

Научная статья
УДК 576.3: 615.322
DOI: 10.18101/2306-1995-2026-1-36-42

**ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК КЕРАТИНОЦИТОВ ЛИНИИ HaCaT
И ФИБРОБЛАСТОВ ЛИНИИ 1608 hT ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ГИДРОЛАТОВ
РАСТЕНИЙ-ЭНДЕМИКОВ РЕСПУБЛИКИ БУРЯТИЯ**

© Капустина Юлия Алексеевна

кандидат биологических наук, доцент кафедры фармакологии,
клинической фармакологии с курсом биохимии
uas.2003@mail.ru

© Будаева Линда Гомбоевна

студентка
ayusheevalinda@gmail.com

© Митупова Бальжима Баировна

студентка
balzhimam@gmail.ru

Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова
Россия, 670000, г. Улан-Удэ, ул. Октябрьская, 36а

Аннотация. Современная фармакология рассматривает эндемичные растения в качестве ценного источника биологически активных веществ с уникальным профилем действия. В настоящей работе проведено экспериментальное исследование *in vitro*, направленное на изучение влияния гидролатов полыни селитряной *Artemisia nitrosa* на клетки кожи человека. Гидролаты получены методом паровой дистилляции в лаборатории инновационной фармацевтики Бурятского государственного университета. В качестве клеточных моделей использованы иммортализованные линии кератиноцитов (HaCaT) и дермальных фибробластов (1608 hT). С помощью микроскопии и количественного анализа плотности клеточной популяции оценили состояние клеток при внесении гидролата в различных концентрациях (5–20%). Установили, что для кератиноцитов исследуемое средство не цитотоксично во всем диапазоне концентраций. Напротив, фибробласты проявили чувствительность к концентрациям 15 и 20%, что выразилось в снижении плотности монослоя, эти концентрации имели цитотоксический эффект. Выявленная избирательность (подавление роста фибробластов при сохранении жизнеспособности кератиноцитов) позволяет рассматривать гидролат *Artemisia nitrosa* как перспективный компонент для модуляции процессов рубцевания.

Ключевые слова: эндемичные растения, *Artemisia nitrosa*, гидролат, цитостатический эффект, фибробласты, кератиноциты линии HaCaT, клеточное культивирование, регенеративная медицина, пролиферация, рубцевание.

Для цитирования

Капустина Ю. А., Будаева Л. Г., Митупова Б. Б. Жизнеспособность клеток кератиноцитов линии HaCaT и фибробластов линии 1608hT при воздействии гидролатов растений-эндемиков Республики Бурятия // Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. 2026. № 1. С. 36–42.

Введение

Растительные сообщества, формирующиеся в изолированных экологических нишах, продуцируют специфический спектр вторичных метаболитов, необходимых для адаптации к локальным условиям среды. Республика Бурятия обладает уникальной флорой, богатой эндемичными видами, которые представляют высокий интерес для биофармацевтики. Особое внимание исследователей привлекают гидролаты (ароматические воды), получаемые методом паровой дистилляции. Несмотря на их широкое использование в косметологии, научные данные о влиянии гидролатов на клеточном уровне остаются фрагментарными [3; 4].

Разработка дерматотропных средств требует понимания механизмов их воздействия на основные клеточные популяции кожи: кератиноциты, формирующие эпидермальный барьер, и фибробласты, отвечающие за синтез матрикса дермы. Эти клетки обладают различными метаболическими потребностями и реактивностью [6; 7], что делает их идеальной моделью для скрининга активности новых препаратов.

Объектом данного исследования стала полынь селитряная *Artemisia nitrosa* — эндемик, произрастающий в Республике Бурятия, отличающаяся интересным составом биологически активных веществ [5].

Цель работы заключалась в оценке жизнеспособности разных клеточных линий (кератиноциты HaCaT и фибробласты 1608 hT) в условиях *in vitro* при воздействии гидролата полыни селитряной *Artemisia nitrosa*.

Материалы и методы исследования

Экспериментальная часть исследования выполнена в лаборатории регенеративной биомедицины ООО «Малое инновационное предприятие “Байкальский центр биотехнологий”». В работе применялись стандартные протоколы клеточной биологии, регламентирующие условия культивирования, пассажирования и оценки состояния клеточных культур [1].

Объект исследования

Гидролат полыни селитряной *Artemisia nitrosa*, полученный при паровой дистилляции во время изготовления эфирного масла. Образец получен в лаборатории инновационной фармацевтики кафедры фармации Бурятского государственного университета имени Доржи Банзарова и хранился при температуре 4 °С.

