

ИММУНОФЕНОТИП МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ ПАЦИЕНТОВ С СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Учасова Е.Г., Дылева Ю.А., Белик Е.В., Матвеева В.Г., Гусев С.М., Груздева О.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия

ВВЕДЕНИЕ

Благодаря набору уникальных свойств, например, способности дифференцироваться в различные типы клеток соединительной ткани, мезенхимальные стволовые клетки (МСК) привлекают всё больше внимание исследователей. В 2001 г. в стромально-васкулярной фракции жировой ткани обнаружили стволовые клетки, которые, в отличие от МСК костного мозга, демонстрируют более высокую плотность в ткани, быстрее растут и доступны в большом количестве при сборе из небольшого объёма жировой ткани. В настоящее время большое количество исследований посвящены изучению морфологии и иммунофенотипа подкожных и висцеральных стволовых клеток жировой ткани (СКЖТ) из-за возможности лёгкого получения клеток. Экспериментальных работ, направленных на изучение МСК кардиальной локализации, в настоящее время недостаточно.

ЦЕЛЬ

Оценить иммунофенотип стромальных клеток жировой ткани, выделенных из жировых депо эпикардиальной и периваскулярной области у пациентов с ишемической болезнью сердца и приобретёнными пороками сердца.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 5 пациентов с ишемической болезнью сердца и 5 пациентов с приобретёнными пороками сердца. Средний возраст – $64,5 \pm 2,5$ года. Все пациенты имели показания для проведения открытого вмешательства на сердце – прямой реваскуляризации миокарда методом коронарного шунтирования (КШ) или операции на клапанах сердца. СКЖТ из биоптатов ЖТ подкожной, эпикардиальной и периваскулярной локализации (3–5 г) были получены у пациентов во время оперативного вмешательства (КШ или коррекции пороков сердца) и выделены по методике Zeng G. et al. (2013). Когда клетки вырастали до 80–90 % слияния, их расщепляли

0,25%-м трипсином и подвергали непрерывному росту и пролиферации клеток для последующих экспериментальных анализов. Анализ проточной цитометрии выполняли на клетках 2-го пассажа.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные результаты показали, что культура МСК 2-го пассажа характеризовалась повышенной экспрессией антигенов CD73, CD90, CD105. Примерно 90 % клеток 2-го пассажа, полученных из эпикардиальной жировой ткани (ЭЖТ) и периваскулярной жировой ткани (ПВЖТ) пациента с ишемической болезнью сердца (ИБС), экспрессировали классические маркеры МСК (CD73, CD90, CD105). В культуре клеток ЭЖТ у пациента с приобретёнными пороками сердца (ППС) мы наблюдали более низкий уровень совместной экспрессии основных маркеров стволовых клеток, в отличие от пациента с ИБС (CD90 и CD105 – около 61 % клеток, CD90 и CD73 – 58,72 %). Процентное содержание изучаемых стволовых маркеров на клетках, выделенных из ПВЖТ у пациента с пороком сердца, существенно не отличалось от уровня экспрессии этих маркеров у пациента с ИБС. Уровень экспрессии CD34 варьировал в зависимости от локализации ЖТ и заболевания: так, у пациентов с ИБС уровень CD34 не превышал 3,5 % как в эпикардиальной, так и в периваскулярной ЖТ. При этом в эпикардиальной жировой ткани у пациента с ППС обнаружен более высокий процент CD34 (32,32 %). Стоит отметить, что, кроме основной популяции, как в культуре ЭЖТ, так и в ПВЖТ присутствовали две минорные: 1-я – CD90⁻ CD105⁺ CD34^{-/+} CD73⁺ – предположительно эндотелиальная популяция; 2-я – CD90⁺ CD105⁻ CD34⁻ CD73⁻ – самая малочисленная популяция.

ВЫВОД

На ранних сроках культивирования клетки стромально-васкулярной фракции, выделенные из эпикардиальной и периваскулярной жировой ткани, экспрессируют поверхностные маркеры, характерные для стволовых клеток жировой ткани.

