

УДК 619:615:577.1:616-003.269:636

## МІТОГЕНСТИМУЛЮВАЛЬНИЙ ЕФЕКТ ДІЇ ФОСФОЛІПІДІВ МОЛОКА У ДОСЛІДАХ *in vitro*

**В.А. Грищенко, доктор ветеринарних наук**  
Національний університет біоресурсів і природокористування України

Встановлено мітогенстимулювальний (проліферативний) ефект дії фосфоліпідів молока у формі ліпосомальної біологічно активної добавки «FLP-MD» на клітини периферичної крові донора у дослідях *in vitro*, що доводить їх здатність прискорювати репаративні процеси в уражених тканинах, а отже, дозволяє рекомендувати зазначену біодобавку в якості засобу клітинної відновлювальної терапії.

**Вступ.** Розвиток будь-якого захворювання спричинює патологічні (запальні, дистрофічні чи дегенеративні) зміни клітин, ступінь вираженості яких залежить від реактивності організму, характеру патологічного впливу і його тривалості, локалізації та поширення зміненої ділянки тканини тощо. Неприятливі фактори екзо- та ендогенного середовища, перш за все, діють на структурно-функціональний стан плазматичної і внутрішньоклітинних мембран, які забезпечують життєво важливі функції клітин: енергоутворення, гомеостаз йонного складу і регуляцію внутрішньоклітинних процесів [1, 2].

Клітини, як й інші живі системи, здатні до регенерації, тобто до відновлення втрачених частин чи оновлення елементів їхньої зовнішньої та внутрішньої структури. Здатність до регенерації в різних клітин дуже відрізняється, що залежить від їхньої генетичної програми та багатьох інших факторів [3].

Результати електронно-мікроскопічного дослідження різноманітних патологічних процесів у внутрішніх органах свідчать, що прояв регенерації не обмежується тільки збільшенням чисельності клітин

[4]. Він є значно складнішим і включає ще недостатньо досліджені внутрішньоклітинні відновлювальні процеси.

За легких пошкоджень більшість клітин здатна до повного відновлення. При ураженнях середньої тяжкості регенерація клітин також у більшості випадків можлива. За тяжких пошкоджень, які супроводжуються деструкцією і загибеллю ядра, регенерація клітин неможлива. Загибель клітин, внаслідок дії патогенного чинника, стимулює розвиток репродуктивних процесів в уражених тканинах [3].

В основі багатьох патологічних процесів лежить патологія репродукції клітин. Механізм розмноження клітин пов'язаний з їхнім геномом, що і обумовлює його вразливість [5].

Як відомо [3], відтворення клітин у здоровому організмі – це високо впорядковане, суворо послідовне біологічне явище, яке є відображенням певної генетичної програми, що реалізується у вигляді складних молекулярних процесів.

Підготовка клітин до репродукції включає такі процеси [3]: редуплікацію ДНК; подвоєння маси клітини; синтез протейнових компонентів хромосом і мітотичного

апарату; подвоєння клітинного центру; накопичення енергії для здійснення цитотомії. Впродовж життя клітини проходять ряд фаз, які в сукупності складають життєвий цикл. У фазі підготовки клітин до мітозу відзначають характерне збільшення їхніх розмірів, що пов'язане з подвоєнням вмісту ДНК в ядрах, тобто гіпертрофією ядер. Це явище відносно короткочасне. Дана ситуація часто зустрічається в процесі нормального постнатального розвитку та росту, а також при фізіологічній і репаративній регенерації деяких органів і тканин.

Патогенез порушень репродукції клітини, що пов'язане з пошкодженням хромосом, до нинішнього часу розкритий не повністю. Однак вже встановлено [3–5], що затримка у входженні клітини в стадію мітозу переважно виникає при порушенні метаболізму клітини, а саме за зміни синтезу ДНК, РНК і протеїнів.

Різноманітний арсенал медикаментозних засобів ще недостатньо орієнтований на відновлення структури і функції пошкоджених клітин, що є серйозним недоли-

ком терапевтичних схем при патологічних станах. Основним структурним компонентом мембран є фосфоліпіди, тому є підстави для вивчення ефективності їхнього застосування в якості засобів репаративної терапії, орієнтованих на відновлення структурно-функціонального стану клітинних мембран і внутрішньоклітинного метаболізму [6]. Регенераційні зміни, в т. ч. інтенсивність відновлення субклітинних утворень, можливо досліджувати на прикладі різних клітин у різноманітних експериментальних і патологічних умовах, що є особливо актуальним при визначенні ефективності засобів репаративної (відновлювальної) терапії.

Мета роботи – дослідити мітогенстимулювальну (проліферативну) дію фосфоліпідів молока у формі ліпосомальної біологічно активної добавки (БАД) «FLP-MD» у дослідках *in vitro* на клітинах білої крові – лімфоцитах.

