

DOI: <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2026.3.115>

Морфофункциональные и иммунофенотипические характеристики фибробластов дермы человека под влиянием фитοэкстрактов растений рода *Lamium*

В.А. Терлецкая¹, Р.И. Лукашов¹, А.В. Бутенко², З.Б. Квачёва², А.Г. Полешко²

¹Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

²Государственное научное учреждение «Институт биофизики и клеточных технологий НАН Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2026. – Том 25, №3. – С. 115-127.

Morphofunctional and immunophenotypic characteristics of human dermal fibroblasts under the influence of phytoextracts of plants of the genus *Lamium*

V.A. Tsiarletskaia¹, R.I. Lukashou¹, A.V. Butenka², Z.B. Kvachova², H.G. Paleshka²

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Biophysics and Cell Engineering NAS of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2026;25(3):115-127.

Резюме.

Цель исследования – определить максимально переносимые для фибробластов дермы человека концентрации фитοэкстрактов *Lamium album*, *Lamium purpureum* и *Lamium maculatum*, а также их влияние на морфофункциональные и иммунофенотипические характеристики клеток.

Материал и методы. Исследование выполнено на культурах фибробластов дермы человека 3–5 пассажей. Экстракты растений рода *Lamium* вносили в культуры в концентрациях суммы фенольных соединений 0,25; 0,5 и 1,5 мкМ в пересчёте на хлорогеновую кислоту. Оценивали жизнеспособность клеток, формирование и морфологию монослоя, индекс пролиферации, экспрессию поверхностных и внутриклеточных маркеров методом проточной цитофлуориметрии. Стресс-индуцированное клеточное старение моделировали с использованием H₂O₂; активность β-галактозидазы определяли как маркер сенесценции. Статистическую обработку данных проводили с применением непараметрических тестов.

Результаты. Экстракты *L. album*, *L. purpureum* и *L. maculatum* в концентрациях 0,25–0,5 мкМ не оказывали цитотоксического действия: жизнеспособность фибробластов дермы человека сохранялась на уровне контроля, формирование плотного монослоя не нарушалось, индекс пролиферации не увеличивался. Иммунофенотип и морфология клеток соответствовали контрольным культурам. В концентрации 0,5 мкМ выявлено снижение продукции коллагена III типа и повышение синтеза фибронектина. Во всех исследованных группах отмечено снижение выраженности стресс-индуцированного клеточного старения. Повышение концентрации экстрактов до 1,5 мкМ сопровождалось снижением жизнеспособности и морфологическими признаками торможения пролиферации.

Заключение. Фитοэкстракты *Lamium album*, *Lamium purpureum* и *Lamium maculatum* оказывают дозозависимое влияние на фибробласты дермы человека *in vitro*. Концентрации до 0,5 мкМ являются максимально переносимыми. Полученные данные свидетельствуют о клеточной безопасности экстрактов растений рода *Lamium* в указанном диапазоне концентраций и потенциальное антифибротическое действие при повышении концентрации до 1,5 мкМ. **Ключевые слова:** фибробласты дермы человека, *Lamium album*, *Lamium purpureum*, *Lamium maculatum*.

Abstract.

Objectives. To determine the maximally tolerated concentrations of *Lamium album*, *Lamium purpureum* and *Lamium maculatum* phytoextracts for the human dermal fibroblasts, as well as their effects on the morphofunctional and immunophenotypic characteristics of the cells.

Material and methods. The study was performed on the human dermal fibroblast cultures at passages 3–5. Hydroalcoholic extracts of *Lamium* plants were added to the cultures at concentrations of 0.25, 0.5, and 1.5 μM , calculated as chlorogenic acid. Cell viability, monolayer formation and morphology, proliferation index, and the expression of surface and intracellular markers were assessed using flow cytometry. Stress-induced cellular senescence was modeled using H_2O_2 ; acid β -galactosidase activity was determined as a senescence marker. Statistical data processing was performed using nonparametric tests.

Results. Extracts of *L. album*, *L. purpureum*, and *L. maculatum* at concentrations of 0.25–0.5 μM did not exhibit a cytotoxic effect: dermal fibroblast viability remained at the control level, dense monolayer formation was not impaired, and the proliferation index remained unchanged. The immunophenotype of the cells matched that of the control cultures. At the concentration of 0.5 μM , a decrease in type III collagen production and an increase in fibronectin synthesis were observed (for *L. purpureum* and *L. maculatum*). Reduction in the severity of stress-induced cellular senescence were observed in all studied groups. Increasing the extract concentration to 1.5 μM was accompanied by a decrease in viability and morphological signs of inhibited proliferation.

Conclusions. Phytoextracts of *Lamium album*, *Lamium purpureum* and *Lamium maculatum* exert a dose-dependent effect on human dermal fibroblasts in vitro. Concentrations up to 0.5 μM are maximally tolerated. These data demonstrate the cellular safety of *Lamium* plant extracts in this concentration range and a potential antifibrotic effect when the concentration is increased to 1.5 μM .

Keywords: human dermal fibroblasts, *Lamium album*, *Lamium purpureum*, *Lamium maculatum*.

Введение

Лекарственные препараты растительного происхождения широко применяются в гинекологической практике при хронических воспалительных заболеваниях и функциональных нарушениях женской репродуктивной системы [1, 2]. До 82,2% женщин с нарушениями менструального цикла, климактерическими расстройствами и инфекционно-воспалительными заболеваниями мочеполовой системы оценивают субъективный терапевтический эффект лекарственных препаратов растительного происхождения (ЛП РП) как положительный [3]. Однако доклинические исследования ЛП РП, как правило, ограничиваются оценкой биологической активности и общей токсичности. При этом воздействие на клетки соединительной ткани изучается значительно реже.

Фибробласты как клетки соединительной ткани генерируют и организуют внеклеточный матрикс и определяют направление ремоделирования при хроническом воспалении – от репарации до развития фиброзных и атрофических изменений [4]. В частности, нарушения регуляции фенотипа и клеточного старения стромальных клеток эндометрия ассоциированы с хроническим воспалением, фиброзом и репродуктивными нарушениями [5]. Изменение пролиферативной активности или изменение фенотипа клеток могут происходить при концентрациях, не вызывающих гибели. Такие субтоксические эффекты редко учитываются при оценке ЛП РП, несмотря

на их потенциальную опасность для слизистых оболочек и соединительной ткани при длительном воздействии.

Культура фибробластов дермы человека используется как воспроизводимая in vitro-модель для оценки биобезопасности и биологической активности растительных экстрактов. С одной стороны, они являются универсальной моделью соединительной ткани, с другой, – целевыми клетками при местном применении лекарственных препаратов [6].

Экстракты растений рода *Lamium* традиционно применяются при воспалительных заболеваниях, включая гинекологические [7]. Однако в литературе отсутствуют исследования влияния данных экстрактов на фибробласты дермы человека. Отсутствие таких данных ограничивает возможность интерпретации их клеточной безопасности при длительном применении.

Цель исследования – определить максимально переносимые для фибробластов дермы человека концентрации фитоэкстрактов *L. album*, *L. purpureum*, *L. maculatum*, их влияние на морфофункциональные и иммунофенотипические характеристики клеток.

Материалы и методы

Выделение и культивирование фибробластов дермы человека. Образец кожи был получен с согласия здорового донора во время пластической операции. Возраст пациента 40 лет, пол женский.

Культура фибробластов дермы приготовлена по разработанной методике [8]. Биоптат кожи инкубировали в 0,2% растворе диспазы (Sigma, США) при +4°C в течение 12-14 часов, затем с помощью пинцета отделяли эпидермис от дермы. Дерму измельчали до небольших фрагментов (0,1-0,15 см), которые помещали в стерильные пластиковые чашки Петри, содержащие раствор гентамицина в концентрации 100 мкг/мл (Gibco, США), куда вносилась питательная среда DMEM/F12 (Gibco, США) с добавлением 10% FBS (фетальной бычьей сыворотки (Cargicorn, США)). Чашки инкубировали в CO₂ инкубаторе (Shellab, США) с 5% содержанием углекислого газа при +37°C до образования монослоя фибробластов. Для накопления биомассы клеток проводилось их субпассирование путем пересева клеток в новые культуральные пластиковые флаконы (25 см², затем 75 см²) (Greiner, США). Монослой фибробластов формировался в течение 5-7 суток. Для получения взвеси клеток монослой клеток обрабатывали 0,25% раствором трипсина в 0,02% растворе ЭДТА (Lonza, США).

