

THE CYTOTOXIC EFFECT OF THE DRUG IZATIZON ON THE CULTURE OF HEK-293

O. Skrotska, N. Mikitenko

National University of Food Technologies

A. Potopalsky, L. Zaika, O. Balanova, T. Voloshchuk

Institute of Molecular Biology and Genetics

Key words:

Izatizon,
HEK-293,
MTT-test, cytotoxicity.

Article history:

Received 6.11.2014

Received in revised form
15.11.2014

Accepted 17.11.2014

Corresponding author:

skrotska@ya.ru

ABSTRACT

This work is devoted to study the cytotoxic effect of the drug izatizon on the culture of SOME 293. In the course of the studies used the drug izatizon at concentrations of 100, 10, 1 and 0.1 mg/ml, and cell culture Human Embryonic Kidney 293 cell (SOME 293) — tumor cells of the kidney of a human embryo, which grew on the environment DMEM with the addition of 10 % serum PAA. The analysis of the results of the MTT-test is performed by comparing the values of optical density in the experimental and control wells. As a result of the research it was found that investigated the drug has an effect on the investigated cell culture. It reduces cell viability of SOME 293 14.6 and 15.3 % at concentrations of the drug 10 and 100 µg/ml, while the concentration of 0.1 mg/ml almost no effect on the development of this cell line. Thus, we can conclude that the drug izatizon has a cytotoxic effect on the culture of SOME 293.

ЦИТОТОКСИЧНИЙ ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ ІЗАТІЗОН НА КУЛЬТУРУ НЕК-293

О.І. Скроцька, канд. біол. наук, Н.С. Микитенко, студ.

Національний університет харчових технологій

А.І. Потопальский, Л.А. Заїка

О.І. Болсунова, канд. біол. наук

Т.П. Волощук, канд. хім. наук

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України

Дана робота присвячена дослідженню цитотоксичної дії препарату ізатизон на культуру НЕК-293.

Дослідження проводили за допомогою МТТ-тесту з тривалості інкубації клітин з препаратом 24 години. В результаті проведених досліджень було встановлено, що досліджуваний нами препарат має вплив на досліджувану культуру клітин. Він знижує життєздатність клітин НЕК-293 на 14,6–15,3 % при концентраціях препарату 10 та 100 мкг/мл, а при концентрації 0,1 мкг/мл майже не впливає на розвиток даної клітинної лінії. Таким чином, можна зробити висновок, що препарат ізатизон володіє цитотоксичним впливом на культуру НЕК-293. Це дає можливість для проведення більш розширених досліджень даного препарату.

Ключеві слова: Ізатизон, НЕК-293, МТТ-тест, цитотоксичність.

Вступ. Однією з глобальних проблем людства є рак. Згідно статистики відомо, що у світі за останні 100 років за рівнем захворюваності та смертності онкопатологія перемістилася з десятого місця на друге, поступаючись лише хворобам серцево-судинної системи. За даними ВООЗ, щороку знову хворіють 10 млн. осіб. Як стверджує ВООЗ, смертність від раку до 2030 року зросте на 45 %, порівняно з рівнем 2007 року. За даними Інституту раку в 2009 році на обліку онкологічних установ складалося 961183 особи, з них 338 635 чоловіки і 622 548 жінки [4].

На даний момент в Україні з цією хворобою борються медики 46 лікувальних онкологічних закладів і Національного Інституту раку. Але не всі хворі можуть потрапити вчасно

на лікування, оскільки дефіцит лікарняних ліжок для онкохворих досягає в середньому по країні 29 % (офіційно). А рівень забезпеченості засобами для лікування онкохворих, враховуючи тих, що перебувають в лікарні, у більшості регіонів країни не перевищує 30 %, тому фінансовий тягар на придбання необхідних ліків лягає на плечі хворого та його родини [3].

