

кий С. Д., Балаховский И. С. Методы химического анализа крови. — М.: Медгиз. — 1953. — С. 630. 9. Lowry O. H., Rosebrough N. G., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent / Biol. Chem. — 1951. — Vol. 193. — No. 1. — P. 265-275. 10. Березовський В. Я., Кліменко О. С. Модифікована полярографічна комірка // Фізіол. журн. — 1977. — 22. — № 2. — С. 272-274. 11. Chance B., Williams G. R. Advances Enzymol., — 1956. — Vol. 17., P. 65. 12. Гительзон М. И., Терсков И. А. Эритрограммы как метод клинического исследования крови. — Красноярск: Изд-во Сиб. отд. АН СССР, — 1959. — С. 24.

BIOLOGICAL EFFECTS OF IONIZING RADIATION WITH DOSES 0.5 Gi & 1.0 Gi AT RATS.

L. A. Gorchakova, L. A. Porokhnyak-Ganovska,
L. A. Derevyanko, O. V. Bozhok, M. Y. Skachek

Abstract. Contents of hormones (corticosterone, adrenaline, triiodinethyronine thyroxine, insuline), acid haemolysis of erythrocytes, peroxydation in blood, catalase activity and hemoglobine content in erythrocyte, oxydative phosphorylation in rat liver have been studied. On the basis of received data dose 0/5 Gi may be considered critical, while the organism mobilizes the inner functional resources and the adaptational process has not begun yet. Meantime the organism becomes very sensitive to injurious factors any nature they are.

Key words: ionising irradiation, biological effects, hormones, oxidative metabolism, prooxydation.

Research Center for Radiation Medicine, Academy Sciences of Ukraine (Kyiv).

УДК 612.014.46:547.461.2]:582.893.6

С. Є. Дейнека, І. Ф. Мецишен, О. О. Хавич

ОСОБЛИВОСТІ КОМБІНОВАНОГО ВПЛИВУ НА КУЛЬТУРУ КЛІТИН HeLa НАСТОЯНОК БОЛИГОЛОВУ ПЛЯМИСТОГО ТА ОКСАЛАТУ КАЛІЮ

Лабораторія промислової гігієни (зав. — доц. С. Є. Дейнека)
НДІ медико-екологічних проблем МОЗ України, кафедра медичної хімії
(зав. — проф. І. Ф. Мецишен) Буковинської державної медакадемії

Ключові слова: настоянка болиголову плямистого, культура клітин, оксалат калію, *in vitro*, протективна дія.

Резюме. Із застосуванням альтернативного методу дослідження *in vitro* на культурі клітин HeLa вивчено характер комбінованого впливу різних розведень (1:10 та 1:100) спиртових настоянок сухого листя, квітів і насіння болиголову плямистого та оксалату калію в дозі 200 мкг/мл. Встановлено вірогідний протективний ефект спиртових настоянок сухого листя та квітів болиголову плямистого стосовно токсичної дії оксалату калію на ізольовані клітини.

Вступ. Несприятлива, а в ряді регіонів і катастрофічна, екологічна ситуація вимагає лікувальних і профілактичних заходів, направлених на поліпшення чи збереження здоров'я людей, які піддавались впливу різної тривалості та інтенсивності хімічних сполук органічної і неорганічної природи чи фізичних та біологічних факторів. Використання в даному випадку традиційної медикаментоз-

ної терапії далеко не завжди ефективно та інколи навіть протипоказане, оскільки надмірна і деколи непродумана хімізація народного господарства, нерідко необгрунтоване використання різних лікарських засобів, суттєві зміни в харчуванні людей (використання консервантів, барвників та ін.) призвели до зростання частоти розповсюдження алергічних захворювань і станів [4]. Це зумовлює необхідність пошуку більш безпечних засобів лікування й особливо профілактики. В якості таких засобів в останній час все частіше використовуються препарати, отримані на основі лікарських рослин та плодо-ягідних культур, біологічно активні чинники яких, порівняно з синтетичними препаратами, більш близькі людському організму за своєю природою, легко включаються в процеси життєдіяльності і є більш біодоступними [3]. Однак вони потребують поглибленого вивчення раніше невідомих механізмів дії з метою розширення кола показань до їх використання, особливо у випадках поліморбідних уражень людського організму та обгрунтування і розробки методик лікування екозалежних варіантів хвороб. Це в повній мірі стосується і рослин карпатського регіону: арніки гірської, родіоли рожевої, перчаку прямостоячого, болиголову та ін. [3].

