

Влияние фракции менее 5 кДа криогемолизата крови молочных телят (“Актовегин”) на митотическую активность клеточной культуры РК-15-IECVM

А.К. ГУЛЕВСКИЙ¹, А.В. ТРИФОНОВА¹, А.А. ЛАВРИК²

¹Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

²Институт клинической и экспериментальной ветеринарной медицины, г. Харьков

В последнее время в медицинской практике все более широкое применение находит препарат “Актовегин”, известный своим антигипоксическим и ранозаживляющим действием. “Актовегин” представляет собой гемодериват, содержащий фракцию менее 5 кДа, полученную посредством диализа и ультрафильтрации криогемолизата крови молочных телят. Способность препарата стимулировать репарационные процессы позволяет предположить, что его присутствие в питательных средах для культивирования клеток может стимулировать процессы пролиферации.

Проводили изучение воздействия препарата “Актовегин” на пролиферативную активность перевиваемой клеточной культуры РК-15-IECVM, полученную из Коллекции клеточных культур лаборатории биотехнологии ИЭКВМ, где она хранилась при температуре –196°С в жидком азоте. Данная культура адаптирована к росту в смеси питательных сред Игла DMEM и 199 (1:1), с добавлением 10% сыворотки крови КРС, обработанной ПЭГ-6000 по протоколу лаборатории биотехнологии ИЭКВМ.

“Актовегин” в расчетной концентрации 0,14% добавляли в питательную среду клеток РК-15-IECVM с 2% сыворотки крови КРС, обработанной ПЭГ-6000. Контролем служили клетки данной культуры, выращиваемые с добавлением 2% сыворотки крови и 10% сыворотки крови. Проводили подсчет количества митозов в фиксированных препаратах клеток каждые 24 часа их роста.

Уменьшение количества сыворотки крови КРС в питательной среде до 2% незначительно снижает митотическую активность клеток на первом пассаже. Добавление “Актовегина” на первом пассаже приводит к увеличению количества митозов в 1,4 раза по сравнению с данным показателем в культуре, выращиваемой на среде с 2% сыворотки крови и в 1,3 раза по сравнению с вариантом, где в ростовую среду вносили 10% сыворотки.

В тоже время при росте клеточной культуры на среде с добавлением “Актовегина” отмечено

увеличение количества патологических митозов с 2 до 6%. Среди патологических митозов преобладают “микроядра” и 3-х полюсный митоз, свидетельствующие как о хромосомных нарушениях, так и нарушениях веретена деления клеток (Классификация патологических митозов Алова И.А., 1966). Данный факт свидетельствует об адаптивных перестройках клеток культуры к новому ростовому фактору (“Актовегин”).

Попытки культивирования клеток с добавлением “Актовегина” в среде не содержащей сыворотки крови, привели к гибели культуры уже на первом пассаже. В данном случае на первые сутки после посева было отмечено, что клетки не прикрепилась к стеклу и следовательно дальнейшего роста происходить не могло. Эти результаты указывают, что в фракции крови менее 5 кДа не присутствует никаких факторов способствующих адгезии и расплыванию клеток.

Таким образом, проведенные исследования позволили установить, что применение данного препарата в биотехнологии культур клеток достаточно перспективно, поскольку позволяет на фоне пониженной концентрации сыворотки в ростовой среде сохранять и даже увеличивать митотическую активность клеток *in vitro*.

Адрес для корреспонденции: Трифонова А.В., Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 373-41-35, факс: +38 (057) 373-30-84, e-mail: cryo@online.kharkov.ua