Клеточные модели: в работе использованы стандартизированные линии клеток:

- 1) иммортализованные кератиноциты человека HaCaT (43-й пассаж);
- 2) дермальные фибробласты человека линии 1608 hT (74-й пассаж).

Культивирование проводили в стерильных условиях (37 °С, 5% CO₂, влажная атмосфера) в CO₂-инкубаторе Binder C 150 E2 (Германия). Работа с культурами осуществлялась в ламинарном боксе биологической безопасности БМБ-II-«Ламинар-С»-1,5 (Lamsystems, Россия) с использованием центрифуги медицинской CM-6M (ELMI, Латвия). Использовали питательную среду DMEM (ПанЭко, Россия). Для поддержания роста в среду добавляли 10%-ной фетальной бычьей сыворотки (GloblKang, Китай) и комбинацию антибиотиков пенициллин/стрептомицин, гентамицин (ПанЭко, Россия).

Схема эксперимента: рабочие растворы гидролата готовили разведением в полной ростовой среде до концентраций 5, 10, 15 и 20% (по объему). Посев клеток осуществляли в культуральные флаконы площадью 25 см² с плотностью 1×10⁵ клеток/флакон.

Контрольные группы:

- положительный контроль (К+): полная питательная среда DMEM (оптимальные условия);
- отрицательный контроль (К-): среда DMEM без фетальной сыворотки.

Время экспозиции составило 7 суток. Ежедневный мониторинг состояния монослоя и фотодокументирование результатов осуществляли с помощью инвертированного микроскопа, оснащенного цифровой камерой-видеоокуляром TourCam 5.1 MP (сенсор Aptina MT9P001, разрешение 2592×1944 пикселей, производитель TourTek Photonics).

Количественный анализ: для объективизации результатов по окончании 7 суток культивирования проводили подсчет клеток в камере Горяева. Каждая точка эксперимента анализировалась в трехкратной повторности.

Результаты и их обсуждение

Применение клеточных технологий *in vitro* является «золотым стандартом» современной фармакогнозии для первичного скрининга биологической активности и токсичности. Использование монослойных культур позволяет исключить влияние системных факторов организма и оценить прямое действие вещества на клетки-мишени [11]. В данном исследовании мы сравнили реакцию эпителиальных клеток человека на воздействие гидролата полыни селитряной.

Влияние на кератиноциты (HaCaT, пассаж 43).

В контрольной группе (К+) кератиноциты формировали типичный плотный пласт полигональных клеток, свидетельствующий об активном делении. Дефицит сыворотки (К-) ожидаемо снижал плотность культуры. Внесение гидролата *Artemisia nitrosa* в концентрациях от 5 до 15% не вызывало видимых изменений морфологии или плотности монослоя по сравнению с отрицательным контролем. При концентрации гидролата полыни 20%-ной количество клеток сократилось, но признаки цитопатического действия (вакуолизация, округление, открепление от субстрата) отсутствовали. Это позволяет сделать вывод об отсутствии цитотоксичности гидролата для клеток эпидермиса в изученном диапазоне.

Влияние на фибробласты (1608 hT, пассаж 74).

В оптимальных условиях (К+) фибробласты образовывали конфлюэнтный монослой веретеновидных клеток. Низкие дозы гидролата (5, 10%) не влияли на состояние культуры. Однако при повышении концентрации до 15% наблюдалась специфическая реакция: плотность клеточного пласта снижалась по сравнению с контролем. Клетки не сохраняли типичную структуру, многие были не адгезивны. Такая картина характерна для цитостатического эффекта — торможения клеточного цикла.

При подсчете клеток экспериментальных и контрольных групп получили следующие данные жизнеспособности.