**Матеріали і методи.** В експерименті *in vitro* було досліджено проліферативний, тобто регенеруючий ефект дії фосфоліпідів молока у формі ліпосомальної БАД

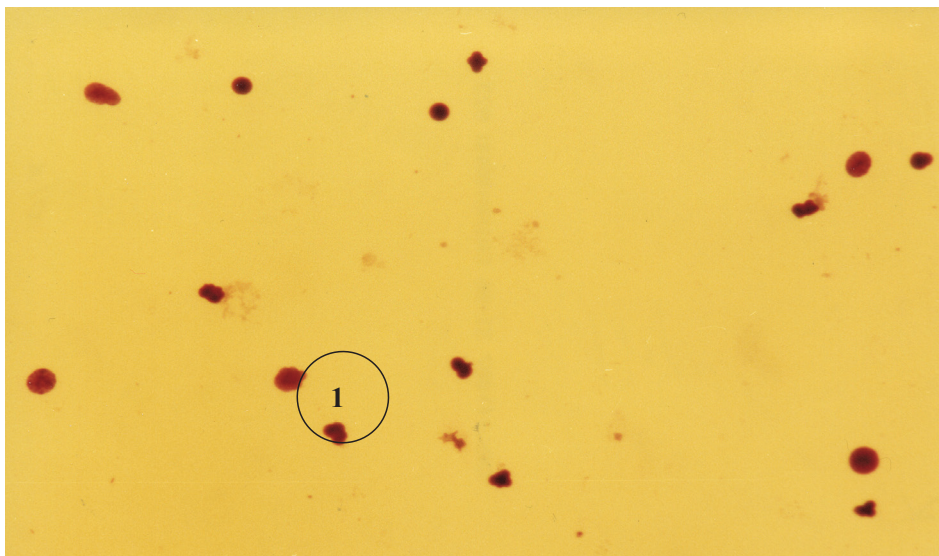
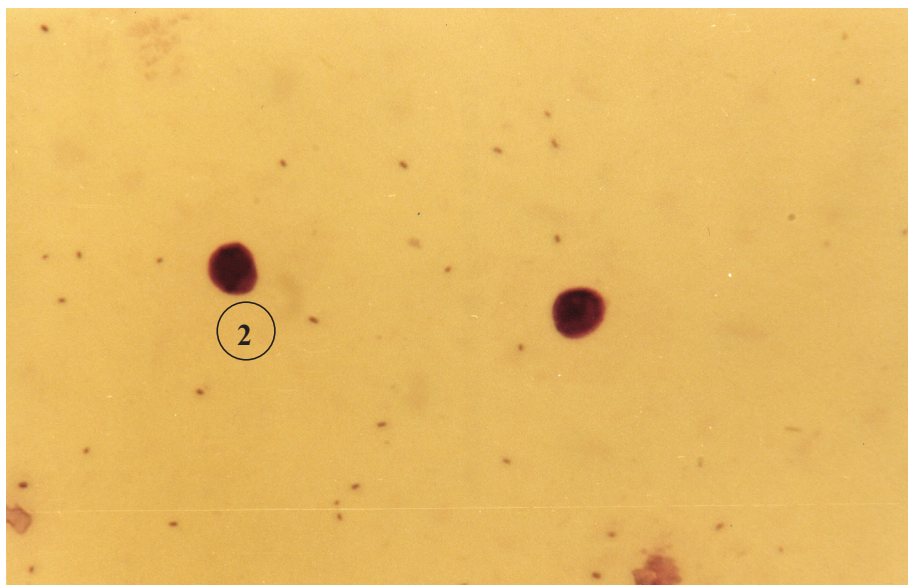


Рис. 1. Лімфоцити крові після 48-годинної інкубації у живильному середовищі без мітогенстимулювальних препаратів (контроль): тут і на рис. 2 - 1, 2 – лімфоцити



**Рис. 2.** Лімфоцити крові після 48-годинної інкубації у живильному середовищі з додаванням фосфоліпідів молока у формі ліпосомальної БАД «FLP-MD»

«FLP-MD» [7] на периферичних клітинах білої крові (лімфоцитах). Для цього проведено культивування лімфоцитів периферичної крові здорового донора без використання специфічних стимуляторів мітозу (наприклад, фітогемаглютиніну (ФГА) як у контролі, так і в досліді [8]. У культуральне середовище дослідного зразка додатково вводили фосфоліпидовмісну БАД «FLP-MD».

Тривалість культивування лімфоцитів становила 48 год, клітини фарбували за методом Гімза (азур-еозином). Склад середовища для культивування клітин ссавців був таким: RPMI 1640 + 10 % ембріональної телячої сироватки у присутності антибіотика – натрієвої солі бензилпеніциліну (із розрахунку 10000 ОД /100 мл середовища). Для приготування дослідного зразка до 5 мл середовища додавали 0,5 мл цільної крові та 10 мл суспензії фосфоліпідів молока у формі БАД «FLP-MD» (10 мг БАД розводили з 1 мл 0,9 % розчину NaCl).

