

## Adenohipofīzes adenomu multipotentu mezenhimāli stromālo šūnu funkcionālais raksturojums

Kaspars Megnis<sup>1</sup>, Ilona Mandriķa<sup>1</sup>, Inga Balcere<sup>2</sup>,  
Olīvija Caune<sup>2</sup>, Andra Valtere<sup>2</sup>, Ilze Konrāde<sup>2</sup>, Jurijs Nazarovs<sup>3</sup>,  
Jānis Stukēns<sup>3</sup>, Valdis Pīrāgs<sup>3</sup>, Jānis Kloviņš<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs

<sup>2</sup> Rīgas Austrumu klīniskā universitātes slimnīca, Latvija

<sup>3</sup> Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca, Latvija

**Ievads.** Adenohipofīzes adenomas ir labdabīgi intrakraniāli endokrīno audu audzēji. Vidēji pasaulē tās ir sastopamas 14,4–22,5 % cilvēku, taču lielākā daļa no tām ir subklīniskas (Asa and Ezzat, 2016). Lai gan ir pierādīts, ka hipofīzes adenomas pēc izcelsmes ir monoklonālas (Dworakowska and Grossman, 2009), to sastāvā tomēr ir novērojami vairāki dažādi multipotentu šūnu tipi, kas, iespējams, varētu būt iesaistīti adenomu iniciēšanā, attīstībā un recidīvu veidošanā.

**Darba mērķis, materiāls un metodes.** Darba mērķis bija izolēt un raksturot adenohipofīzes adenomu sastāvā esošās šūnas. Adenohipofīzes adenomu audu paraugi un pacientu klīniskā informācija tika iegūta sadarbībā ar Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas Endokrinoloģijas centru. Audu paraugi tika sasmalcināti ar skalpeli, skaloti ar antibiotikas saturošu DMEM barotni, dezintegrēti pipetējot un enzimatiski apstrādāti ar aktutāzi. Iegūtās šūnas tika audzētas DMEM-F12 barotnēs ar pievienotu 1 % L-glutamīnu, 10 % liellopa serumu, 1 % ITS universālo šūnu barotņu piedevu un 0,5 % Primocīnu™. Šūnas piestiprinājās pie šūnu kultūru audzēšanas plates 24 h laikā, un eksperimentiem tika izmantotas šūnas, sākot ar trešo pasāžu. Šūnu kultūras tika iegūtas no divām nehormonālām, divām somatotrofām un trīs laktotrofām makroadenomām. Šūnu proliferācija tika analizēta, izmantojot *Cell Counting Kit-8* (Sigma-Aldrich, ASV). Šūnu hormonālais profils tika analizēts, tās inkubējot 6 h barotnē ar pievienotu somatoliberīnu vai tiroliberīnu un imunohistoķīmiski pārbaudot augšanas hormona un prolaktīna klātbūtni šūnā pirms un pēc inkubācijas. RNS no šūnu un audu paraugiem tika izolēta ar mirVana™ miRNA izolēšanas reaģentu komplektu (Thermo Fisher Scientific, ASV), un reālā laika PCR gēniem SSTR1, SSTR2, SSTR3, SSTR4, SSTR5, DRD2, PROP1, PITX1, ISL1, POU1F1, SOX2 un YWHAZ tika veikts, izmantojot TaqMan® gēnu ekspresijas testus (Thermo Fisher Scientific, ASV). CD90, CD105, CD44, CD34, CD45 un HLA-DR ekspresija šūnās tika analizēta ar plūsmas citometriju. Adipogēnajai un osteogēnajai diferenciacijai tika izmantoti adipogēnie modulatori un osteogēnās diferenciacijas reaģentu komplekts (PromoCell, Vācija).

**Rezultāti.** Lai gan iegūtās šūnas sākotnēji uzrādīja epiteliālām šūnām raksturīgu morfoloģiju, turpmāka kultūru pasažēšana rezultējās homogēnas adherentu šūnu populācijas izveidē ar fibroblastiem raksturīgu morfoloģiju. Šūnu kultūras, kas tika iegūtas no dažāda tipa adenomām, neuzrādīja vērā ņemamas atšķirības attiecībā uz šūnu morfoloģiju un proliferāciju. Tajās netika novērota adenohipofīzes hormonu ekspresija. Tās neuzrādīja nekādu hormonālu reakciju uz hipotalāma faktoriem – somatoliberīnu un tiroliberīnu, kā arī parenhimālo šūnu marķieru (PROP1, PITX1, ISL1, POU1F1) mRNS ekspresija tajās bija ievērojami zemāka nekā atbilstošajos audu paraugos. Šūnu kultūrās tika novērota mezenhimālo cilmes šūnu marķieru (CD90, CD105, CD44) ekspresija, savukārt CD34, CD45 un HLA-DR ekspresijas rezultāti bija negatīvi. Analizētās šūnu kultūras uzrādīja spēju diferencēties par adipocītiem un osteoblastiem.

**Secinājumi.** Pētījuma rezultāti rāda, ka adenohipofīzes adenomu sastāvā ietilpst multipotentas mezenhimālas stromālās šūnas, kas ir spējīgas augt standarta laboratorijas šūnu kultūru apstākļos. To klātbūtne adenomā nav saistīta ar pacienta vecumu vai adenomas klīniskajām izpausmēm. Tās neizrāda ne adenohipofīzes hormonālajām šūnām raksturīgās īpašības, ne arī vērā ņemamu somatostatīna vai dopamīna receptoru mRNS ekspresiju. Visticamāk, iegūtā un raksturotā šūnu populācija ir daļa no adenohipofīzes adenomu mikrovidi atbalstošajām šūnām.

*ERAF projekts "Jaunu in vitro diagnostikas un prognostiskas līdzekļu izstrāde individualizētai audzēju un mitohondriālo saslimšanu ārstēšanai".*