

ХАРАКТЕРИСТИКА ВЛИЯНИЯ МСК ПУПОВИНЫ, КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ПРИ 35 °С, НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ Т-ЛИМФОЦИТОВ

В. И. Малахов, А. В. Максимович, Н. В. Гончарова

РНПЦ трансфизиологии и медицинских биотехнологий, Минск, Беларусь

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) с 1995 года являются основой клеточной терапии многих аутоиммунных и воспалительно-дегенеративных заболеваний человека. МСК оказывают паракринное действие, моделируя функционирование других типов клеток, например, клеток иммунной системы.

Цель исследования: изучить влияние МСК пуповины, культивируемых при 35 °С, на Т-лимфоциты периферической крови человека.

Материалы и методы. В первой исследуемой группе МСК пуповины человека культивировали при стандартных условиях в питательной среде (ПС) α -МЕМ с 10% АВ(IV) сывороткой человека, в атмосфере 5% CO₂ при влажности 95% и температуре 37 °С до достижения конfluence 80%. Второй исследуемой группой были МСК, культивированные в условиях пониженной температуры (35 °С). Мононуклеары выделяли из периферической крови здоровых доноров по стандартной методике на градиенте плотности Lymphocyte Separation Medium, 1,077 г/мл, LTSM100. Стимуляцию Т-лимфоцитов производили внесением ФГА в концентрации 1 мкг/мл и сокультивированием с исследуемыми группами МСК в течение 72 ч при температуре 37 °С. Пролиферативную активность CD3⁺ Т-лимфоцитов оценивали по включению флуоресцентной метки CFSE, концентрация в рабочем растворе – 5 мкМ.

Аналитическая цитометрия проводилась на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II, программное обеспечение FACSDiva v. 7.0. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием программного пакета STATISTICA 10.

Результаты и их обсуждение. Оценивали пролиферацию Т-лимфоцитов, индуцированную ФГА, при сокультивировании с МСК двух групп. Для первой группы, количество пролиферирующих Т-лимфоцитов (CFSE-положительных) составило 24,56±5,65% (n=5). Для второй группы количество пролиферирующих Т-лимфоцитов составило 21,62±13,50% (n=5).

Для контрольной группы Т-лимфоцитов, культивировавшихся в отсутствие МСК, количество пролиферирующих клеток, составило 64,46±25,56% (n=5).

Были выявлены статистически значимые различия между пролиферацией Т-лимфоцитов в обеих исследуемых группах по сравнению с контрольной группой Т-лимфоцитов. Для первой группы наблюдалось статистически значимое (p=0,011) снижение количества пролиферирующих Т-лимфоцитов относительно контроля. Для второй группы наблюдалась аналогичная ситуация при p=0,009. Таким образом МСК в обеих группах обладали высокой способностью к подавлению пролиферации Т-лимфоцитов.

При сравнении способности подавлять пролиферацию Т-лимфоцитов между исследуемыми группами статистически значимых отличий не обнаружено (p=0,665). Таким образом культивирование МСК при пониженной температуре не оказывает значительного влияния на их способность подавлять пролиферацию Т-лимфоцитов.

Заключение. МСК пуповины обладают выраженной способностью к подавлению пролиферативной активности Т-лимфоцитов. Культивирование МСК при 35 °С не оказывает значительного влияния на их способность к подавлению пролиферации Т-лимфоцитов.