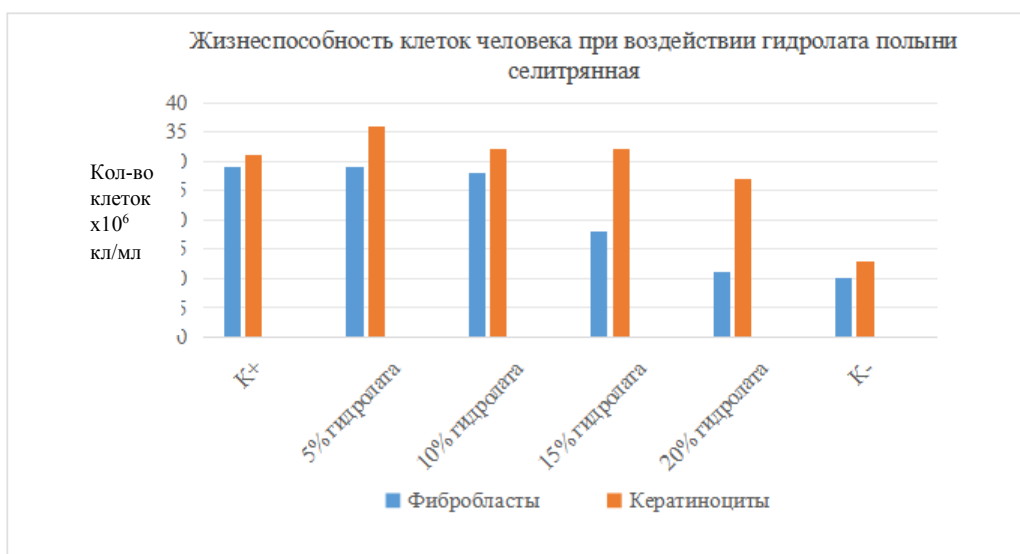


Рис. 1. Влияние гидролата полыни на жизнеспособность клеток кожи человека

Полученные данные свидетельствовали об избирательной чувствительности клеток кожи к компонентам гидролата полыни селитрянной *Artemisia nitrosa*. Из представленных данных видно (рис. 1), что концентрации гидролата полыни 5, 10 и 15% вызвали активную пролиферацию кератиноцитов линии HaCaT на 16 и 3% соответственно, в сравнении с данными контрольной позитивной группы. При добавлении в среду к кератиноцитам 20%-ного гидролата полыни отметили снижение количества клеток на 12%, эти данные говорят об отсутствии цитотоксичности указанных доз на клеточные линии HaCaT. При внесении 5% и 10% гидролата полыни в среду для культивирования фибробластов линии 1608 hT наблюдали рост клеток до значений контрольной группы, но при повышении концентрации гидролата до 15, 20% количество клеток понизилось на 38% и 60% соответственно от данных контрольной группы. Таким образом, две последние концентрации оказали цитотоксический эффект на клетки фибробласты. Морфологические различия клеток в экспериментальных группах представлены на рисунках 2 и 3.

Выявленная избирательность воздействия гидролата может объясняться следующими факторами:

1. **Метаболические различия.** Фибробласты в культуре более зависимы от внешних факторов роста, тогда как иммортализованные линии (HaCaT) обладают высокой автономностью деления [8; 9]. Возможно, компоненты гидролата блокируют специфические сигнальные пути, важные именно для фибробластов.

2. **Фитохимическая специфичность.** Эндемик может синтезировать уникальные молекулы, таргетно воздействующие на рецепторы фибробластов.

Обнаруженный эффект «мягкого» торможения фибробластов при сохранении жизнеспособности кератиноцитов представляет интерес для дерматологии. Такой профиль активности востребован при создании средств для коррекции гипертрофических рубцов и келоидов, где необходимо сдерживать избыточный рост соединительной ткани, не повреждая эпидермис [11; 12].

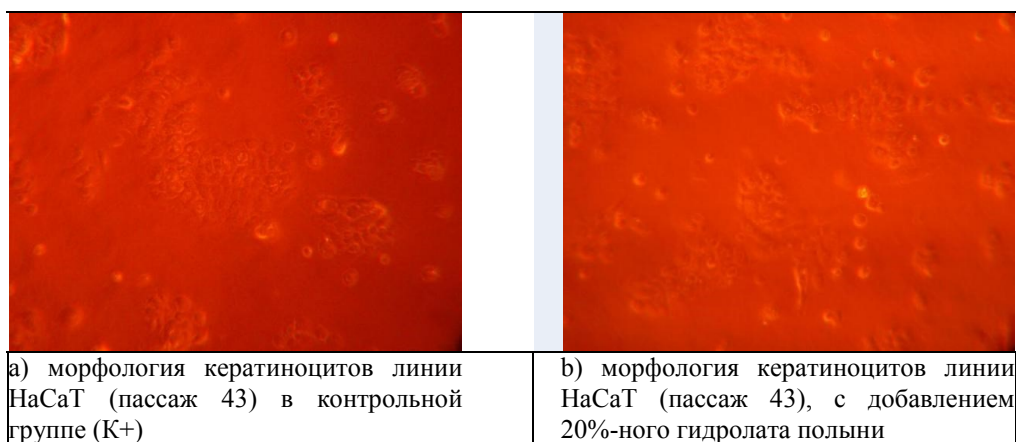


Рис. 2. Морфология кератиноцитов линии HaCaT (пассаж 43) через 7 суток культивирования. В сравнение: положительный контроль и максимальная экспериментальная концентрация гидролата полыни селитряной 20%-ной