Получение экстрактов. Экстракты получали согласно ранее разработанной методике [9]. Полученные экстракты фильтровали и концентрировали на ротаторном испарителе IKA RV 3 V при 60 °C до густого остатка и досушивали в воздушном стерилизаторе ГП-20-3 «Витязь» при 60°C до постоянной массы сухого остатка. Полученные сухие остатки разводили в фосфатном буферном растворе с pH 7,2 (PBS) до нужной концентрации. Исследовали концентрации экстрактов 1,5 мкМ, 0,5 мкМ, 0,25 мкМ в пересчете на хлорогеновую кислоту, в контрольные культуры вносили PBS. Сухие остатки в данных концентрациях растворялись полностью, введение солубилизаторов не требовалось.

Изучение пролиферативной активности фибробластов. Пролиферативную активность культивируемых клеток оценивали по их накоплению в пассаже. Определяли среднестатистические данные накопления клеток в 3-х культуральных флаконах одного и того же образца, отбирая определенный объём взвеси с клетками из флакона и подсчитывая количество клеток в камере Горяева. Рассчитывали индекс пролиферации – отношение количества выросших клеток к посеянным.

Исследование жизнеспособности клеток резазурином-тестом (Alamar Blue). Клетки высевали на 12-луночные планшеты в концентрации 1×10^4 кл/см² в 3-х повторях. При образовании монослоя

70-80% (фаза логарифмического роста) среду заменяли на поддерживающую (модифицированная среда Игла Дульбекко (DMEM) и питательная смесь Хэма F-12 (Ham's F-12) с 2% FBS, в исследуемые культуры вносили фитоэкстракты, в контрольные культуры – PBS; во второй контроль вносили диметилсульфоксид (ДМСО) в качестве отрицательного контроля жизнеспособности, конечная концентрация 0,2%. Через 24 часа проводили оценку морфологии клеток и монослоя. Затем удаляли среду и промывали PBS. После удаления PBS добавляли резазурин, избегая образования пузырьков. Инкубировали в CO₂-инкубаторе при температуре +37°C 2 ч (пока контроль не изменит цвет с синего на розовый). Переносили супернатант в 96-луночный планшет и проводили измерения при $\lambda_{ex}=540$ нм, $\lambda_{em}=590$ нм на флуоресцентном ридере Wallac C1420 [10]. Расчет проводили по следующей формуле:

$$\text{Жизнеспособность} = \frac{\text{значение исследуемой лунки} - \text{значение лунки с ДМСО}}{\text{среднее контроля после вычета значения лунки с ДМСО}} \times 100$$

Условия определения максимально переносимых концентраций фитоэкстрактов. Накопленную массу фибробластов 3-5 пассажей засевали по 100 тыс/мл в стерильные флаконы со стеклами (на каждую концентрацию по 3 флакона) и инкубировали до монослоя 70-80% 24 ч. Через 24 ч среду заменяли на поддерживающую (DMEM/F12 с 2% FBS) и добавляли исследуемые фитоэкстракты. В контрольные культуры после смены среды вносили PBS. Инкубировали 24 ч. Далее стекла промывали дважды в PBS и фиксировали холодным 96% этанолом. Высушивали, окрашивали по Романовскому-Гимзе и микроскопировали. Разводили краситель по инструкции производителя 1:20, наносили на стекла на 30-40 мин. Степень окраски контролировали с помощью светового микроскопа. Далее стекла промывали водой и высушивали. Микроскопировали при увеличении $\times 10$ – $\times 40$.

Изучение морфологии культур клеток. Морфологию культур клеток оценивали прижизненной фазово-контрастной микроскопией. Анализ и запись изображений культур клеток проводили в течение всего срока наблюдения с использованием инвертированного микроскопа Motic AE-2000. При морфологическом анализе как живых культур, так и фиксированных и окрашенных препаратов клеток, оценивали форму, размеры клеток, состояние их ядер.

Определение экспрессии поверхностных и внутриклеточных маркеров методом проточной цитофлуориметрии. Для определения поверхностных маркеров суспензию клеток отмывали в 15-20 мл PBS и центрифугировали при 1000 об/мин в течение 5 мин. Сливали супернатант, осадок ресуспендировали в 50 мкл PBS. После добавления антител CD44 (ExBio, Чехия), CD90 (RD, США), CD105 (Bioscience, Великобритания) образцы помещали на 20 мин в холодильник при 4°C. Для определения внутриклеточных структур клетки предварительно фиксировали 4% формальдегидом 10 мин, проводили пермеабиллизацию 0,1% Triton X-100 (Sigma, США) в течение 5 мин. Отмывали образцы в 2-3 мл 1% бычьего сывороточного альбумина BSA () в PBS, затем центрифугировали при 1000 об/мин в течение 5 мин. Ресуспендировали в PBS. Добавляли антитела к коллагену III типа (Alexa Fluor 488, Abcam, США), к виментину (Alexa Fluor 488, R&D Systems, США) и к фибронектину (APC, R&D Systems, США) согласно инструкции производителя, время инкубации 1 ч. Отмывали несвязавшиеся антитела, добавляя к образцу 2-3 мл 1% BSA в PBS, затем центрифугировали при 1000 об/мин в течение 5 мин. Супернатант сливали, осадок ресуспендировали в 100-200 мкл PBS. Далее образец анализировали на проточном цитофлуориметре BD FACS Canto II.

Стресс-индуцированное старение фибробластов дермы. Старение проводили с использованием 450 мкМ пероксида водорода. В культуру с монослоем 70-80% добавляя пероксид водорода на 2 ч, затем среду меняли на свежую с 10% FBS и инкубировали последующие 48 ч [11].

Определение активности бета-галактозидазы. В работе использован коммерческий набор Cell Event Senescent Green Flow Cytometry Assay Kit (Invitrogen, США). Монослой клеток обрабатывали 0,25% трипсином, суспензию открепившихся клеток отмывали средой и ресуспендировали в PBS, фиксировали 4% параформальдегидом в течение 10 мин при комнатной температуре. Далее клетки отмывали в 1% BSA в фосфатном буфере. К клеткам добавили красящий раствор (CellEvent Senescent Buffer : CellEvent Senescent Green Probe 1000:1) и инкубировали 90 мин при температуре +37°C. Удаляли красящий раствор, ресуспендировали в PBS. Анализ проводили при $\lambda_{ex}=488$ нм при $\lambda_{em}=530/30$ нм.

Контроль стерильности культур клеток. Контроль стерильности осуществляли согласно ст.

2.6.27 «Микробиологический контроль клеточных продуктов» Государственной фармакопеи Республики Беларусь [12]. Контроль на бактериальные и микотические загрязнения проводили путем посева культуральной жидкости, содержащей клетки, в пробирки с тиогликолевой средой (рост грамположительных и грамотрицательных бактерий при температуре 30-35°C) и в пробирки со средой Сабуро (рост дрожжеподобных грибов при температуре 20-25°C). При отсутствии роста микроорганизмов в течение 14 дней инкубации исследуемый образец считался прошедшим контроль стерильности.

Статистическая обработка результатов. Все количественные измерения проводились в 3-х независимых повторностях. Из-за малого размера выборки ($n=3$) невозможно надёжно оценить распределение данных, поэтому для сравнения групп использовали непараметрические критерии (тест Краскела-Уоллиса с последующим пост-хок тестом Данна). Различия считались статистически значимыми при $p<0,05$. Данные представлены как медиана, верхний и нижний квартиль. Статистическую обработку результатов выполняли при помощи STATISTICA 10.0.