Мета та завдання дослідження. У зв'язку з цим, метою нашої роботи було експериментальне підтвердження спочатку в умовах *in vitro* можливості використання спиртової настоянки (галенового препарату) однієї з рослин карпатського регіону — болиголову для запобігання шкідливого впливу хімічних сполук (як одного з негативних факторів навколишнього середовища) на основі виявлення у неї протективної (захисної) дії щодо токсичного впливу солей металів.

Досліджуваним ксенобіотиком нами обрано сіль металу, оскільки серед хімічних речовин, що забруднюють об'єкти зовнішнього середовища (повітря робочої зони, атмосферне повітря, водойми, ґрунт, харчові продукти), метали та їх сполуки утворюють значну групу токсикантів, яка багато в чому визначає антропогенний вплив на екологічну структуру навколишнього середовища і на саму людину [7]. Зростаючі масштаби виробництва та використання металів, їх висока токсичність, здатність накопичуватись в організмі людини, викликати шкідливий вплив навіть у порівняно низьких концентраціях чи дозах є обгрунтованою причиною для віднесення металів до пріоритетних забрудників виробничого та оточуючого середовища [8]. За прогнозами та оцінками у майбутньому, вони можуть стати більш небезпечними, ніж відходи атомних електростанцій і органічні речовини та вийти на перше місце, чи розділити його з пестицидами [5, 7]. В Україні, приміром, за останні роки в міських стічних водах у 10. 8 разів зростає кількість свинцю, 5. 2 — міді, 4. 8 — нікелю, 3. 7 — цинку [6], щорічно в ґрунт разом з пестицидами і мінеральними добривами вноситься 1800 т свинцю, 400 т кадмію, 2200 т цинку, 200 т міді [8].

Об'єкти та методи. Виявлення можливої протективної дії спиртової настоянки болиголову щодо токсичного впливу солей металів проведено з використанням альтернативного методу дослідження *in vitro* на культурі клітин HeLa (рак шийки матки). Вибір вказаного методу дослідження зумовлений його високою чутливістю та інформативністю, простотою і швидкістю постановки, хорошою відтворюваністю [10,11,12].

Спиртову настоянку (галеновий препарат) болиголову плямистого (*Copitum maculatum*), який довгий час у малих дозах використовується в медицині як знечулюючий, протисудомний, протизапальний засіб [9], готували методом мацерції за загальноприйнятою рецептурою виготовлення настоянок з отруйних та сильнодіючих речовин [1]. Окремо готувались настоянки сухого листя, квітів та насіння болиголову на 70 % спирту в співвідношенні 1:10. Вказані настоянки розводились пізніше в 10 та 100 разів і такі два розведення вивчались у наших дослідженнях.

В якості модельного ксенобіотика обрано калій щавелевокислий, оскільки він, з одного боку, широко використовується у промисловості та побуті, у зв'язку з чим

може проявляти негативний вплив на здоров'я людини, а з іншого боку, добре вивчений характер його ізольованої цитотоксичної дії на культуру клітин [2].

Процедура постановки дослідів була такою. Попередньо для перевірки відсутності цитотоксичної дії у самих настоянок болиголову живильне середовище, в якому в стандартних умовах культивувалась культура клітин HeLa, заміщали підтримуючим середовищем, що містило у 1 мл 0.1 мл різних розведень (1:10 та 1:100) досліджуваних спиртових настоянок болиголову. Контролем служила інтактна культура клітин.

