

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ФИБРОБЛАСТОВ ДЕРМЫ ЧЕЛОВЕКА ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ С КОФЕЙНОЙ КИСЛОТОЙ

Лукашов Р.И., Бутенко А.В.* , Квачева З.Б.* , Полешко А.Г.* , Новаш Д.С.

*Белорусский государственный медицинский университет, кафедра фармацевтической химии, *ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», лаборатория молекулярной биологии клетки, г. Минск*

Ключевые слова: кофейная кислота, цитотоксичность, фибробласты.

Резюме: *установлено цитодеструктивное действие кофейной кислоты в концентрациях 300 и 200 мкМ в культуре фибробластов кожи человека. Наблюдали нарушения монослоя, изменение формы клеток и уменьшение количества ядрышек. Максимально переносимая концентрация составила 100 мкМ. В концентрациях менее 100 мкМ морфология клеток сходна с контролем.*

Resume: *the cytotoxic effect of caffeic acid at concentrations of 300 and 200 μM in the culture of human skin fibroblasts was established. Monolayer disruption, changes in the shape of cells and a decrease in the number of nucleolus were observed. The maximum tolerated dose was 100 μM. At doses less than 100 μM, the cell morphology is similar to the control.*

Актуальность. Современный ассортимент косметических средств, средств для ухода за кожей и волосами, средств гигиены полости рта и т.п. включает в свой состав фитоэкстракты или компоненты лекарственных растений (катехины зеленого чая, Р-витаминный комплекс и др.) [2]. Одним из распространенных компонентов фитоэкстрактов и, соответственно, указанной выше продукции является кофейная кислота. Считается, что данное соединение способствует очищению кожи, делает ее гладкой и подтянутой, таким образом способствует внешнему эффекту «омоложения». При этом кофейная кислота считается малотоксичной, а ее применение в косметологии безопасным [1, 3].

Данное действие кофейной кислоты на кожу можно связать с ее антиоксидантными свойствами и способностью сохранять и поддерживать в нормальном состоянии уровень коллагена дермы. Следует отметить, что многие антиоксиданты за счет аутоокисления могут проявлять также прооксидантные свойства, что характерно и для кофейной кислоты.

Поэтому целесообразным является изучение токсического действия кофейной кислоты на культуре фибробластов – одних из основных клеток кожи – продуцентов коллагена и определение ее переносимых концентраций в культуре клеток.

Цель: определить максимально переносимые концентрации кофейной кислоты в культуре фибробластов дермы путем анализа морфофункциональных характеристик клеток.

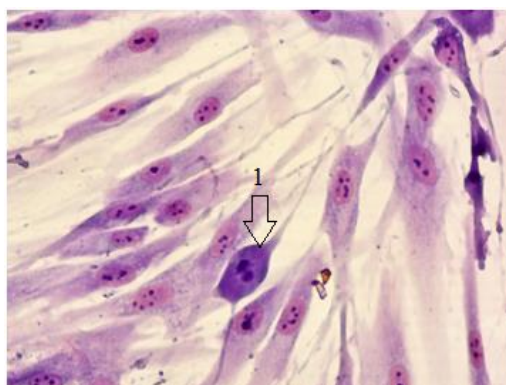
Задачи: 1. Изучить характер токсического действия кофейной кислоты в диапазоне исследуемых концентраций. 2. Определить концентрации кофейной кислоты, при которых морфология клеток не отличается от контроля.

Материал и методы. С учетом растворимости кофейной кислоты в водных средах максимальная концентрация данного вещества в фосфатном буфере составила 300 мкМ.

В экспериментах использовали односуточную культуру фибробластов кожи человека 3-7 пассажа с 80% сформированным монослоем в стадии логарифмического роста, выращенную на покровных стеклах во флаконах. В качестве ростовой среды использовали Дульбеко модифицированную среду Игла (ДМЕМ) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) и антибиотиков (пенициллин/стрептомицин). После смены среды на поддерживающую (ДМЕМ и 2% ЭТС) вносили раствор кофейной кислоты в фосфатном буферном растворе с рН 7,2 в концентрациях: 300, 200, 100, 10 и 1 мкМ. В контрольные культуры после смены среды вместо препарата вносили фосфатный буфер.

