелко измельчали скальпелем, а при методе гомогенизации – получали суспензию клеток, используя диссоциатор. Далее образец в питательной среде DMEM/F12 (Biowest, Франция) с добавлением различных компонентов помещали в планшеты для адгезивных культур и культивировали в СО₂-инкубаторе (5% СО₂) при +37 °С и влажности 95%. Контроль роста популяции клеток осуществляли методом фазово-контрастной микроскопии. Фенотипические особенности клеток определяли методом визуальной проточной цитометрии.

Результаты и их обсуждение. Подобраны оптимальные условия и время транспортировки биоптата для получения БМКП: в стерильном фосфатном буферном растворе Дульбекко с добавлением антибиотиков при температуре +4±2 °С в течение не более 6 ч. Установлено, что при использовании метода эксплантов клетки проявляют большую пролиферативную активность, по сравнению с методом гомогенизации. Методом фазово-контрастной микроскопии установлено, что полученная первичная культура состояла из клеток двух типов: крупных фибробластоподобных с маленьким ядром и клеток небольшого размера округлой формы с четкими краями. Методом визуальной проточной цитометрии установлено, что полученная популяция содержит клетки CD326⁺, CD105⁺, CD31⁺, CD90⁺, CD45⁺.

Библиографические ссылки

1. Clarke B.L. et al. Epidemiology and diagnosis of hypoparathyroidism // The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 2016. Vol. 101. P. 2284–2299.
2. Li M.D., Atkins H., Bubela T. The global landscape of stem cell clinical trials // Regenerative medicine. 2014. Vol. 9. P. 27–39.