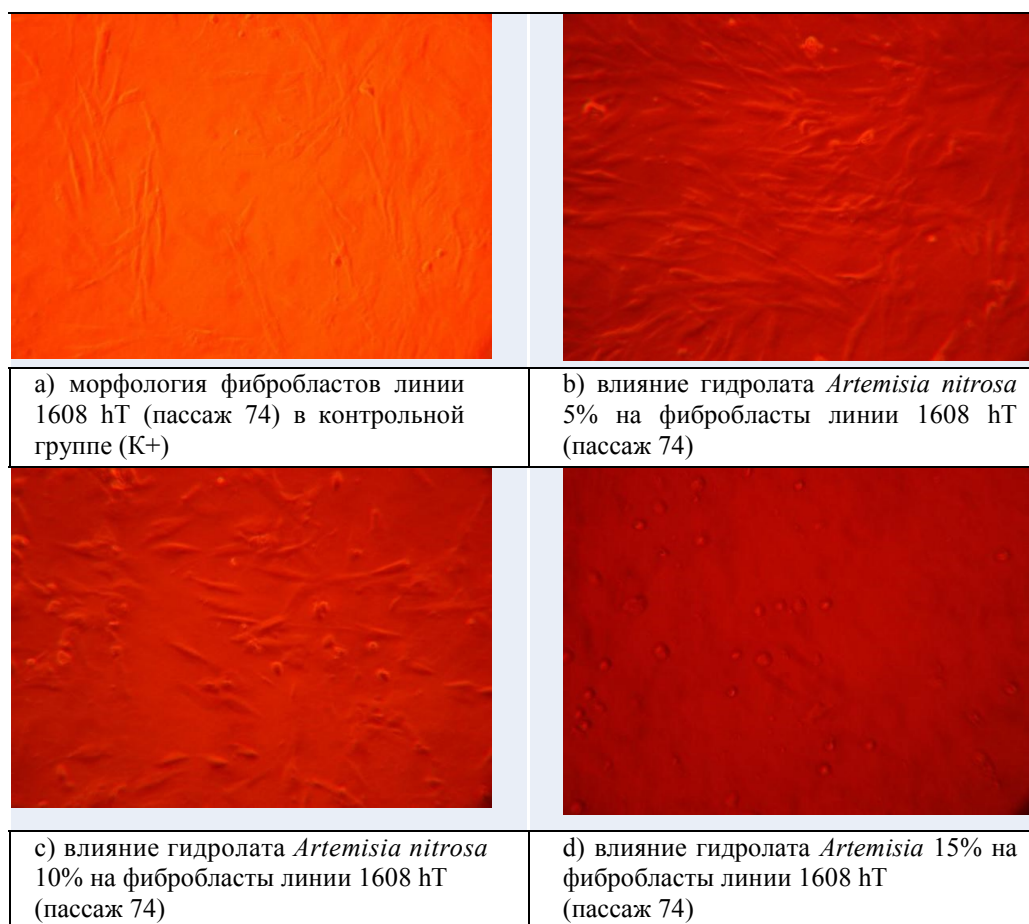


Рис. 3. Влияние гидролата полыни *Artemisia nitrosa* на фибробласты линии 1608 hT (пассаж 74)

Выводы

В результате исследования установлено, что гидролат эндемика *Artemisia nitrosa* обладает избирательной биологической активностью *in vitro*: в концентрациях гидролата полыни 5–10% наблюдается положительное влияние на пролиферацию всех изучаемых клеток, дальнейшее повышение концентрации гидролатов в культуральной среде оказало дозозависимый цитостатический эффект на дермальные фибробласты (15–20%), не влияя пагубно на жизнеспособность кератиноцитов. Выявленная активность делает гидролат полыни селитряной перспективным средством для разработки средств, модулирующих процессы рубцевания и ремоделирования дермы. Полученные данные служат основанием для проведения более глубоких исследований, включая изучение молекулярных мишеней для действия гидролата.