IMMUNOPHENOTYPE OF MESENCHYMAL STEM CELLS FROM ADIPOSE TISSUE OF PATIENTS WITH CARDIOVASCULAR DISEASES

Uchasova E.G., Dyleva Yu.A., Belik E.V., Matveeva V.G., Gusev S.M., Gruzdeva O.V.

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia

BACKGROUND

Due to a set of unique properties, for example, the ability to differentiate into different types of connective tissue cells, mesenchymal stem cells (MSCs) are attracting more and more attention from researchers. In 2001, stem cells were found in the stromal-vascular fraction of adipose tissue, which, unlike bone marrow MSCs, show a higher tissue density, grow faster, and are available in large numbers when collected from a small amount of adipose tissue. Currently, a large number of studies are devoted to the study of the morphology and immunophenotype of subcutaneous and visceral adipose-derived stem cells due to the possibility of easy cell production. Experimental work aimed at studying MSCs of cardiac localization is currently insufficient.

THE AIM

To evaluate the immunophenotype of adipose tissue stromal cells isolated from epicardial and perivascular fat depots in patients with coronary heart disease and acquired heart defects.

MATERIALS AND METHODS

The study included 5 patients with ischemic heart disease and 5 with acquired heart disease. The average age was 64.5 ± 2.5 years. All patients had indications for open heart intervention – direct myocardial revascularization by coronary artery bypass grafting or heart valve surgery. Adipose-derived stem cells from subcutaneous, epicardial and perivascular adipose tissue biopsies (3–5 years) obtained from patients during surgery (coronary artery bypass grafting or correction of heart defects) and isolated according to the method of Zeng G. et al., 2013. When cells grew to 80–90 % confluence, they were digested with 0.25 % trypsin and subjected to continuous cell growth and proliferation for subsequent experimen-

tal analyses. Flow cytometry analysis was performed on passage 2 cells.

RESULTS

The obtained results showed that the MSC culture of the passage 2 was characterized by increased expression of CD73, CD90, CD105 antigens. Approximately 90 % of passage 2 cells derived from epicardial adipose tissue and perivascular adipose tissue from a patient with coronary heart disease expressed classical MSC markers (CD73, CD90, CD105). In epicardial adipose tissue cell culture in a patient with acquired heart disease, we observed a lower level of co-expression of the main markers of stem cells, in contrast to a patient with coronary heart disease (CD90 and CD105 about 61 % of cells, and CD90 and CD73 – 58.72 %). The percentage of the studied stem markers on cells isolated from perivascular adipose tissue in a patient with heart disease did not differ significantly from the level of expression of these markers in a patient with coronary artery disease. The level of CD34 expression varied depending on the localization of adipose tissue and the disease: thus, in patients with coronary artery disease, the level of CD34 did not exceed 3.5 % in both epicardial and perivascular adipose tissue. At the same time, a higher percentage of CD34 (32.32 %) was found in the epicardial adipose tissue of a patient with acquired heart disease. It should be noted that in addition to the main population, both in the epicardial adipose tissue culture and in the perivascular adipose tissue, there were 2 minor ones: 1 – CD90– CD105+ CD34–/+ CD73+ – presumably endothelial population; 2 – CD90+ CD105– CD34– CD73– – the smallest population.

CONCLUSION

In the early stages of cultivation, cells of the stromal-vascular fraction isolated from epicardial and perivascular adipose tissue express surface markers characteristic of adipose tissue stem cells.

Для цитирования: Учасова Е.Г., Дылева Ю.А., Белик Е.В., Матвеева В.Г., Гусев С.М., Груздева О.В. Иммунофенотип мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. *Байкальский медицинский журнал*. 2023; 2(3): 110-111. doi: 10.57256/2949-0715-2023-2-3-110-111

For citation: Uchasova E.G., Dyleva Yu.A., Belik E.V., Matveeva V.G., Gusev S.M., Gruzdeva O.V. Immunophenotype of mesenchymal stem cells from adipose tissue of patients with cardiovascular diseases. *Baikal Medical Journal*. 2023; 2(3): 110-111. doi: 10.57256/2949-0715-2023-2-3-110-111