Створення та дослідження вітчизняних препаратів нового покоління, які дозволяють лікувати вірусні захворювання та рак, при цьому не завдаючи шкоди організму-хазяїну, а також матимуть меншу вартість порівняно з зарубіжними препаратами дозволять вирішити цю проблему. До таких препаратів можна віднести ізатизон (комплексний препарат, що складається з метисазону, ДМСО та ПЕГ) [1], який використовують у ветеринарії. Проведення даних досліджень розширить можливість використання ізатизону у клінічній практиці.

Основний механізм дії даного препарату полягає в тому, що кожен із компонентів має певні фармакологічні властивості. Метисазон проявляє противірусну дію шляхом пригнічення синтезу білків, із яких будується вірусна оболонка, крім того, даний компонент володіє проти раковою дією [1]. Диметилсульфоксид (димексид, ДМСО) є добрим розчинником, легко проникає у різні тканини тварин та рослин, використовується як консервант органів тварин, має ряд цінних фармакологічних властивостей, підвищує проникність клітинних мембран та бар'єрів, не пошкоджуючи їх. Він здатний до активного транспорту лікарських речовин, розчинених у ньому. Має широкий діапазон терапевтичного впливу завдяки протизапальній (антигістамінній), бактеріостатичній, фунгістатичній, анальгезуючій, діуретичній, радіо- і кріопротекторній, судинорозширюючій дії. Препарат має виражену десенсибілізуючу дію. При застосуванні в індуктивну фазу імуногенезу полегшує перебіг анафілактичного шоку. ДМСО потенціює дію стероїдів, гепарину, інсуліну, цитостатиків, а також підвищує резистентність тканин до гіпоксії [1]. Поліетиленгліколь-400 (поліетиленоксид, ПЕГ) використано як носій лікарських речовин. ПЕГ активніший, ніж жиринові основи, провідник лікарських компонентів через шкіряний бар'єр, його активність як провідника посилюється в умовах запалення. Йому властива певна бактерицидна дія [1].

Тому, дослідження цитотоксичного впливу такого препарату на культуру НЕК-293 дозволить розширити спектр використання препарату ізатизон, що є на сьогоднішній день актуально.

Мета. Мета даної роботи полягає у дослідженні цитотоксичного впливу препарату ізатизон на культуру НЕК-293

Матеріали і методи. Дослідження цитотоксичного впливу препаратів на культуру клітин Human Embryonic Kidney 293 cell (НЕК-293) — пухлинні клітини нирок ембріона людини, які вирощували на середовищі ДМЕМ з додаванням 10 % сироватки РАА. Дане дослідження проводили за допомогою МТТ-тесту з тривалості інкубації клітин з препаратом 24 години. Даний метод заснований на здатності мітохондріальних дегідрогеназ конвертувати водорозчинну сіль тетразолію 3-(4,5-диметил-2-тіазоліл)-2,5-дифенілтетразолію бромід (МТТ) у формазан [2]. Аналіз результатів МТТ-тесту проводять шляхом порівняння значень оптичної густини в дослідних і контрольних лунках. Величина оптичної густини корелює з кількістю живих клітин.

Результати та обговорення. У ході досліджень використовували препарат ізатизон у концентраціях 100, 10, 1 та 0,1 мкг/мл. Він являє собою маслянисту рідину, темно-жовтого кольору, гіркий на смак із специфічним запахом. При температурі — 10—15 °С застигає. Має антисептичні і протизапальні властивості. Не пригнічує кровотворення, не має кумулятивних властивостей. При застосуванні в індуктивну фазу імуногенезу зменшує прояви анафілактичного шоку, має властивість регулювати показники специфічної і неспецифічної резистентності при порушенні імунного статусу організму, впливаючи на підвищення активності систем інтерферону і фагоцитозу. Знижує тонус м'язів тонкої кишки, збільшує чутливість до ацетилхоліну і хлористого барію [1].