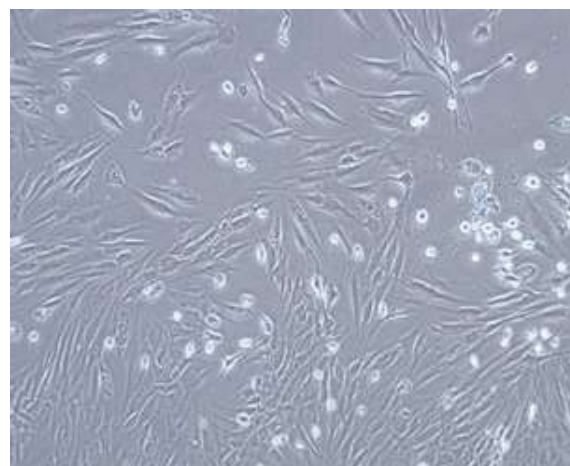
Результаты и обсуждение

Определение максимально переносимых концентраций фитоэкстрактов. В зависимости от концентрации, антиоксиданты могут проявлять прооксидантное действие за счет аутоокисления, вызывая повреждение ДНК и клеточных мембран. Известно, что кверцетин в концентрации 50 мкМ усиливает образование супероксидных радикалов [13]. Концентрация экстракта Grape Pomace выше 100 мкг/мл вызывает гибель фибробластов кожи человека, хотя концентрация 2 мкг/мл имеет стимулирующий эффект [14]. Экстракт *Elaeagnus Angustifolia* в концентрации 100 мкг/мл обладает ранозаживляющим действием, но в концентрации 500 мкг/мл токсичен для фибробластов дермы человека [15]. В связи с этим определение переносимых концентраций экстрактов *L.album*, *L.purpureum*, *L.maculatum* представлялось рациональным.

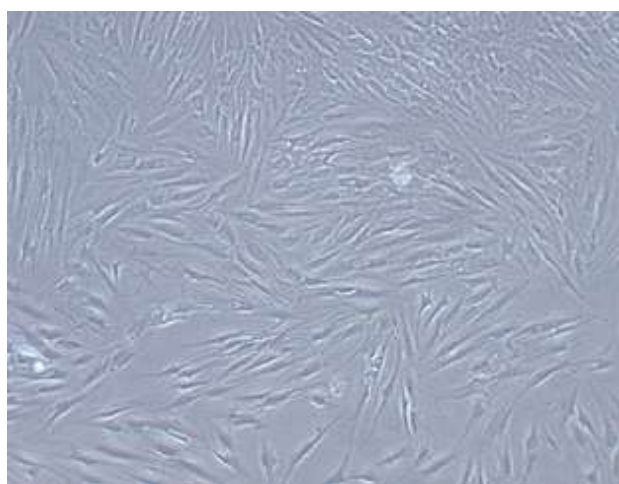
В контроле не выявлено признаков цитодеструкции, монослой клеток сохранен, плотный, клетки веретеновидной формы. При инкубации фибробластов дермы человека с фитоэкстрактом *L.album* в концентрации 1,5 мкМ наблюдалось его цитотоксическое действие: округление кле-



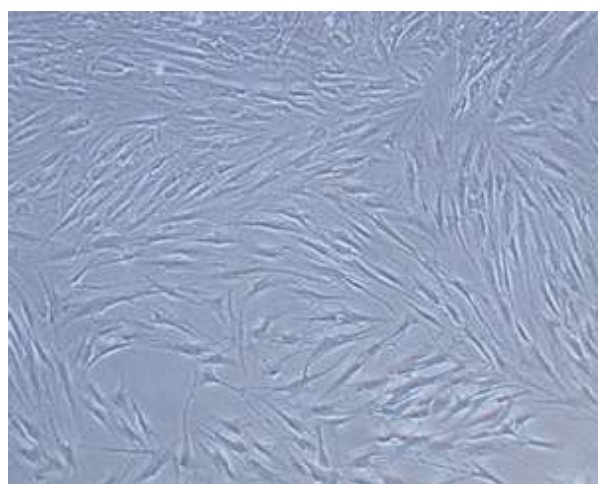
Контроль



L. album 1,5 мкМ



L. album 0,5 мкМ



L. album 0,25 мкМ

Рисунок 1 – Микрофотографии фибробластов дермы человека в культуре после инкубации с различными концентрациями фитοэкстракта *L. album* (увеличение 10х)

ток, разрежение монослоя, флотирующие клетки. При инкубации клеток с концентрацией 0,5 мкМ и 0,25 мкМ картина монослоя была морфологически сходна с контролем (рис. 1).

Концентрация экстракта *L. purpureum* 1,5 мкМ вызывала разрежение монослоя, наблюдалось открепление клеток и в последующем – цитодеструкция. При инкубации фибробластов дермы человека с концентрациями 0,5 мкМ и 0,25 мкМ картина монослоя морфологически сходна с контролем: монослой клеток сохранен, морфология клеток не изменена (рис. 2).

Концентрация *L. maculatum* 1,5 мкМ вызывала разрежение монослоя, округление клеток, наблюдалось открепление клеток и в последующем – цитодеструкция. При инкубации фибробластов дермы человека с концентрациями 0,5 и 0,25 мкМ картина монослоя морфологически сходна с кон-

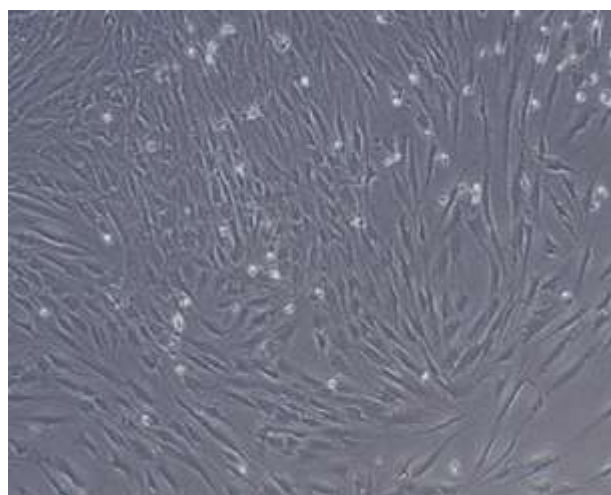
тролем: монослой клеток сохранен, морфология клеток не изменена (рис. 3).

Жизнеспособность клеток с использованием резазурин теста. Статистический анализ проводили по индивидуальным значениям, полученным в каждом независимом повторе. Проценты приведены для нормализации относительно контроля. Жизнеспособность фибробластов дермы человека при инкубации с фитοэкстрактами *L. album*, *L. purpureum*, *L. maculatum* в концентрациях 0,25 и 0,5 мкМ оставалась на уровне контроля (92,4-103%) ($p > 0,05$). При повышении концентрации до 1,5 мкМ происходило снижение жизнеспособности от 65,4% (*L. maculatum*) до 85% (*L. album*) ($p < 0,01$) (рис. 4).

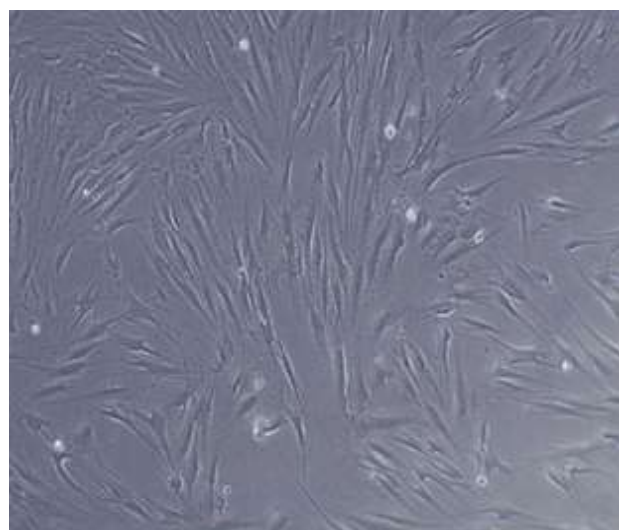
Если экстракты *L. album*, *L. purpureum*, *L. maculatum* с концентрацией до 0,5 мкМ можно охарактеризовать как практически индиффе-



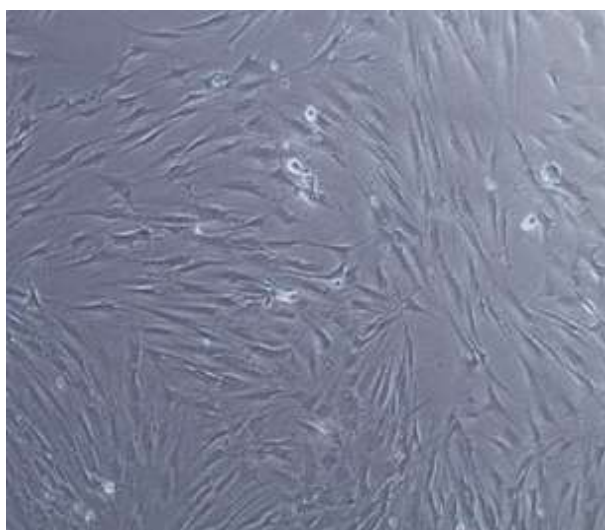
Контроль



L.purpureum 1,5 мкМ



L.purpureum 0,5 мкМ



L.purpureum 0,25 мкМ

Рисунок 2 – Микрофотографии фибробластов дермы человека в культуре после инкубации с различными концентрациями фитοэкстракта *L.purpureum* (увеличение 10х)

рентные, то экстракты с концентрацией 1,5 мкМ демонстрировали снижение жизнеспособности клеток в 1,18; 1,29 и 1,53 раза соответственно ($p < 0,01$). Подобное действие настоя *Artemisia annua* (50 мкМ в пересчете на артемизинин), который снижал жизнеспособность фибробластов до ~80% от уровня контроля через 24 ч, интерпретировано в литературе как предотвращающее фиброз органов [16]. Это позволяет предположить, что экстракты растений рода *Lamium* могут оказывать положительное влияние на фибробластопосредованные процессы ремоделирования соединительной ткани.