Для виявлення можливої протективної дії спиртових настоянок болиголову щодо токсичного впливу оксалату калію живильне середовище, в якому в стандартних умовах культивувалась культура клітин, заміщали підтримуючим середовищем, що містило у 1 мл 0.1 мл різних розведень (1:10 та 1:100) досліджуваних спиртових настоянок болиголову та 200 мкг/мл (1.49 мкМ/мл) оксалату калію. Контролем служила культура клітин з відповідною концентрацією оксалату калію. Цитотоксична активність оцінювалась мікроскопічно у відсотках цитопатичної дії та оброблялась загальноприйнятим методом статистично.

Результати дослідження та їх обговорення. Встановлено, що жодне з розведень (1:10, 1:100) усіх вивчених спиртових настоянок болиголову плямистого не спричиняло цитопатичного впливу на інтактну культуру клітин HeLa (відсоток цитопатичної дії був рівним нулю для настоянок сухого листя, квітів та насіння болиголову). Це свідчить про те, що настоянки болиголову плямистого у вказаних розведеннях самостійно не проявляють токсичного впливу на ізольовані клітини.

Комбінований вплив спиртової настоянки насіння болиголову плямистого та оксалату калію на культуру клітин мав суттєві відмінності в залежності від величини розведення настоянки. Так, настоянка насіння болиголову плямистого в розведенні 1:10 при комбінованому її внесенні з оксалатом калію призводила до різкого вірогідного ($p < 0,01$) збільшення цитотоксичного впливу на культуру клітин (рис. 1). Якщо самостійно оксалат калію в дозі 200 мкг/мл спричиняв цитопатичне враження 28.3 ± 1.67 відсотків клітин, а настоянка насіння болиголову в розведенні 1:10 взагалі цитотоксично не діяла на культуру клітин, то відсоток цитопатичної дії при їх комбінованому впливі становив 80.0 ± 5.77 . На відміну від вказаного розведення настоянки насіння болиголову плямистого її розведення 1:100 спричиняло зменшення (хоча і статистично не вірогідне — $p > 0.05$) цитотоксичного впливу оксалату калію з 28.3 ± 1.67 до 20.0 ± 3.82 відсотків клітин (рис. 2).

На відміну від настоянки насіння болиголову плямистого його спиртова настоянка сухого листя проявляла в різних розведеннях однобічний характер дії. Як у розведенні 1:10 (рис. 1), так і в розведенні 1:100 (рис. 2) вона при комбінованому впливі з оксалатом калію призводила до зменшення його токсичного впливу на культуру клітин. Особливістю є те, що спиртова настоянка сухого листя у розведенні 1:100 проявляла в більшій мірі виражений ефект, ніж ця ж настоянка у розведенні 1:10. В обох випадках цей ефект був вірогідним ($p < 0.01$ для настоянки у розведенні 1:100 та $p < 0.05$ для настоянки у розведенні 1:10).

Подібно до спиртової настоянки сухого листя болиголову плямистого його спиртова настоянка квітів у різних розведеннях також мала однобічний характер дії і як у розведенні 1:10 (рис. 1), так і в розведенні 1:100 (рис. 2) вона при комбінованому впливі з оксалатом калію призводила до зменшення його токсичного впливу на культуру клітин HeLa. Однак ця протективна дія була у настоянки квітів більш вираженою, ніж у настоянки сухого листя. Спиртова настоянка квітів болиголову в розведенні 1:100 також проявляла в більшій мірі виражений захисний ефект, ніж ця ж настоянка у розведенні 1:10, і при дії настоянки квітів в обох розведеннях цей ефект був вірогідним ($p < 0.001$ для настоянки у розведенні 1:100 та $p < 0.01$ для настоянки у розведенні 1:10).