**Результати дослідження.** Відомо [3], що лімфоцити периферичної крові про-

ходять дві стадії життєвого циклу: бласттрансформації та мітотичного ділення (метафаза). У результаті проведеного експерименту доведено бласттрансформувальний ефект фосфоліпідів молока у формі ліпосомальної БАД «FLP-MD» на клітини (лімфоцити) дослідної проби порівняно з ситуацією в контрольному зразку (рис. 1, 2).

На рис. 2, що відображає ефект від внесення у живильне середовище фосфоліпідів молока у формі ліпосомальної БАД «FLP-MD», зафіксовано зрілі бластоцити, готові до ділення. Загалом розрізняють дві стадії бласттрансформації клітин – незрілі бластоцити та зрілі бластоцити (мають інтерфазне ядро на стадії реплікації ДНК). Поява останніх у культурі клітин є показником проліферації.

У подальшому зрілі бластоцити дають картину хромосомного ділення з реплікацією ДНК, що завершується розділенням ядра з утворенням двох дочірніх клітин. При цьому інтерфазний хроматин трансформується в стадію мітозу.

Як відомо, регенерація включає етап проліферації. Застосування фосфоліпідів молока у формі ліпосомальної БАД «FLP-MD» стимулює утворення зрілих бластоцитів, що є підготовкою клітини до мітозу.

### Висновок

Фосфоліпіди молока у формі ліпосомальної БАД «FLP-MD» виявляють бласт-

трансформувальний, тобто, проліферативний ефект на клітини, що свідчить про їх здатність стимулювати репаративні процеси в уражених органах і тканинах. Це дозволяє рекомендувати зазначену біодобавку в якості засобу клітинної відновлювальної терапії у разі ушкодження тканин і органів патологічними факторами екзо- та ендogenous середовищ.

### Література

1. Структура мембран ентероцитів та гепатоцитів шурів за експериментальної ентеропатології та різних способів корекції / Грищенко В. А., Хижняк С. В., Литвиненко О. М. та ін. // Ветеринарна медицина. – 2009. – № 1. – С. 30–33.
2. Євтушенко Н. В., Євтушенко М. Є. Роль репарації та імунітету при канцерогенезі // Фізика живого. – 2009. – 17, № 2. – С. 105–111.
3. Фаллер Д. М., Шилдс Д. Молекулярная биология клетки: Пер. с англ. – М.: БИНОМ-Пресс, 2003. – 272 с.
4. Хомич В.Т., Грищенко В.А. Актуальність репаративної терапії для корекції ультраструктурних змін епітеліоцитів ниркових каналців у телят, що перехворіли на диспепсію // Ветеринарна медицина України. – 2005. – № 9. – С. 18–20.
5. Проскуряков С. Я., Габай В. Л., Конопляников А. Г. Иммунология апоптоза и некроза // Биохимия. – 2005. – 70, № 12. – С. 1593–1605.
6. Використання ліпосом на основі фосфоліпідів молока у гепатології / Д. О. Мельничук, В. А. Грищенко, В. А. Томчук та ін. / За ред. Д. О. Мельничука. – К.: НУБіП України, 2010. – 400 с.
7. Пат. 86516 Україна, МПК А 61К 35/20 А 23К 1/00. Ветеринарна біологічно активна добавка ліпосомальної форми та спосіб репаративної терапії в гепатології / Мельничук Д. О., Грищенко В. А., Литвиненко О. М.; заявник і патентовласник НУБіП України. – № а 200710252; заявл. 14.09.2007; опубл. 27.04.2009, Бюл. № 8.
8. Макгрегор Г., Варли Дж. Методы работы с хромосомами животных: Пер. с англ. – М.: Мир, 1986. – С. 10–16.

### АННОТАЦІЯ

**Грищенко В.А.** Митогенстимулирующий эффект действия фосфолипидов молока в опытах *in vitro* // Биоресурсы и природокористування. – 2015. – 7, № 1–2. – Р. 61–64.

Установлен митогенстимулирующий (пролиферативный) эффект действия фосфолипидов молока в форме липосомальной биологически активной добавки «FLP-MD» на клетки периферической крови донора в опытах *in vitro*, что подтверждает их способность ускорять репаративные процессы в повреждённых тканях, то есть позволяет рекомендовать указанную биодобавку в качестве средства клеточной восстанавливающей терапии.

### SUMMARY

**V. Gryshchenko.** The mitogen-stimulating effect of the milk phospholipids under *in vitro* experiments // *Biological Resources and Nature Management*. – 2015. – 7, № 1–2. – P. 61–64.

The mitogen-stimulating (proliferative) effect of milk phospholipids in the form of the liposomal biologically active supplement «FLP-MD» on the peripheral blood cells of a donor was elicited during *in vitro* experiments. It confirms the phospholipids ability to accelerate reparative processes in damaged tissues. In other words, the specified biosupplement can be recommended as an agent for the cell reparative therapy