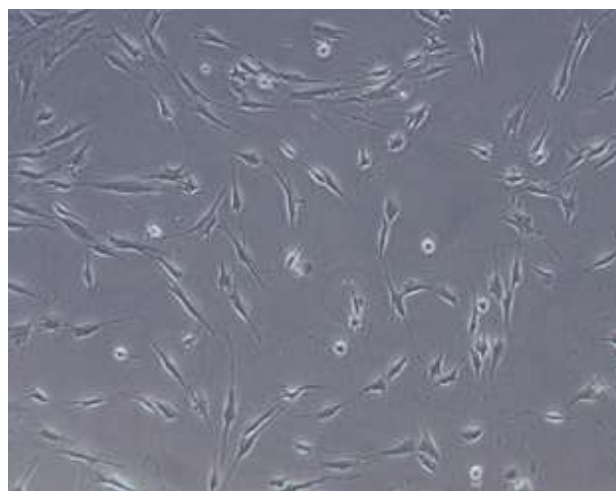
Для дальнейшего изучения отобраны экстракты в максимально переносимой concentra-

ции (МПК) по результатам микроскопии и оценки жизнеспособности – 0,5 мкМ

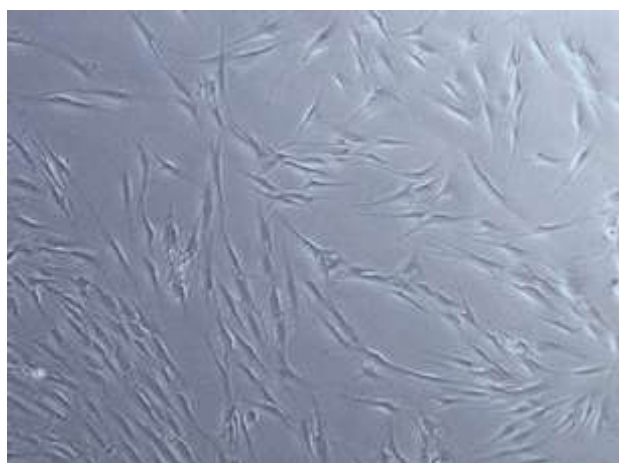
Морфология после 24 ч инкубации. Окрашенные клетки контрольной культуры имели удлиненную веретеновидную форму с длинными биполярными отростками, сформированный монослой. Встречались клетки в разных стадиях митотического деления. При внесении фитοэкстракта *L.album* в культуру в концентрации 0,5 мкМ монослой клеток сохранен, без цитодеструкции, клетки более вытянуты с длинными отростками. Состояние ядра и ядрышек не изменено. При инкубировании фибробластов с 0,5 мкМ фитοэкстракта *L.purpureum* монослой был сохранен, отсутствовала цитодеструкция.



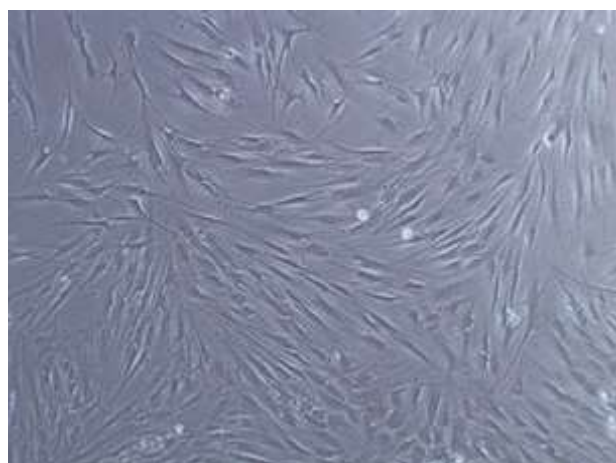
Контроль



L. maculatum 1,5 мкМ



L. maculatum 0,5 мкМ



L. maculatum 0,25 мкМ

Рисунок 3 – Микрофотографии фибробластов дермы человека в культуре после инкубации с различными концентрациями фитοэкстракта *L. maculatum* (увеличение 10х)

Морфология клеток несколько отличалась от контрольных: присутствовали более вытянутые, веретеновидные клетки. Для фитοэкстракта *L. maculatum* в концентрации 0,5 мкМ отмечено сохранение монослоя, отсутствие цитодеструкции (рис. 5).

Индекс пролиферации. Индекс пролиферации контрольной группы составил 2,2, при инкубации с фитοэкстрактами (0,5 мкМ) *L. album* – 2,18, *L. purpureum* – 1,8, *L. maculatum* – 2,17. Добавление фитοэкстрактов не ведет к увеличению индекса пролиферации ($p > 0,05$) при формировании монослоя по сравнению с контролем, что благоприятно с точки зрения ремоделирования соединительной ткани.

Экспрессия поверхностных и внутриклеточных маркеров. Экспрессия CD90 (гликозилиро-

ванный мембранный белок, опосредующий адгезию фибробластов), CD105 (эндоглин) и CD44 (рецептор гиалуроновой кислоты) на поверхности культивируемых дермальных фибробластов отражает их адгезивные, пролиферативные и сигнальные свойства [17]. Клетки, инкубированные с МПК фитοэкстрактов травы *L. album*, *L. purpureum*, *L. maculatum* экспрессировали на своей поверхности данные маркеры, аналогично клеткам контрольных культур. Сохранение уровня CD90, CD105 и CD44 свидетельствует о стабильности фенотипа, отсутствии дифференцировочного сдвига и потери функциональной активности [18].

Выявлено, что при инкубации фибробластов с МПК *L. album* снижалась продукция коллагена III типа на 16% по сравнению с контролем (24% и 40% соответственно). Продукция фибронекти-

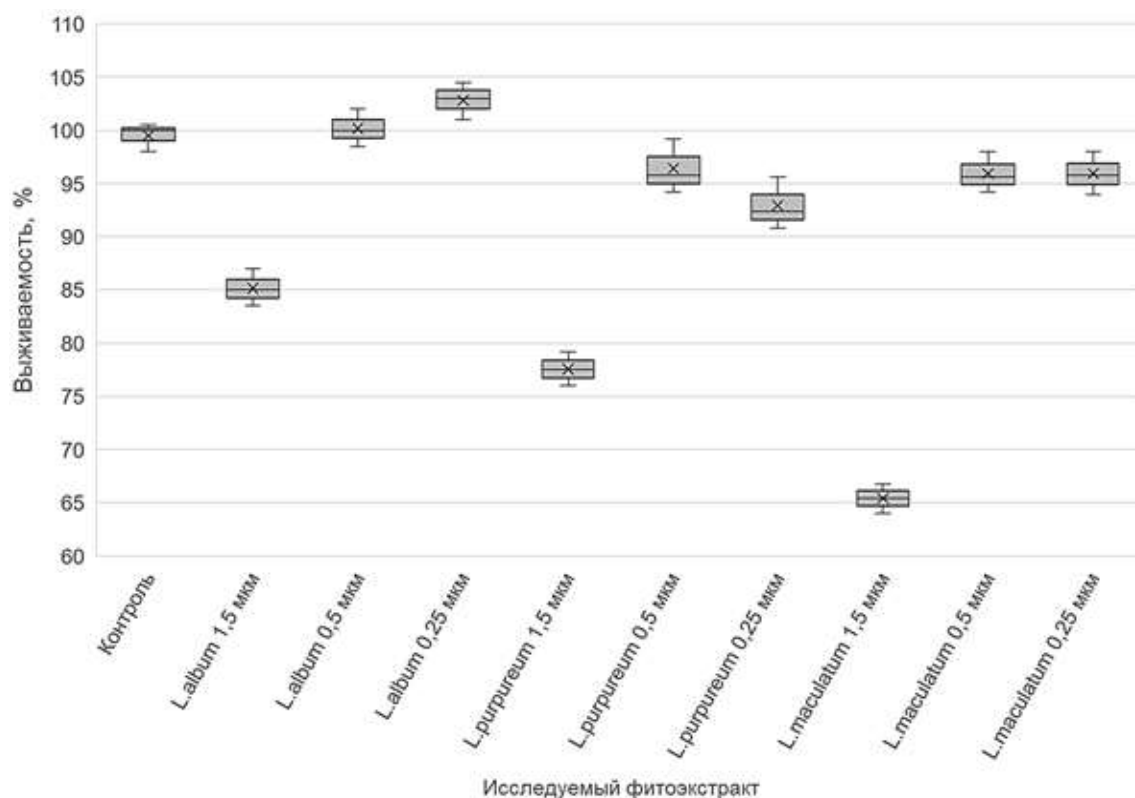


Рисунок 4 – Жизнеспособность ФД после инкубации (24 часа) с фитоэкстрактами:

