

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЛИПОСОМАЛЬНОГО ГЕЛЯ С ГРАНУЛОЦИТАРНЫМ КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩИМ ФАКТОРОМ НА ПОПУЛЯЦИЮ ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК КРЫСЫ

© Галанкин Н.А.1, Иванова А.К.2

Научный руководитель: мл. науч. сотрудник Решеткина Д.А.
Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет
Санкт-Петербургский государственный технологический университет
НИО (медико-биологических исследований) НИЦ ВМедА им. С.М. Кирова

Контактная информация: Галанкин Никита Александрович.
E-mail: galankinn1999@gmail.com

Ключевые слова: гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, липосомальный гель.

Актуальность исследования: гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (ГКСФ) является гематopoэтическим цитокином, успешно применяемым в программах вспомогательной репродуктивной технологии (ВРТ) для лечения синдрома «тонкого» эндометрия, при невынашивании беременности и неоднократных неудачах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). В спектре действия ГКСФ выделяют влияние на процессы репарации, дифференцировки, миграции и пролиферации эндометрия [1]. Активные исследования ГКСФ у пациенток с синдромом «тонкого» эндометрием [4, 5] требуют внедрения новых лекарственных форм (ЛФ), в частности, липосомального геля, что создает необходимость разработки экспериментальных моделей [2].

Цель исследования: Изучить влияние липосомального геля с ГКСФ на популяцию эндометриальных клеток крысы.

Материалы и методы: липосомы получали путем растворения фосфолипидов в этаноле 96,6% и последующей отгонки растворителя на ротаторном испарителе, иными словами, путем получения гидратной пленки. Полученную пленку растворяли в фосфатно-солевом буфере $pH = 7,4 \pm 0,1$ с добавлением раствора Г-КСФ в количестве 1000 мкг/мл, криопротектора, полученную суспензию липосом очищали.

Для получения основы геля использовались гиалуронат натрия высокомолекулярный, Na-КМЦ (натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы), этилгексилглицерин (консервант), глицерин и вода для инъекций. В полученную гелевую основу вводили при ручном перемешивании суспензию липосом с ГКСФ.

Культуру клеток эндометрия получали путем ферментативной обработки рогов матки 0,1% раствором трипсина, а затем соскабливали слой эндометрия с внутренней поверхности скальпелем [3]. Клеточную взвесь вносили в культуральные флаконы и культивировали в инкубаторе при 37°C и 5% CO₂ в течении 14 дней. В экспериментальные флаконы сразу вносили 25 мкл липосомального геля с ГКСФ, предварительно растворенного в питательной среде.

Результаты: по морфологическому составу культура представляла собой эндометриальные клетки с единичными фибробластами и миоцитами, которые вероятно попали случайно при соскабливании. В первые дни наблюдения клетки во флаконах с гелем большую площадь цитоплазмы, что говорит, о стрессовом состоянии клеток. Однако по мере высвобождения ГКСФ из ЛФ клетки стали приобретать более правильную форму, расти и наращивать биомассу. На 7 сутки было отмечено значительное ускорение роста эндометриальных клеток и миоцитов, чем в контрольной группе, клетки эндометрия по сравнению с контролем дольше были адгезированы на дне флакона, тем самым, дольше сохраняли свою жизнеспособность. На 14 сутки конfluence достигла 90%.

Выводы: таким образом, было установлено, что липосомальный гель с ГКСФ ускоряет рост эндометриальных клеток и гладких миоцитов в культуре. Под действием фактора эндометриальные клетки дольше сохраняют свою жизнеспособность в культуре. Отрицательное воздействие геля в первые сутки культивирования заключается в цитотоксичности консерванта этилгексилглицерина (содержание в ЛФ 0,75 мас. %).

Литература

1. Тапильская Н.И., Джемлиханова Л.Х., Крихели И.О., Мекина И.Д., Лесик Е.А., Комарова Е.М., Гзгзян А.М., Коган И.Ю. Комбинированное применение гранулоцитарного колониестимулирующего фактора у пациенток с повторными неудачами имплантации. Проблемы репродукции. 2020; 26(2):62–68.
2. Решеткина Д.А., Тапильская Н.И., Крихели И.О., Гзгзян А.М., Глушаков Р.И. Комбинированное применение аутологичных стволовых клеток и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора для лечения синдрома тонкого эндометрия // Сборник статей III Всероссийской научно-технической конференции «Состояние и перспективы развития современной науки по направлению «Биотехнические системы и технологии». — 2021. — С.101–106
3. Hatta K, Huang ML, Weisel RD, Li RK. Culture of rat endometrial telocytes. J Cell Mol Med. 2012;16(7):1392–1396.
4. Дибигева, С. Л. «Тонкий» эндометрий, как важная часть репродуктивных неудач / С. Л. Дибигева, А. В. Созданова // Forcipe. — 2021. — Т. 4. — № S1. — С. 125. — EDN CKMKGG.
5. Яковенко, А. М. Сравнительная характеристика железистой гиперплазии эндометрия с атипической / А. М. Яковенко // Forcipe. — 2020. — Т. 3. — № S1. — С. 658–659. — EDN ANQVYB.