Учет результатов проводили через 24 ч. Анализ морфофункциональных параметров опытных и контрольных культур проводили прижизненно путем фазово-контрастной микроскопии, а также на фиксированных и окрашенных по Романовскому-Гимзе препаратах клеток при использовании световой микроскопии. Оценивали сохранность, плотность монослоя клеток, их морфологию (форма, размеры, состояние цитоплазмы, отростков, ядра, ядрышек).

Результаты и их обсуждение. Односуточная монослойная культура фибробластов (без внесения препарата) представлена клетками удлинненной веретеновидной формы, с биполярными отростками, округлым ядром и 2-5 ядрышками. Встречаются клетки в разных стадиях митотического деления клеток (рис. 1).



1 – митотически делящаяся клетка в стадии телофазы

Рис. 1 – Морфология фибробластов кожи человека, 4 пассаж, контроль, 20х

При инкубации в течение 24 ч культуры фибробластов с кофейной кислотой в концентрациях 300 и 200 мкМ наблюдали цитодеструкцию части клеток, разрежение монослоя. В этих концентрациях изменялась морфология клеток: они становились более «распластанными», парусовидными и располагались в виде очаговых скоплений, ядра сохранены, количество ядрышек уменьшено до 1-2 (рис. 2, (А)).

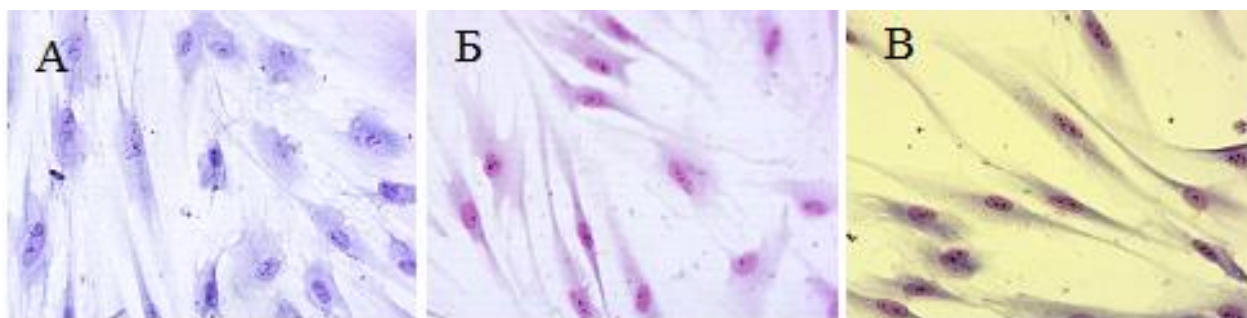


Рис. 2 – Морфология фибробластов кожи человека при инкубации с кофейной кислотой в концентрациях 300 мкМ (А), 100 мкМ (Б), 1 мкМ (В); 4 пассаж, 20х

Сохранившиеся в монослой отдельные клетки напоминали более зрелые – миофибробласты, что предположительно свидетельствует об усилении дифференцировки и старении клеток в культуре под влиянием этих концентраций кофейной кислоты. Следует отметить, что миофибробласты принимают участие в заживлении и стягивании ран, синтезируют коллаген, т.е. их функция проявляется не в норме, а при раневом повреждении.

При инкубации клеток с кофейной кислотой в концентрациях 100, 10 и 1 мкМ (рисунок 2 (Б, В)) морфология клеток была сходна с контролем: монослой сохранен, клетки вытянутые, веретеновидные, с отростками.

Выводы: 1. В концентрациях 300 и 200 мкМ кофейная кислота вызывает цитодеструктивные и морфологические изменения фибробластов кожи человека (уменьшение количества ядрышек, формы клеток), что говорит о токсическом действии высоких концентраций кофейной кислоты. 2. Максимально переносимая концентрация составила 100 мкМ. В более низких концентрациях морфологических изменений не выявлено, что указывает на безопасность применения более низких концентраций кофейной кислоты.

Литература

1. Бикбокова, М. Тренды рынка аптечной косметики, предотвращающие преждевременное старение кожи / М. Бикбокова, Ю. Прожерина // Ремедиум. – 2017. – № 9. – С. 20–22.
2. Единый реестр свидетельств о государственной регистрации [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <https://portal.eaeunion.org>. – Дата доступа : 19.07.2021.
3. Фруктовые кислоты в косметических средствах [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <https://www.liveorganic.ru/blog/cosmetics/trend/fruit-acids-in-cosmetics/>. – Дата доступа : 19.07.2021.