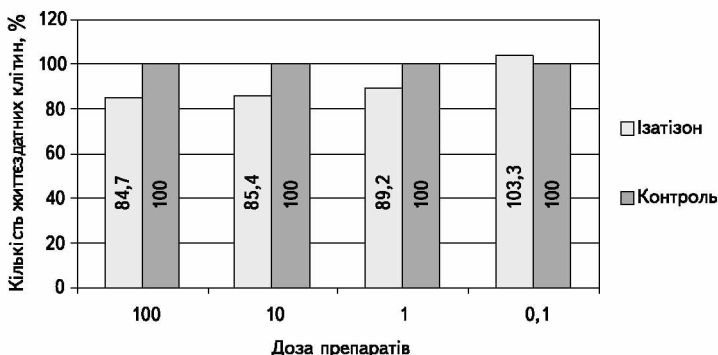
В ході експериментальних досліджень було встановлено, що досліджуваний нами препарат має вплив на культуру клітин НЕК-293 (табл.).

Таблиця. Вплив препаратів на життєздатність клітин лінії НЕК-293 за тривалості інкубації 24 години (за оптичною густиною)

Оптична густина при концентрації препарату мкг/мл	Препарат	
	Ізатизон	Контроль
100	137,33±7,42 (3,2)	162,2±2,48
10	138,5±1,5 (8,2)	
1	144,67±10,4 (1,6)	
0,1	167,5±0,5 (2,1)	

При перерахунку оптичної густини на відсоток життєздатності клітин культури НЕК-293 (рис), видно, що ізатизон знижує життєздатність клітин НЕК-293 на 14,6—15,3 % при

концентраціях препарату 10 та 100 мкг/мл, при концентрації 1 мкг/мл кількість життєздатних клітин даного мікроорганізму знизилась на 10 %, при концентрації 0,1 мкг/мл препарат майже не впливає на розвиток даної клітинної лінії.



Залежність кількості життєздатних клітин культури НЕК-293 від дози препарату

Висновки. Таким чином, можна зробити висновок, що препарат ізатизон володіє цитотоксичним впливом на культуру НЕК-293. Це дає можливість для проведення більш розширених досліджень даних препаратів. Крім того, існує припущення про те, що препарат володіє деякою протипухлинною активністю, яку необхідно вивчати.

ЛІТЕРАТУРА

1. Заїка Л.А. Протівірусні, протипухлинні та імуномодуючі властивості лікувального препарату Ізатизон: монографія / Заїка Л.А., Болсунова О.І., Потопальський А.І. — К.: Колобів. 2010. — 212 с.
2. *Культура животної клітин*: практичне керівництво / Р.Я. Фрешні; пер. 5-го англ. изд. — М.: БИНОМ. Лабораторія знань, 2010. — 691 с.
3. Плохотнюк Н. Рак — не вирок, головне — вчасно лікуватися // ХайВей. Тобі є що розповісти світові. — 2012. Режим доступу: h.ua/story/366280
4. Смирнова С. Статистика рака в Украине / С. Смирнова, О. Волик, К. Бурчина // Дар Янгола открий серце — вибери життя! — Режим доступу: darjangola.org.ua/o-nas/statistika-raka-v-ukraine/.

ЦИТОТОКСИЧНОЕ ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА ИЗАТИЗОН НА КУЛЬТУРУ НЕК-293

О.И. Скроцкая, Н.С. Микитенко,
Национальный университет пищевых технологий
А.И. Потопальский, Л.А. Заика,
О.И. Болсунова, Т.П. Волощук.
Институт молекулярной биологии и генетики

Данная работа посвящена исследованию цитотоксического действия препарата изатизон на культуру НЕК-293. Исследования проводили с помощью МТТ-теста по продолжительности инкубации клеток с препаратом 24 часа. В результате проведенных исследований было установлено, что исследуемый нами препарат имеет влияние на исследуемую культуру клеток. Он снижает жизнеспособность клеток НЕК-293 на 14,6–15,3 % при концентрациях препарата 10 и 100 мкг/мл, а при концентрации 0,1 мкг/мл почти не влияет на развитие данной клеточной линии. Таким образом, можно сделать вывод, что препарат изатизон обладает цитотоксическим влиянием на культуру НЕК-293. Это дает возможность для проведения более широких исследований данного препарата.

Ключевые слова: Изатизон, НЕК-293, МТТ-тест, цитотоксичность.