** – $p < 0,01$ по сравнению с контролем

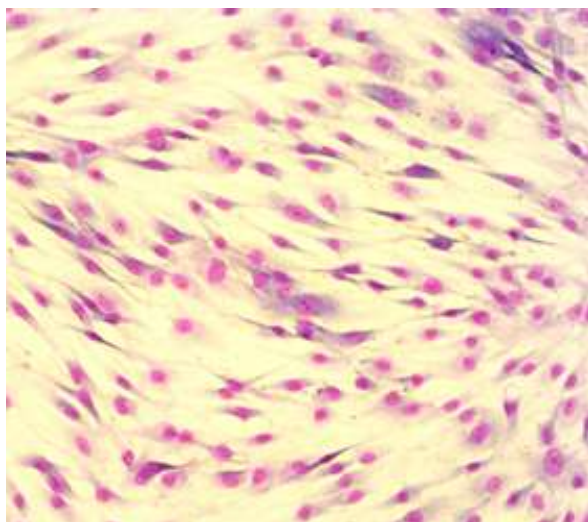
на увеличилась на 6,8% с 68% до 74,8%, продукция виментина сохранялась на уровне контроля (72% и 74% соответственно). При инкубации фибробластов с МПК *L.purpureum* установлено снижение продукции коллагена III типа на 9% (31% против 40% в контроле) и увеличение синтеза фибронектина на 22,3% по сравнению с контролем (90,3% и 68%). Продукция виментина оставалась на уровне контроля. В условиях инкубации фибробластов с МПК *L.maculatum* установлено снижение продукции коллагена III типа на 5% (35% против 40% в контроле) и увеличение синтеза фибронектина на 11% по сравнению с контролем (76% против 68% в контроле), синтез виментина был на 14% больше (88% против 74% в контроле) (табл.).

Все исследованные фитоэкстракты подавляли синтез коллагена III типа, *L.album* на 16%, *L.purpureum* на 9%, *L.maculatum* на 5%. В исследовании [19] экстракт *Scrophularia striata* значительно снижал количество внеклеточного коллагена в культуре фибробластов, на основании чего предположили его антифибротическое и противорубцовое действие в раневом процессе. Схожее действие можно предположить у исследованных

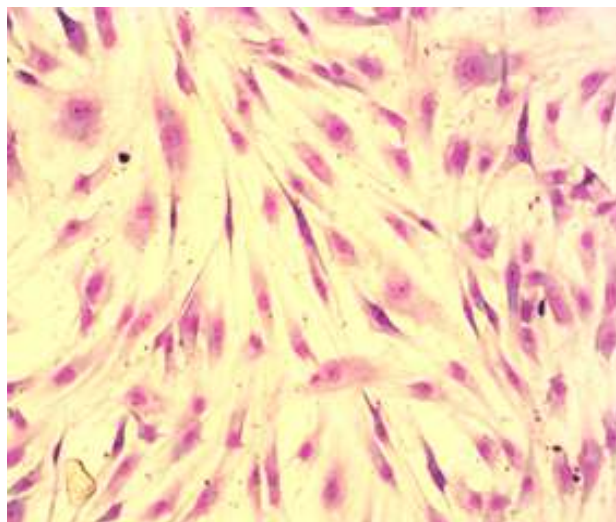
экстрактов. Экстракты *L.album*, *L.purpureum* и *L.maculatum* повышают продукцию фибронектина на 6,8%, 30% и 11% соответственно, что можно интерпретировать как повышение способности фибробластов к миграции и регенерации тканей, в соответствии с работой [20], где экстракт *Hibiscus syriacus* увеличивал синтез данного белка на 16%.

Активность β -галактозидазы. Кислая β -галактозидаза повышается в сенесцентных фибробластах и обычно используется как маркер их старения [21]. Полученные данные об уровне активности бета-галактозидазы указывали на отсутствие индукции старения клеток под действием фитоэкстрактов (рис. 6).

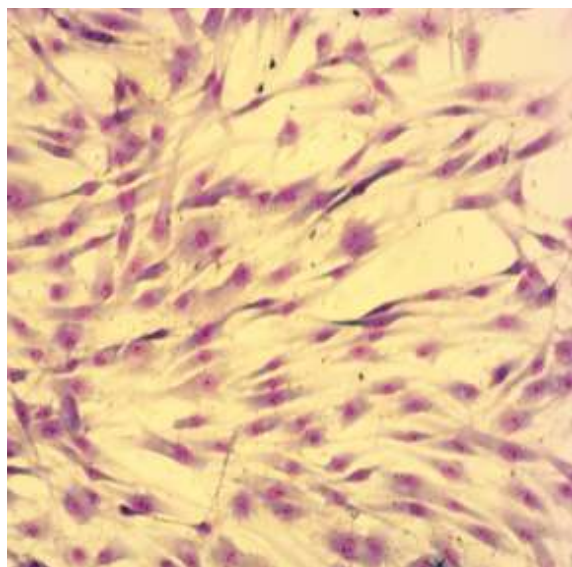
Экстракты *Ulmus macrocarpa* 200 мкг/мл [22] и *Taraxacum officinale* 300 мкг/мл [23] предотвращали старение фибробластов, вызванное H_2O_2 , однако не восстанавливали процент клеток, экспрессирующих критический уровень бета-галактозидазы до уровня контроля. В нашем же случае экстракты *L.album*, *L.purpureum*, *L.maculatum* продемонстрировали способность снижать активность маркера старения со в 2,22; 2,09; 2,16 раз соответственно ($p < 0,01$), что не только нивелиро-



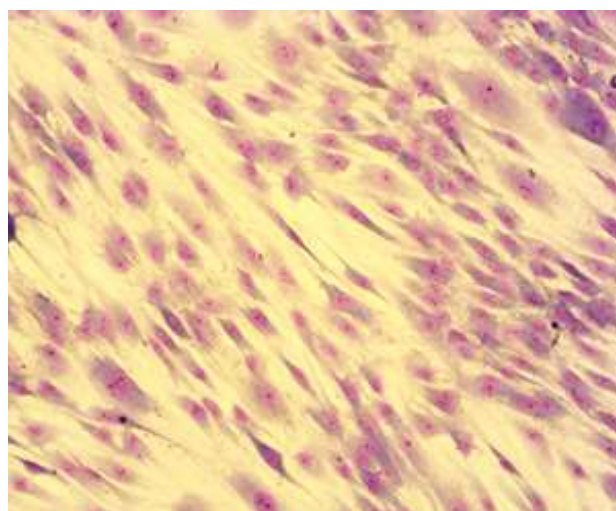
Контроль



L. album, 0,5 мкМ



L. purpureum, 0,5 мкМ



L. maculatum, 0,5 мкМ

Рисунок 5 — Морфология монослоя фибробластов, 4 пассаж, log-фаза роста (увеличение 10×)

вало эффект стресса, но и оказалось значительно ниже ($p < 0,01$) показателей контроля. Полученные данные свидетельствуют об анти-сенесцентном эффекте экстрактов *L. album*, *L. purpureum* и *L. maculatum*, проявляющемся в снижении активности SA-β-галактозидазы не только по сравнению со стресс-индуцированным уровнем, но и ниже показателей контрольной культуры.

