

# Воздействие фракции до 5 кДа крови молочных телят (Актовегин) на перевиваемые линии клеток

А.В. ТРИФОНОВА<sup>1</sup>, А.А. ЛАВРИК<sup>2</sup>, А.К. ГУЛЕВСКИЙ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

<sup>2</sup>Институт клинической и экспериментальной ветеринарной медицины, г. Харьков

## Effect of Fraction up to 5 kD of Vealer Blood (Actovegin) on Inoculated Cell Lines

A.V. TRIFONOVA<sup>1</sup>, A.A. LAVRIK<sup>2</sup>, A.K. GULEVSKY<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

<sup>2</sup>Institute of clinical and experimental veterinary medicine, Kharkov

В клинической практике длительное время успешно применяют препараты, которые являются гемодиализатами, полученными из крови молочных телят. Одним из таких препаратов является Актовегин. Он производится на основе безбелковой низкомолекулярной фракции крови молочных телят (до 5 кДа), полученной путем последовательных процессов гемолиза, ультрафильтрации и концентрации.

Цель данной работы – изучить влияние низкомолекулярной фракции крови молочных телят, содержащейся в препарате Актовегин, на процессы пролиферации клеток *in vitro*.

В работе использовали две клеточные линии: PK-15-IEKVM и ВНК-21 clone 13/04. Прирост клеток подсчитывали в камере Горяева на 3-и сутки роста культуры. Для оценки митотического режима культур клетки фиксировали в спирт-уксусной смеси и окрашивали гематоксилином Каррачи каждые 24 ч роста.

Показано, что уменьшение в питательных средах концентрации сыворотки крови до 2 и 1% приводит к снижению роста клеточных культур на 1-м пассаже соответственно на 20 и 30%. Актовегин в концентрации 0,14% стимулирует прирост клеток в среде с 2% сыворотки крови на 21±3%, в средах, содержащих 10 и 1% сыворотки крови, – на 36±3%. Актовегин при добавлении в других концентрациях незначительно увеличивает прирост клеток. Добавление Актовегина в среду, не содержащую сыворотку крови, стимулирующего эффекта не оказало. Это свидетельствует, что при наличии в питательной среде ростовых факторов низкомолекулярные вещества способны существенно повышать биоэнергетический потенциал клеток, приводящий к усилению их метаболизма и пролиферативной активности.

При изучении митотического режима клеток установлено, что уменьшение концентрации сыворотки крови крупного рогатого скота (КРС) в питательной среде до 2% незначительно снижает митотическую активность клеток. Добавление Актовегина в ростовую среду с 2% сыворотки крови КРС приводит к увеличению количества митозов на 47%. В то же время при культивировании клеток в среде с добавлением Актовегина отмечено увеличение количества патологических митозов с 7 до 13% от их общего количества. Характер патологических митозов свидетельствует об адаптивных перестройках клеток культуры к новому ростовому фактору.

Таким образом, доказана способность низкомолекулярной фракции (до 5 кДа) крови молочных телят стимулировать прирост клеток различных линий. Это свидетельствует о перспективности включения данной низкомолекулярной фракции крови в состав ростовых сред с целью повышения эффективности использования культур клеток в биотехнологии.

In clinical practice for a long time hemodialysates derived from vealer blood have been widely used. One of these preparation is actovegin. It is produced on the base of protein-free low molecular fraction of vealers (up to 5 kD), obtained by means of consequent processes of hemolysis, ultrafiltration and concentration.

The research aim was to study the effect of low molecular fraction of vealer blood, containing in actovegin on proliferation processes of cells *in vitro*.

In the research there was used two cell lines: PK-15-IEKVM and BHK-21 clone 13/04. Cell increment was counted in Goryaev's chamber to the 3<sup>rd</sup> culture growth day. For estimation of mitotic regimen of culture the cells were fixed in alcohol-acetum mixture and stained with Karachi hematoxylin each 24 hrs of growth.

It has been shown that a reduction in nutritive media the concentrations of blood serum down to 2 and 1% results in a decrease in the growth of cell cultures at the 1<sup>st</sup> passage, correspondingly, by 20 and 30%. Actovegin under 0.14% concentration stimulates the increment of cells in the medium with 2% blood serum by 21±3% and by 36±3% in the media, containing 10 and 1% blood serum. When adding actovegin under other concentrations the cell increment slightly increased. Actovegin adding to the medium non-containing blood serum did not demonstrate stimulating effect. This testifies to the presence of growth factors in nutritive medium, low molecular substances are capable of increasing bioenergetic potential of cells and leading to the strengthening of their metabolism and proliferative activity.

When studying mitotic regimen of cells it has been found that decrease in concentration of cattle blood serum in nutritive medium down to 2% slightly reduced mitotic activity of cells. Adding of actovegin into growth medium with 2% cattle blood serum results in a rise in the number of mitoses by 47%. At the same time during cell culturing in the medium with adding actovegin there was observed an increase in the number of mitoses from 7 to 13% of their total number. The character of pathological mitoses testify to adaptive rearrangements of cell cultures to new growth factor.

Thus the ability of low molecular fraction (up to 5 kD) of vealers has been proved as stimulating the increment of cells of various lines. This testifies to prospects of this low molecular fraction inclusion into composition of growth media with the aim of rising in the application efficiency of cell cultures in biotechnology.