

ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕКСТРАКТУ З КОРИ ВЕРБИ БІЛОЇ НА МОДЕЛІ ФІБРОБЛАСТІВ ШКІРИ

Підгайна В.В., Малоштан Л.М., Шаталова О.М.

Національний фармацевтичний університет, Харків

Водний екстракт кори верби білої в експериментальних дослідженнях на тваринах показав виражену протизапальну, ранозагоювальну і фотопротекторну дію. На основі водного екстракту з кори верби білої був розроблений лікарський засіб для зовнішнього застосування вигляді крему, який показав протизапальні властивості.

Метою дослідження стало вивчення впливу водного густого екстракту верби білої на проліферацію фібробластів шкіри в культурі. Дане дослідження є доцільним в рамках вивчення токсикологічних властивостей екстракту, а також може пояснювати деякі складові дії крему на його основі.

Для оцінки цитотоксичності екстракту з кори верби білої були обрані фібробласти шкіри мурчаків. Дана клітина культура легко піддається культивуванню *in vitro* і є стандартним об'єктом при доклінічних випробуваннях. Фібробласти - це клітини сполучної тканини, кількість їх в різних типах тканин варіюється. Фібробласти- це основні клітини дерми, головною функцією яких є утворення основної речовини і волокон, загоєння ран. Це пов'язано з активним синтезом компонента міжклітинної речовини. Одним з найбільш важливих факторів у процесах адгезії і стимуляції проліферативних процесів в рані, є фібронектин - високомолекулярний глікопротеїн, який синтезують фібробласти.

Матеріал і методи дослідження. Культура клітин була придбана в банку клітинних культур Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України та підтримувалися відповідно до рекомендацій виробника. Клітини культивували при 37 ° С і 5% CO₂. Для культивування фібробластів використовували живильне середовище DMEM з аланіл-глутаміном. Експерименти з вивчення цитотоксичного / цитостатичного ефекту Екстракт кори верби білої проводили в стандартних 24-ямоквих планшетах при досягненні моношару (3-5 днів). Для оцінки впливу досліджуваних речовин, моношар клітинної культура гепатоми інкубували з тестованим зразком протягом 48 годин. Паралельно інкубували контрольні зразки клітин (негативний контроль), в яких в якості препаратів порівняння додавали стерильний фосфатно-сольовий буфер.

Розчини досліджуваних речовин додавали до культурального середовища через 48 годин після посіву клітин. Цитотоксичність оцінювали, використовуючи

аналіз з кристалічним фіолетовим (0,1% розчин в 10% етанолі), по відношенню оптичної щільності на 630 нм в обробленій і контрольній культурі через 48 годин після додавання токсичного агента. Значення оптичної щільності прямо пропорційно числу тих клітин, що вижили. Кожен експеримент виконували у трьох повторностях.

Екстракт був використаний для дослідження цитотоксичності в діапазоні доз 0,5-200 мг/мл. Як розчинник використовували фізіологічний розчин.

Результати. На моделі *in vitro* експериментально встановлено, що токсична дія екстракту з кори верби білої щодо дермальних фібробластів мурчаків істотно залежить від дози. Результати тесту з генціанфіолетом на культурі клітин фібробластів мурчаків показало, що досліджуваний екстракт не чинить цитотоксичного впливу після культивування протягом 24 годин в діапазоні концентрацій від 0,5 до 50 мг/мл. Відсоток клітин, що вижили після контакту з досліджуваним екстрактом вірогідно знижувався під впливом доз 100-200 мг/мл. Дозозалежне зменшення їх життєздатності, яке було аутофагічним і неапоптичним. Після 48 годинного впливу екстракт в діапазоні доз від 50 до 200 мг/мл негативно впливав на прикріплення клітин та сповільнював їх ріст. Слід зазначити, що ці дози суттєво перевищують ефективну дозу за протизапальною активністю.

Висновки. Таким чином, отримані результати дослідження доводять, що водний екстракт з кори верби білої є безпечним по відношенню до термальних фібробластів.