Заключение

Экстракты *Lamium album*, *Lamium purpureum* и *Lamium maculatum* оказывали зависящее от концентрации влияние на фибробласты дермы человека *in vitro*. Концентрации суммы фенольных

соединений до 0,5 мкМ в пересчете на кислоту хлорогеновую переносимы: не снижали жизнеспособность клеток, не нарушали формирование монослоя и не изменяли индекс пролиферации по сравнению с контролем. Клетки сохраняли экспрессию маркеров CD90, CD105 и CD44 и нормальную морфологию. В концентрации 0,5 мкМ экстракты снижали выраженность индуцированного клеточного старения фибробластов. Экстракты модулировали синтез коллагена и фибронектина, что позволило предположить регенерирующее и антифибротическое действие. Сохранение гомеостаза фибробластов позволяет рассматривать данные экстракты как потенциально безопасные и предотвращающие сенес-

Таблица – Гистограммы распределений интенсивности флуоресценции окрашенных фибробластов дермы человека культивированных с фитоекстрактами в концентрации 0,5 мкМ, 5 пассаж, 5 сутки

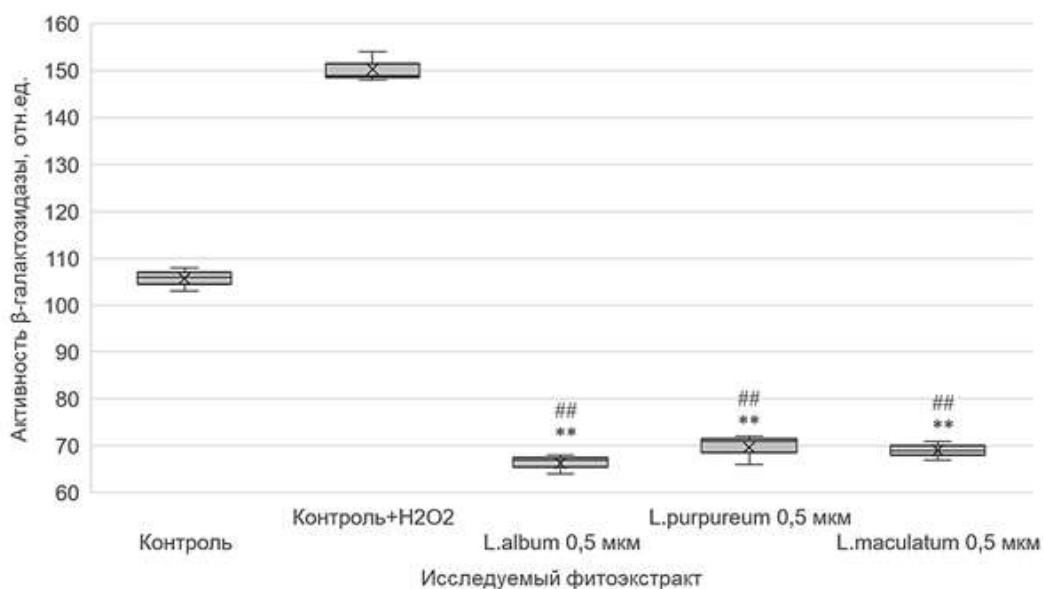
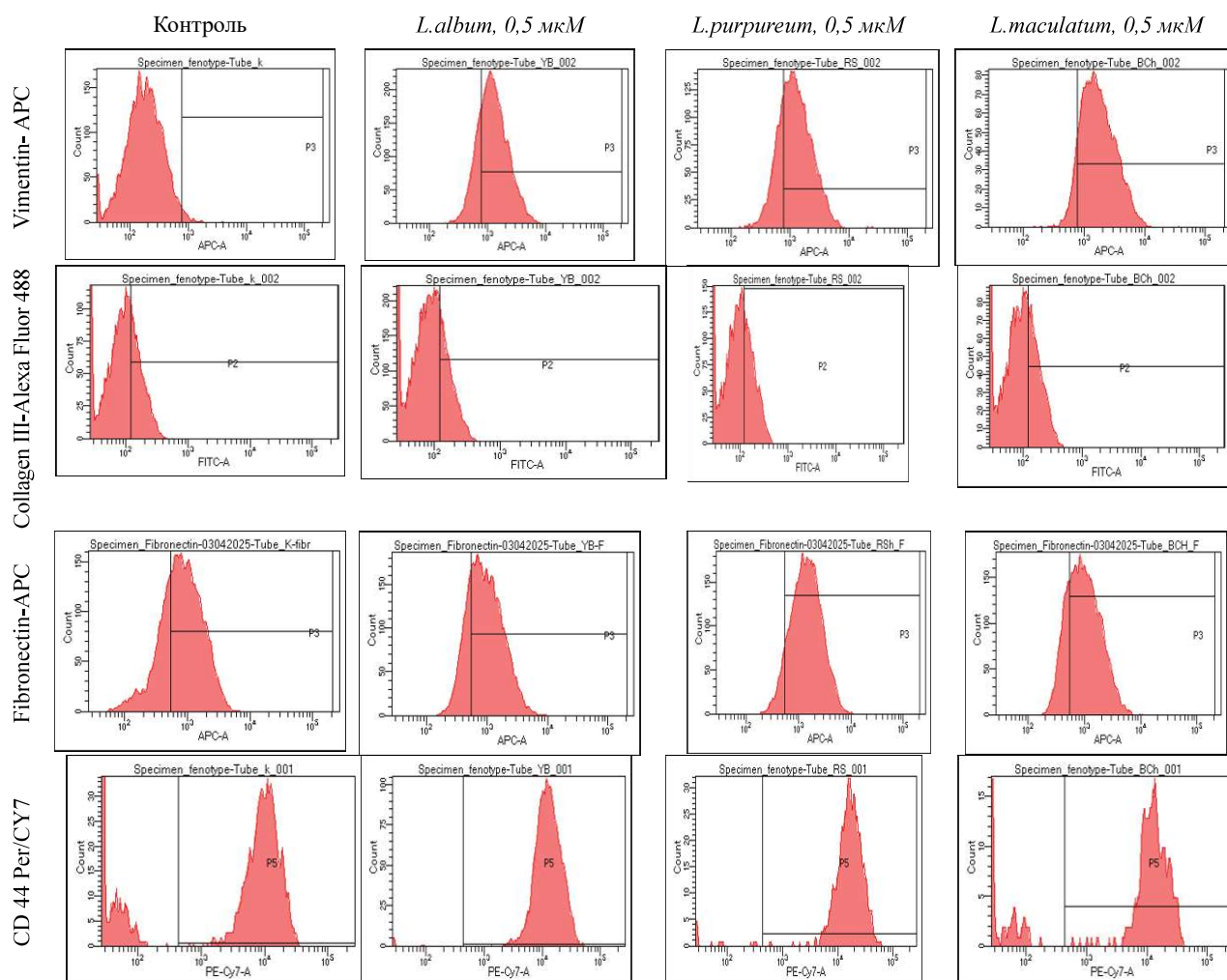


Рисунок 6 – Активность β-галактозидазы при 48 ч обработки ФД фитоекстрактами:

** – $p < 0,01$ по сравнению с группой стресс-индукции, ### – $p < 0,01$ по сравнению с контролем

ценцию клеток соединительной ткани в данной концентрации. При увеличении концентрации до 1,5 мкМ наблюдалось снижение жизнеспособности фибробластов и морфологические признаки торможения пролиферации, что указывает на возможность использования экстрактов растений рода *Lamium* (1,5 мкМ) в контексте профилактики патологического ремоделирования соединительной ткани.

Работа выполнена в рамках задания 3.2.1 «Выявить характер действия суммарных фитоэкстрактов, индивидуальных гидроксицинических кислот и флавоноидов на фибробласты кожи человека in vitro» (№ ГР 20230395) подпрограммы «Химические основы процессов жизнедеятельности» (Биоорганическая) Государственной программы научных исследований «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биоорганическая».

The work was carried out within the framework of task 3.2.1 “To identify the nature of the action of total phytoextracts, individual hydroxycinnamic acids and flavonoids on human skin fibroblasts in vitro” (No. GR 20230395) of the subprogram “Chemical foundations of life processes” (Bioorganic chemistry) of the State scientific research program “Chemical processes, reagents and technologies, bioregulators and bioorganic chemistry”.

