

## **Вивчення впливу препарату амітозин на клітини тератобластоми яєчників людини (клітини лінії РА-1).**

Потопальська Ю. А., Лукаш Л.Л., Підпала О.В.

*Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, вул. Київ, Україна, E-mail: [juliakiev77@rambler.ru](mailto:juliakiev77@rambler.ru)*

### **Резюме.**

Вивчено динаміку проникнення та впливу препарату амітозин на клітини лінії РА-1 (клітини тератобластоми яєчників людини) та досліджено власну флуоресценцію цього препарату.

Встановлено, що амітозин проникає у клітини лінії РА-1, спричиняючи значний цитотоксичний ефект та виявляючи при цьому здатність до власної флуоресценції.

Амітозин – протипухлинний препарат, який поряд з високою протипухлинною дією, має мінімальну токсичність, не пригнічує кровотворення та імунітет [1]. Цей препарат є сумою тіофосфамідних похідних алкалоїдів чистотілу. Особливою властивістю цих алкалоїдів є наявність у них власної флуоресценції в ультрафіолетових променях (з довжиною хвилі 330-360 нм). Переважно, це флуоресценція різними відтінками жовтого кольору (берберин, сангвінарин) або синього – хелідонін [2]. За рахунок цього препарати чистотілу, в тому числі і амітозин, здатні до власної флуоресценції [3].

Амітозин має широкий спектр протипухлинної дії в експериментальній і клінічній онкології [4].

Метою нашої роботи було вивчення протипухлинної дії препарату амітозин на клітини лінії РА-1 (клітини тератобластоми яєчників людини) та здатність препарату до власної флуоресценції.

Культуру РА-1 одержано із Російської колекції клітинних культур (Санкт-Петербург). За морфологією клітини даної лінії є епітеліоподібними [5].

Клітини вирощували у поживному середовищі Ігла у модифікації Дюльбекко (DMEM – Dulbecco's modified Eagle's medium, Cellgro, USA) з додаванням ембріональної сироватки телят (10%, Сангва, Львів, Україна).

Перед використанням сироватку інактивували прогріванням протягом 30 хв при температурі 56<sup>0</sup>С. У середовище додавали 100 ОД/мл пеніциліну і 100 мг/мл стрептоміцину (Київмедпрепарат, Україна).

При пересіванні клітини знімали 0,25 %-м розчином трипсину і 0,02 %-м версену у співвідношенні 1:1.

Клітини культивували при температурі 37<sup>0</sup>С в атмосфері, яка містить 5% CO<sub>2</sub> [6].

Люмінесцентно-мікроскопічну картину клітин досліджували за допомогою люмінесцентного мікроскопа МЛ-2 („ЛОМО”, Росія).

Використовували препарат амітозин (ІОВНУ, Україна) з концентрацією 1 мг/мл, розчинник препарату, дистильовану воду, клітини лінії РА-1 (клітини тератобластоми яєчників людини).

Клітини розсівали і через 24 год після інкубування обробляли препаратом у робочій концентрації 1 мг/мл.

У досліді використовували 2 контролі: клітини, оброблені розчинником препарату і клітини, оброблені дистильованою водою.

Простежили, що препарат проникає в пухлинні клітини лінії РА-1 і спочатку локалізується навколо ядра. У концентрації 1 мг/мл амітозин виявляє значний цитотоксичний ефект. Через 10 хв після інкубації клітин з амітозином спостерігали флуоресценцію більшості клітин.

Через 4 год інкубації клітин із препаратом половина клітин гинула, а через 24 год інкубації кількість живих клітин становила не більше 10%.

У досліді ми спостерігали флуоресценцію мертвих клітин. За своїм характером флуоресценція мертвих клітин і клітин, оброблених препаратом, на початкових етапах відрізнялася. Мертві клітини мали рівномірну флуоресценцію, тоді як пухлинні клітини, оброблені амітозином - яскраву пульсуючу.

В обох контролях флуоресценції живих клітин лінії РА-1 не спостерігали, процес загибелі клітин був не виражений.

### **Висновок.**

При експериментальному вивченні протипухлинної дії препарату амітозин, встановлено, що амітозин в концентрації 1 мг/мл (в добовій експозиції) виявляє значний цитотоксичний ефект на клітини тератобластоми яєчників людини (клітини лінії РА-1). Препарат проникає в пухлинні клітини, спочатку локалізується навколо ядра, а потім призводить до руйнування і загибелі цих клітин.

Отримані результати вказують на перспективність широкого вивчення і застосування протипухлинного препарату амітозин для контролю вибірковості його дії та діагностики пухлин.

### **Список літератури:**

1. Петличная Л. И., Потопальский А. И., Ивасивка С. В. Авт.свид. № 1007353 Т N<sup>I</sup>,N<sup>II</sup>,N<sup>III</sup>-три[2—(N-берберино) этиламида] тиофосфорной кислоты, обладающие противоопухолевой активностью – 23.11.82.
2. Kovar J., Simek K., Kozouskova E., Klukanova H., Slavik J. Fluorescence properties of some isoquinoline alkaloids // Coll. Czech Chem. Commun. – 1985. – N 50. – P. 1312-1328.
3. Потопальский А. И., Петличная Л. И., Ивасивка С. В. Барбарис и его препараты в биологии и медицине. – К.: Наукова думка, 1989. – 115с.
4. Потопальский А. И. Препараты чистотела в биологии и медицине.- К. : Наукова думка, 1992. – С. 102-108; С. 140-183.
5. Catalogue Russian cell culture collection (RCCC). - St. Peterburg; OMSK, 1999.- 80 p.
6. Адамс Р. Методы культуры клеток для биохимиков: Пер. с англ. канд. биол. наук М.А. Панова /Под ред. д-ра биол. наук В.Ю. Полякова – М.: Мир, 1983.-263с.