

ВИВЧЕННЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТІ ВОДНОГО ЕКСТРАКТУ ЛИСТЯ ФЕЙХОА *IN VITRO*

Кононенко А. Г., Шаталова О. М.

Національний фармацевтичний університет

м. Харків, Україна

alevtina19820103@gmail.com

Вступ. Вивчення біологічної активності ксенобіотиків, у тому числі рослинних екстрактів, незалежно від подальшої мети їх використання, як правило, на першому етапі передбачає оцінку вивчення їх токсичності. На практиці подібне можна здійснити завдяки широкому впровадженню в експеримент моделей з використанням культур клітин, які високочутливі до впливу малих кількостей досліджуваних речовин, ефект яких може виявлятися *in vivo* лише за великих доз і через тривалий час.

Для визначення базової цитотоксичності застосовуються тести для визначення кількості життєздатних клітин з використанням різних барвників. Дані моделі дозволяють оцінити, з одного боку, токсичні впливи на цитоплазматичну мембрану або порушення механізмів її проникності, а з іншого боку інгібування процесів проліферації клітин та внутрішньоклітинного метаболізму.

Метою даної роботи було вивчення токсикологічних властивостей водного екстракту листя фейхоа (ВЕЛФ) з використанням клітинних культур методом *in vitro*.

Матеріали та методи. Для оцінки базової цитотоксичності ВЕЛФ використовували нативні клітини червоного кісткового мозку, які витягували на холоді з трубчастих кісток здорових щурів. Клітини кісткового мозку виділяли з діафізів стегнових кісток тварин. Отримана суспензія містила поодинокі клітини у кількості $2,0\text{-}2,1 \times 10^6$ клітин/мл.

Для дослідження ВЕЛФ попередньо упарювали і надалі використовували у вигляді водного розчину. Досліджувану речовину за допомогою дозатора вносили в планшет для імунологічних реакцій, після чого до кожного лунки додавали рівний об'єм клітинної суспензії кісткового мозку. Досліджували такі концентрації ВЕЛФ: 50 мкл/мл, 40 мкл/мл, 20 мкл/мл, 10 мкл/мл, 5 мкл/мл, 2,5 мкл/мл. Як контроль використовували фізіологічний розчин. Оцінку цитотоксичного ефекту субстанції проводили через 15, 30, 60, 90 хвилин інкубації.

Для визначення життєздатності клітин використовували метод забарвлення 0,1% розчином тріпанового синього, який не здатний проникати в клітину через неушкоджену клітинну мембрану, а селективно забарвлює мертві клітини з пошкодженою клітинною мембраною. Підрахунок життєздатних клітин виконували в камері Горяєва, результати виражали у відсотках життєздатних клітин від їх загальної кількості. Математичну обробку отриманих даних проводили методами варіаційної статистики за допомогою програми Microsoft Excel і Statistica.

Результати та їх обговорення. Результати дослідження базової цитотоксичності ВЕЛФ у тесті з використанням трипанового синього на культурі клітин червоного кісткового мозку щурів показали, що досліджуваний екстракт виявляв базовий цитотоксичний ефект залежно від дози та часу контакту. Так, ВЕЛФ у концентрації 50 мкл/мл викликав зниження кількості життєздатних клітин на 76,9-90,3% ($p < 0,05$) протягом 90 хв, у концентрації 40 мкл/мл – на 14,0-49,3% ($p < 0,05$) у всіх досліджуваних експозиціях з наростанням ефекту цитотоксичності у міру збільшення часу контакту клітин з діючою речовиною. Аналогічно, у концентрації 20 мкл/мл ВЕЛФ призводив до зниження кількості життєздатних клітин на 8,3-35,6% ($p < 0,05$) пропорційно до часу її впливу. При дії ВЕЛФ у концентрації 10 мкл/мл зниження кількості життєздатних клітин спостерігали у всіх досліджуваних експозиціях на 5,3-7,3% ($p < 0,05$), а в концентрації 5 мкл/мл та 2,5 мкл/мл досліджуваний екстракт не чинив суттєвого цитотоксичного ефекту протягом усього періоду спостереження.

Висновки. Даний скринінговий метод дозволив оцінити в експерименті *in vitro* цитостатичний ефект ВЕЛФ, що проявляється порушенням цілісності цитоплазматичної мембрани клітини і веде до загибелі клітини, залежно від дози та інтервалу впливу. Таким чином, в ході даного дослідження було встановлено, що ВЕЛФ у дозі 2,5 мкл/мл і 5 мкл/мл не був токсичним щодо клітин кісткового мозку щурів. LC 100 була відзначена на фоні дози 50 мкл/мл, а LC 50 – на фоні 40 мкл/мл.