Литература

- Herbal Products Used in Menopause and for Gynecological Disorders / M. Kenda, N. K. Glavač, M. Nagy [et al.] // *Molecules*. 2021 Dec. Vol. 26, № 24. Art. 7421. DOI: 10.3390/molecules26247421
- Evidence for the Use of Complementary and Alternative Medicine for Pelvic Inflammatory Disease: A Literature Review / D. Wang, Y. Jiang, J. Feng [et al.] // *Evidence-based complementary and alternative medicine*. 2022 Jan. Vol. 2022. Art. 1364297. DOI: 10.1155/2022/1364297
- Patient-reported therapeutic benefits of herbal medicinal products in the treatment of gynecological ailments / A. Dreßka, A. J. Scholl, T. Ochs [et al.] // *BMC complementary medicine and therapies*. 2025 Mar. Vol. 25, № 1. Art. 99. DOI: 10.1186/s12906-025-04761-w
- DeLeon-Pennell, K. Y. Fibroblasts: The arbiters of extracellular matrix remodeling / K. Y. DeLeon-Pennell, T. H. Barker, M. L. Lindsey // *Matrix biology*. 2020 Sep. Vol. 91/92. P. 1–7. DOI: 10.1016/j.matbio.2020.05.006
- Cellular Senescence in Endometrium: A Pivotal Regulator in Physiological Remodeling and Pathological Disorders / Z.-Y. Yan, W.-J. Zhou, J.-F. Ye [et al.] // *International journal of biological sciences*. 2025 Oct. Vol. 21, № 15. P. 6745–6758. DOI: 10.7150/ijbs.123036
- Human Skin Fibroblasts as an In Vitro Model Illustrating Changes in Collagen Levels and Skin Cell Migration Under the Influence of Selected Plant Hormones / A. Jabłońska-Trypuć, W. Pankiewicz, E. Wolejko [et al.] // *Bioengineering*. 2024 Nov. Vol. 11, № 12. Art. 1188. DOI: 10.3390/bioengineering11121188
- Ботоева, Е. А. Фитотерапия воспалительных заболеваний женских половых органов / Е. А. Ботоева // *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2011. № 1, ч. 2. С. 31–34.
- Патент ВУ 18841, МПК С 12N5/077 (2010.01). Способ получения фибробластов кожи человека для трансплантации в условиях культуры : № а20140126 : заявлено 20.02.2014 : опубл. 30.12.2014 / Квачева З. Б., Бутенко А. В., Василевич И. Б., Вологовский И. Д. ; заявитель УБГУ «НИИ физико-химических проблем». 6 с.
- Терлецкая, В. А. Разработка параметров экстракции сумм фенольных соединений, вербаскозида и кислоты хлорогеновой из растений рода *Lamium*, произрастающих в Республике Беларусь / В. А. Терлецкая, Р. И. Лукашов // *Вестник фармации*. 2025. № 3. С. 10–23. DOI: 10.52540/2074-9457.2025.3.10
- Quantum Dots: Applications in Biology (Methods in Molecular Biology) / eds.: A. Fontes, B. S. Santos. New York : Springer, 2020. 320 p.
- Induction of replicative senescence biomarkers by sublethal oxidative stresses in normal human fibroblast / P. Dumont, M. Burton, Q. M. Chen [et al.] // *Free radical biology and medicine*. 2000 Feb. Vol. 28, № 3. P. 361–373. DOI: 10.1016/s0891-5849(99)00249-x
- Государственная фармакопея Республики Беларусь : (ГФ РБ II) : разработана на основе Европ. Фармакопеи : в 2 т. : введ. в действие с 1 июля 2016 г. приказом М-ва здравоохранения Респ. Беларусь от 31.03.2016 г. № 270 / Н. В. Александрова, Н. А. Алексеев, Л. С. Бернович [и др.] ; М-во здравоохранения Респ. Беларусь, РУП «Центр экспертизы и испытаний в здравоохранении». Т. 2 : Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья. Молодечно : Победа, 2016. 1367 с.
- Quercetin can act either as an inhibitor or an inducer of the mitochondrial permeability transition pore: A demonstration of the ambivalent redox character of polyphenols / U. De Marchi, L. Biasutto, S. Garbisa [et al.] // *Biochimica et biophysica acta*. 2009 Dec. Vol. 1787, № 12. P. 1425–1432. DOI: 10.1016/j.bbabi.2009.06.002
- Natural Phytotherapeutics in Dermatology and Cosmetology: Bioactive Potential of Grape Pomace on Human Skin Fibroblasts / B. Domagała, J. Orlińska, M. Duda [et al.] // *Molecules*. 2025 Dec. Vol. 30, № 24. Art. 4679. DOI: 10.3390/molecules30244679
- Effect of *Elaeagnus angustifolia* extract on in vitro wound healing of human dermal fibroblast cells / E. Azaryan, S. Sarfi, S. F. Hosseini [et al.] // *BMC research notes*. 2023 Dec. Vol. 16, № 1. Art. 364. DOI: 10.1186/s13104-023-06644-0
- Differential Anti-Fibrotic and Remodeling Responses of Human Dermal Fibroblasts to *Artemisia* sp., Artemisinin, and Its Derivatives / P. Weathers, M. Towler, B. H. Kiani [et al.] // *Molecules*. 2024 May. Vol. 29, № 9. Art. 2107. DOI: 10.3390/molecules29092107
- Cell surface markers for mesenchymal stem cells related to the skeletal system: A scoping review / L. N. Fonseca, S. Bolívar-Moná, T. Agudelo [et al.] // *Heliyon*. 2023 Feb. Vol. 9, № 2. Art. e13464. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e13464
- Long Term Exposure to Myricetin Affects Changes CD105 Expression and Differentiation Potential of Mesenchymal Stem Cells / K. Izgi, M. F. Sonmez, H. Canatan, B. Iskender // *Tissue engineering and regenerative medicine*. 2017 Mar. Vol. 4, № 2. P. 113–121. DOI: 10.1007/s13770-016-0020-3

19. Tamri, P. Modulation of Extracellular Matrix by Scrophularia striata Extract in Vitro: A Potential Antiscarring Agent / P. Tamri, R. Haddadi, F. J. Jouni // Jundishapur journal of natural pharmaceutical products. 2020 Aug. Vol. 15, № 3. Art. e95301. DOI: 10.5812/jjnpp.95301
20. Hibiscus syriacus Extract from an Established Cell Culture Stimulates Skin Wound Healing / O. di Martino, A. Tito, A. De Lucia [et al.] // BioMed research international. 2017. Vol. 2017. Art. 7932019. DOI: 10.1155/2017/7932019
21. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo / G. P. Dimri, X. Lee, G. Basile [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1995 Sep. Vol. 92, № 20. P.9363–9367. DOI: 10.1073/pnas.92.20.9363
22. Ulmus macrocarpa Hance Extracts Attenuated H₂O₂ and UVB-Induced Skin Photo-Aging by Activating Antioxidant Enzymes and Inhibiting MAPK Pathways / S.-I. Choi, J.-H. Lee, J.-M. Kim [et al.] // International journal of molecular sciences. 2017 Jun. Vol. 18, № 6. Art. 1200. DOI: 10.3390/ijms18061200
23. Yang, Y. Dandelion Extracts Protect Human Skin Fibroblasts from UVB Damage and Cellular Senescence / Y. Yang, S. Li // Oxidative medicine and cellular longevity. 2015. Vol. 2015. Art. 619560. DOI: 10.1155/2015/619560

Поступила 22.01.2026 г.

Принята в печать 19.06.2026 г.

