

Тахчиди Х.П., Тахчиди Е.Х., Новиков С.В., Шацких А.В.
ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова
Росмедтехнологии», г. Москва

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ НА РОСТ ФИБРОБЛАСТОВ В ВЫДЕЛЕННОЙ КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК

Авторами экспериментально обосновано влияние экзогенных гликозаминогликанов на рост фибробластов. Выполнены исследования по выделенной культуре фибробластов. Морфологически доказан двоякий эффект гликозаминогликанов – стимуляция размножения фибробластов подавление их роста.

Актуальность

Фибропластические процессы в ране и возможности их регуляции всегда вызывали интерес у хирургов. Избыточное рубцевание, риск повторных операций приводили к необходимости применения антипролиферативных препаратов, чаще всего цитостатиков. Сложнее способствовать ускорению ранозаживления. Поэтому в последнее время возрастает актуальность применения естественных регуляторов (цитокины, гликозаминогликаны), способных модулировать процесс заживления раны, в том числе и в склере [1]. Комплекс естественных цитокинов представляет собой нестойкое соединение, быстро разрушающееся в окружающей среде и требует неоднократного применения для получения результата [2,3]. Сегодня в медицинской фармакотерапии применяются различные препараты на основе гликозаминогликанов для лечения и профилактики заболевания опорнодвигательного аппарата [4,5]. Гликозаминогликаны в составе протеогликанов входят в состав межклеточного вещества соединительной ткани и вместе с волокнами коллагена и эластина образуют соединительнотканый матрикс и принимают непосредственное участие во всех фибропластических процессах.

Целью настоящего исследования явилось получение новых данных о влиянии гликозаминогликанов (ГАГ) на рост фибробластов в выделенной культуре (экспериментально – морфологическое исследование).

Эксперимент был посвящен изучению влияния возрастающей концентрации ГАГ на рост культуры фибробластов мышцы линии L929 (исследования выполнены на базе Центра по исследованию биоматериалов ФГУ «НИИТ и ИО» Росздрава – Перова Н.В., Довжик И.А., Егорова В.А.).

Результаты

Динамику роста культуры фибробластов мышцы линии L929 оценивали с использованием автоматического цифрового иммерсионного конфокального микроскопа ConfoScan3 (Nidek Technologies, Италия) через промежутки времени культивирования, равные 24 ч., 72 ч. и 96 (144) ч., после добавления образцов ГАГ в культуру. Образцы были представлены в двух формах: раствор и гель, насыщенные ГАГ.

Существенной разницы в плотности и морфологии клеток через 24 ч. и 72 ч. после добавления в культуру фибробластов образцов *раствора ГАГ* визуально выявлено не было. Через 144 ч. в лунках, содержащих образцы с низкой концентрацией активного вещества (0,1%, 0,5%), а также в контроле образовался монослой, поэтому эксперимент был прекращен. Были построены линейные графики параметров роста фибробластов в течение времени. Через 144 ч количество клеток при концентрации 0,5% превышало контрольное, а в лунках, содержащих образцы с высокой концентрацией активного компонента (1%, 2%, 3%, 5%), наблюдали обратную зависимость: плотность клеток уменьшалась с возрастанием концентрации ГАГ. Результаты показали, что низкие концентрации ГАГ способны стимулировать рост фибробластов, в то время как применение высоких концентраций приводило к торможению этого процесса.

Эксперимент повторили уже с применением *гелевой формы ГАГ*. Через 24 ч. после добавления в культуру фибробластов образцов ГАГ наблюдалась повышенная плотность клеток в контроле и в присутствии образцов, также содержащих низкие дозы активного вещества. Через 96 часов существен-

ных визуальных различий в плотности и морфологии клеток в присутствии всех образцов, кроме максимальной 5%, не наблюдалось, поэтому эксперимент был прекращен. В присутствии образца с максимальной концентрацией ГАГ плотность фибробластов была наименьшей, также как и при дополнительном контроле с применением индифферентного геля без насыщения активным веществом. По результатам количественной обработки были построены аналогичные линейные графики зависимости изменения параметров роста фибробластов от времени. Наилучший рост фибробластов наблюдали в присутствии образцов ГАГ с малой концентрацией активного вещества 0,5% и 1%, несмотря на то, что через 72 ч. количество клеток в присутствии образца «1%» значительно меньше по сравнению с

контролем и образцом «0,5%». Через 96 ч. плотности клеток для этих двух образцов становятся равными. Начиная с образца «2%» наблюдается подавление роста клеток. Медленнее всего фибробласты растут в присутствии образца «5%». Таким образом, высокие концентрации (2-5%) действующего вещества в образцах вызывало угнетение роста фибробластов, в то время, как низкие концентрации (до 1%) способствовали размножению клеток.

Заключение

Учитывая все вышесказанное, установлено: ГАГ обладают бимодальным эффектом, способны улучшать репарацию при ранозаживлении и предотвращать грубое рубцевание, в зависимости от применяемой концентрации.

Список использованной литературы:

1. Анисимов С.И., Анисимова С.Ю., Ларионов Е.В., Автандилов Г.Г., Дроздова Г.Н., Рогачева И.В. Морфологические исследования коллагенового дренажа, используемого при антиглаукоматозных операциях после его имплантации в ткани глаза кролика// Российские мед. Вести.-2006.-№2.-С.69-72.
2. Василенкова Л.В. Коррекция репаративных процессов методом локальной цитокинотерапии при антиглаукоматозных операциях/ Автореф. ... канд. мед. наук. – М., 2005. – 24 с.
3. Василенкова Л.В., Хорошилова-Маслова И.П., Ганковская Л.В., Калинина О.М., Андреева Л.Д. Антипролиферативный эффект цитокинотерапии при фистулизирующих антиглаукоматозных операциях// VIII съезд офтальмол. России: Тез. докл. – М.: 2005. – С. 155 – 156.
4. Volpi N. Therapeutic Application of Glycosaminoglycans //Current Medicinal Chemistry.– 2006. – 13, 1799-1810
5. Volpi N. Advances in Chondroitin Sulfate Analysis: Application in Physiological and Pathological States of Connective Tissue and During Pharmacological Treatment of Osteoarthritis //Current Pharmaceutical Design, 2006.– 12.– P.639-658.