Виявлені різні спрямування та вираженість ефектів настоянок насіння сухого листя і квітів болиголову плямистого можуть бути мотивовані різним скла-

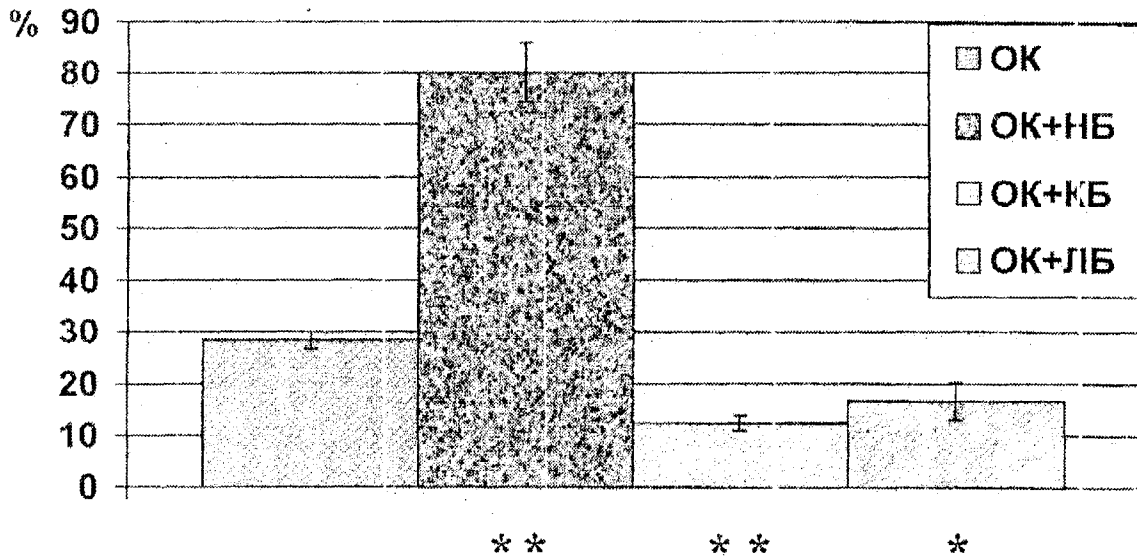


Рис. 1. Відсотки цитопатичної дії на культуру клітин HeLa оксалату калію (OK) у дозі 200 мкг/мл та комбінацій вказаної дози оксалату калію з спиртовими настоянками насіння болиголову (OK+НБ), квітів болиголову (OK+КБ) та листя болиголову (OK+ЛБ) у розведенні 1:10. ** — $p < 0.01$, * — $p < 0.05$.