References

1. Kenda M, Glavač NK, Nagy M, Dolenc MS, Oemonom B. Herbal Products Used in Menopause and for Gynecological Disorders. *Molecules*. 2021 Dec 8;26(24):7421. doi: 10.3390/molecules26247421
2. Wang D, Jiang Y, Feng J, Gao J, Yu J, Zhao J, et al. Evidence for the Use of Complementary and Alternative Medicine for Pelvic Inflammatory Disease: A Literature Review. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2022 Jan;2022:1364297. doi: 10.1155/2022/1364297
3. Dreßka A, Scholl AJ, Ochs T, Kelber O, Mösges R, Raskopf E, et al. Patient-reported therapeutic benefits of herbal medicinal products in the treatment of gynecological ailments. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2025 Mar;25(1):99. doi: 10.1186/s12906-025-04761-w
4. DeLeon-Pennell KY, Barker TH, Lindsey ML. Fibroblasts: The arbiters of extracellular matrix remodeling. *Matrix Biology*. 2020 Sep;91-92:1-7. doi: 10.1016/j.matbio.2020.05.006
5. Yan ZY, Zhou WJ, Ye JF, Xie F, Zhang CX, Li MQ. Cellular Senescence in Endometrium: A Pivotal Regulator in Physiological Remodeling and Pathological Disorders. *International Journal of Biological Sciences*. 2025 Oct;21(15):6745-6758. doi: 10.7150/ijbs.123036
6. Jabłońska-Trypuć A, Pankiewicz W, Wolejko E, Sokołowska G, Estévez J, Sogorb MA, et al. Human Skin Fibroblasts as an In Vitro Model Illustrating Changes in Collagen Levels and Skin Cell Migration Under the Influence of Selected Plant Hormones. *Bioengineering*. 2024 Nov;11(12):1188. doi: 10.3390/bioengineering11121188
7. Botoeva EA. Phytotherapy of inflammatory diseases of the female genital organs. *Byulleten' VSNTs SO RAMN*. 2011;(1, ч 2):31-34. (In Russ.).
8. Kvacheva ZB, Butenko AV, Vasilevich IB, Volotovskiy ID; zayavitel' UBGU «NII fiziko-khimicheskikh problem». Patent BY 18841, MPK C 12N5/077 (2010.01). Method of obtaining fibroblasts of human skin for transplantation under cultural conditions: № a20140126: zayavleno 20.02.2014: opubl 30.12.2014. 6 p. (In Russ.).
9. Terletskaia VA, Lukashov RI. Development of parameters for the extraction of the sum of phenolic compounds, verbascoside and chlorogenic acid from plants of the genus *Lamium* grown in the Republic of Belarus. *Vestnik Farmatsii*. 2025;(3):10-23. (In Russ.). doi: 10.52540/2074-9457.2025.3.10
10. Fontes A, Santos BS, eds. *Quantum Dots: Applications in Biology (Methods in Molecular Biology)*. New York: Springer; 2020. 320 p.
11. Dumont P, Burton M, Chen QM, Gonos ES, Fripiat C, Mazarati JB, et al. Induction of replicative senescence biomarkers by sublethal oxidative stresses in normal human fibroblast. *Free Radical Biology and Medicine*. 2000 Feb;28(3):361-373. doi: 10.1016/s0891-5849(99)00249-x
12. Aleksandrova NV, Alekseev NA, Bernovich LS, Alekseev NA, Bernovich LS, Buzuk AG; M-vo zdravookhraneniya Resp Belarus', RUP "Tsentr ekspertiz i ispytaniy v zdravookhraneni". State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus: (GF RB II): razrab na osnove Evrop Farmakopei: v 2 t: vved v deistvie s 1 iyulya 2016 g. prikazom M-va zdravookhraneniya Resp Belarus' ot 31.03.2016 g. № 270. T 2: Kontrol' kachestva substansiy dlya farmatsevticheskogo ispol'zovaniya i lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya. Molodechno, RB: Pobeda; 2016. 1367 p. (In Russ.).
13. De Marchi U, Biasutto L, Garbisa S, Toninello A, Zoratti M. Quercetin can act either as an inhibitor or an inducer of the mitochondrial permeability transition pore: A demonstration of the ambivalent redox character of polyphenols. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2009 Dec;1787(12):1425-1432. doi: 10.1016/j.bbmbio.2009.06.002
14. Domagała B, Orlińska J, Duda M, Setkowicz-Janeczko Z, Starzyk M, Piasna-Supecka E, et al. Natural Phytotherapeutics in Dermatology and Cosmetology: Bioactive Potential of Grape Pomace on Human Skin Fibroblasts. *Molecules*. 2025 Dec;30(24):4679. doi: 10.3390/molecules30244679
15. Azaryan E, Sarfi S, Hosseini SF, Saharkhiz M, Vazifeshenas-Darmiyani K, Naseri M. Effect of *Elaeagnus angustifolia* extract on in vitro wound healing of human dermal fibroblast cells. *BMC Research Notes*. 2023 Dec;16(1):364. doi: 10.1186/s13104-023-06644-0
16. Weathers P, Towler M, Kiani BH, Dolivo D, Dominko T. Differential Anti-Fibrotic and Remodeling Responses of Human Dermal Fibroblasts to *Artemisia* sp., Artemisinin, and Its Derivatives. *Molecules*. 2024 May;29(9):2107. doi: 10.3390/molecules29092107
17. Fonseca LN, Bolívar-Moná S, Agudelo T, Daniela Beltrán Liz, Camargo D, Correa N, et al. Cell surface markers for mesenchymal stem cells related to the skeletal system: A scoping review. *Heliyon*. 2023 Feb;9(2):e13464. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e13464
18. Izgi K, Sonmez MF, Canatan H, Iskender B. Long Term Exposure to Myrtucommulone-A Changes CD105 Expression and Differentiation Potential of Mesenchymal Stem Cells. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2017 Mar;14(2):113-121. doi: 10.1007/s13770-016-0020-3
19. Tamri P, Haddadi R, Jouni FJ. Modulation of Extracellular Matrix by *Scrophularia striata* Extract in Vitro: A Potential Antiscarring Agent. *Jundishapur journal of natural pharmaceutical products*. 2020 Aug;15(3):e95301. doi:

- 10.5812/jjnpp.95301
20. di Martino O, Tito A, De Lucia A, Cimmino A, Cicotti F, Apone F, et al. Hibiscus syriacus Extract from an Established Cell Culture Stimulates Skin Wound Healing. BioMed Research International. 2017;2017:7932019. doi: 10.1155/2017/7932019
21. Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, Roskelley C, et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1995 Sep;92(20):9363-9367. doi: 10.1073/pnas.92.20.9363
22. Choi SI, Lee JH, Kim JM, Jung TD, Cho BY, Choi SH, et al. Ulmus macrocarpa Hance Extracts Attenuated H₂O₂ and UVB-Induced Skin Photo-Aging by Activating Antioxidant Enzymes and Inhibiting MAPK Pathways. International Journal of Molecular Sciences. 2017 Jun;18(6):1200. doi: 10.3390/ijms18061200
23. Yang Y, Li S. Dandelion Extracts Protect Human Skin Fibroblasts from UVB Damage and Cellular Senescence. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2015;2015:619560. doi: 10.1155/2015/619560

Submitted 22.01.2026

Accepted 19.06.2026

Сведения об авторах:

Терлецкая Виктория Анатольевна – аспирант, ассистент кафедры фармацевтической химии с курсом повышения квалификации и переподготовки, УО «Белорусский государственный медицинский университет», <https://orcid.org/0009-0000-8848-4617>, email: terleckaiava@mail.ru;

Р.И. Лукашов – к.ф.н., доцент, заведующий кафедрой фармацевтической химии с курсом повышения квалификации и переподготовки, УО «Белорусский государственный медицинский университет», <https://orcid.org/0000-0001-5234-6319>;

А.В. Бутенко – младший научный сотрудник Лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии клеток Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси;

З.Б. Квачева – к.б.н., ведущий научный сотрудник Лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии клеток Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси;

А.Г. Полешко – к.б.н., заведующий Лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии клеток Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси.

Information about authors:

Victoryia A. Tsiarletskaia – postgraduate student, assistant of the Chair of Pharmaceutical Chemistry with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Belarusian State Medical University, <https://orcid.org/0009-0000-8848-4617>, email: terleckaiava@mail.ru;

R.I. Lukashou – Candidate of Pharmaceutical Sciences, associate professor, head the Chair of Pharmaceutical Chemistry with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Belarusian State Medical University, <https://orcid.org/0000-0001-5234-6319>.

A.V. Butenko – junior researcher, Laboratory of Molecular Biology and Cell Biotechnology, Institute of Biophysics and Cell Engineering, National Academy of Sciences of Belarus, email: annabutenka26@yandex.ru,

Z.B. Kvacheva – Candidate of Biological Sciences, leading researcher, Laboratory of Molecular Biology and Cell Biotechnology, Institute of Biophysics and Cell Engineering, National Academy of Sciences of Belarus, kvachzb@tut.by,

A.G. Poleshko – Candidate of Biological Sciences, head of the Laboratory of Molecular Biology and Cell Biotechnology, Institute of Biophysics and Cell Engineering, National Academy of Sciences of Belarus, renovacio888@yandex.ru.