Литература

1. Волова Т. Г., Шишацкая Е. И., Миронов П. В. Материалы для медицины, клеточной и тканевой инженерии: электронное учебное пособие. Красноярск: ИПК СФУ, 2009. 262 с.
2. Gonzalez-Burgos E., Gomez-Serranillos M. P. Artemisia genus: bioactive compounds and their pharmacological profiles. *Frontiers in Pharmacology*. 2021; 12: 642.
3. El Ghalbzouri A., Lamme E., Ponc M. Crucial role of fibroblasts in regulating epidermal morphogenesis. *Cell Tissue Res*. 2002; 310(2): 189–199.
4. Boehnke K., Mirancea N., Pavesio A. et al. Effects of fibroblasts and keratinocytes on the reorganization of the extracellular matrix in a human organotypic skin equivalent. *Experimental Dermatology*. 2007; 16: 1–12.
5. Намзалов Б. Б., Жигжитжапова С. В., Намзалов М. Б. О новой находке полыни селитряной *Artemisia nitrosa* Web ex Stechm. — редкого вида во флоре Забайкалья // Вестник Бурятского государственного университета. Биология. География. 2018. № 1. С. 87–91.
6. Schäfer M., Werner S. Transcriptional control of wound repair. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 2007; 23: 69–93.
7. Boukamp P., Petrussevska R.T., Breitkreutz D. et al. Normal keratinization in a spontaneously immortalized aneuploid human keratinocyte cell line. *Journal of Cell Biology*. 1988; 106: 761–771.
8. Panchision D. M. The role of oxygen in regulating neural stem cells in development and disease. *Journal of Cellular Physiology*. 2009; 220; 3: 562–568.
9. Kalfon T., Glanz L. Differential metabolic responses of keratinocytes and fibroblasts to oxidative stress. *Experimental Dermatology*. 2021; 30: 123–135.
10. O'Brien P. J., Chan H. M. Keratinocytes and fibroblasts differ in their metabolism of and response to xenobiotics. *Toxicology in Vitro*. 2005; 19: 605–613.
11. Limandjaja G. C., van den Broek L. J., Breetveld M. et al. Characterization of *in vitro* reconstructed human normotrophic, hypertrophic, and keloid scar models. *Tissue Eng Part C Methods*. 2018; 24(4): 242–253.
12. Verhaegen P. D., van Zuijlen P. P., Pennings N. M. et al. Differences in collagen architecture between keloid, hypertrophic scar, normotrophic scar, and normal skin: An objective histopathological analysis. *Wound Repair and Regeneration*. 2009; 17: 649–656.

Статья поступила в редакцию 30.03.2026; одобрена после рецензирования 06.04.2026; принята к публикации 09.04.2026.

Viability of HaCaT Keratinocyte Cells and 1608 hT Fibroblast Cells
Exposed to Hydrolates from Endemic Plants of the Republic of Buryatia

Yuliya A. Kapustina
Cand. Sci. (Biol.), A/Prof.
uas.2003@mail.ru

Linda G. Budaeva
Student
ayusheevalinda@gmail.com

Balzhima B. Mitupova
Student
balzhimam@gmail.ru

Dorzhi Banzarov Buryat State University
36a Oktyabrskaya St., Ulan-Ude 670002, Russia

Abstract. Modern pharmacology considers endemic plants as a valuable source of biologically active substances with a unique action profile. The article presents an experimental *in vitro* study aimed at investigating the effect of *Artemisia nitrosa* hydrolates on human skin cells. Hydrolates were obtained by steam distillation in the Laboratory of Innovative Pharmacy of Buryat State University. Immortalized keratinocyte (HaCaT) and dermal fibroblast (1608 hT) lines were used as cell models. Using microscopy and quantitative analysis, we assessed cell population density after the introduction of hydrolate in various concentrations (5–20%). It was found that the studied agent is non-cytotoxic for keratinocytes over the entire concentration range. In contrast, fibroblasts showed sensitivity to 15 % and 20 % concentrations, which was reflected in a decrease in monolayer density without inducing cell death, so these concentrations exerted a cytotoxic effect. The revealed selectivity (suppression of fibroblast growth while preserving epidermal cells) makes *Artemisia nitrosa* hydrolate a promising candidate for modulating scarring and dermal remodeling processes.

Keywords: endemic plants, *Artemisia nitrosa*, hydrolate, cytostatic effect, fibroblasts, HaCaT keratinocytes, cell culture, regenerative medicine, proliferation, scarring.

For citation

Kapustina Yu. A., Budaeva L. G., Mitupova B. B. Viability of HaCaT keratinocyte cells and 1608 hT fibroblast cells exposed to hydrolates from endemic plants of the Republic of Buryatia. *Bulletin of Buryat State University. Medicine and Pharmacy.* 2026; 1: 36–42 (In Russ.).

The article was submitted 30.03.2026; approved after reviewing 06.04.2026; accepted for publication 09.04.2026.