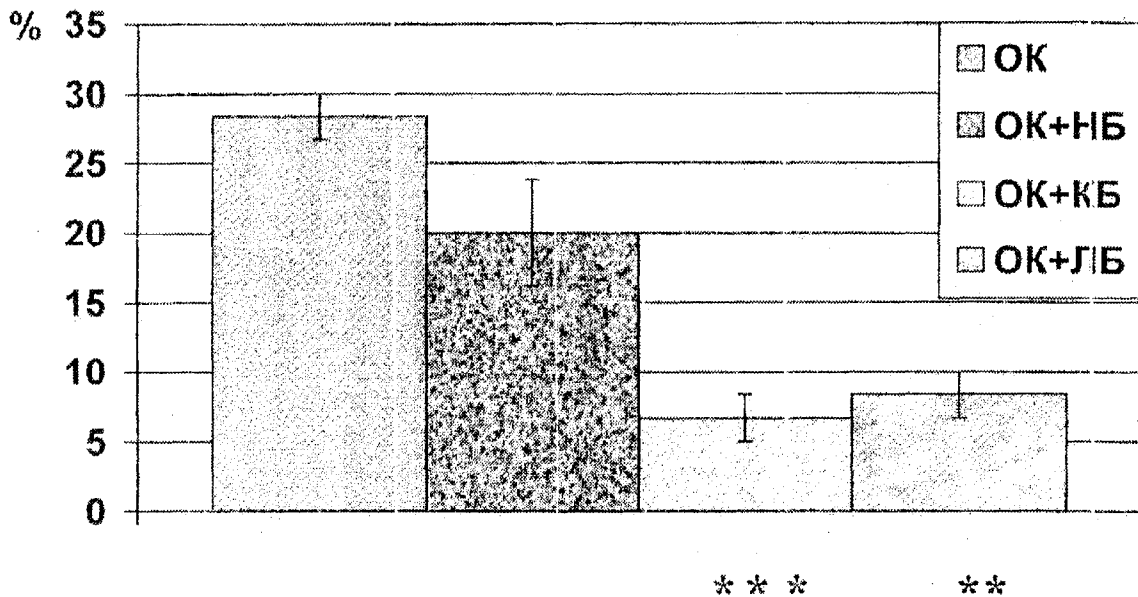


Рис. 2. Відсотки цитопатичної дії на культуру клітин HeLa оксалату калію (OK) у дозі 200 мкг/мл та комбінацій вказаної дози калію з спиртовими настоянками насіння болиголову (OK+НБ), квітів болиголову (OK+КБ) та листя болиголову (OK+ЛБ) у розведенні 1:100. *** — $p < 0.001$, ** — $p < 0.01$.

дом (у т. ч. і процентним вмістом біологічно активних чинників) насіння, сухого листя та квітів болиголову плямистого.

Встановлений протектний ефект спиртових настоянок квітів та сухого листя болиголову плямистого щодо токсичного впливу оксалату калію на ізольовані клітини вказує на перспективність подальшого вивчення вказаних настоянок у плані розширення відомостей про особливості виявлених у них захисних властивостей щодо токсичного впливу солей металів. При цьому на першому етапі слід приділити увагу розширенню переліку солей металів, комбінований вплив яких з настоянками болиголову плямистого буде вивчатись у дослідях *in vitro*, та провести експериментальний гідбір і обґрунтування оптимальних доз (розведень) цих настоянок. Другий етап має бути присвячений перевірці *in vivo* ефективності

підібраних оптимальних доз настоянок болиголову стосовно токсичного впливу різних металів вже на організм лабораторних тварин.

Висновки. 1. Спиртові настоянки сухого листя, квітів та насіння болиголову плямистого у розведеннях 1:10 і 1:100 не спричиняють цитопатичного впливу на інтактну культуру клітин HeLa.

2. Спиртові настоянки квітів та сухого листя болиголову плямистого у розведеннях 1:10 і 1:100 при комбінованому впливі з оксалатом калію призводять до статистично вірогідного зменшення його токсичного впливу на культуру клітин, тобто проявляють протективну дію на клітини у культурі.

3. Настоянка насіння болиголову плямистого у розведенні 1:10 при комбінованому її внесенні з оксалатом калію призводила до різкого вірогідного ($p < 0.01$) збільшення цитотоксичного впливу на культуру клітин HeLa.

4. Встановлений протективний ефект спиртових настоянок квітів та сухого листя болиголову плямистого щодо токсичного впливу оксалату калію на ізольовані клітини вказує на перспективність подальшого вивчення вказаних настоянок у плані розширення відомостей про особливості виявлених у них захисних властивостей щодо токсичного впливу солей металів.

Література. 1. Государственная фармакопея СССР. — 10-е изд. — М.: Медицина, 1968. — 790 с. 2. Дейнека С. Є. Ступінь кореляції між показниками цитотоксичності солей металів для культури клітин Rh1 Her-2 та параметрами токсикометрії, отриманими в експериментах на лабораторних тваринах // Хист. — 1997. — № 1. — С. 78-84. 3. Пішак В. П., Волошин О. І. Природні ресурси Буковини в оздоровленні населення краю: реалії та перспективи // Буковинський медичний вісник. — 1997. — № 1. — С. 3-7. 4. Пукач Л. П. О показаниях и противопоказаниях к лазерной терапии // Военно-медицинский журнал. — 1993. — № 2. — С. 23-26. 5. Ревич Б. А., Саєт Ю. Е. Биохимические методы оценки городских антропоэкологических систем // Экология человека: Осн. пробл. — М., 1988. — С. 189. 6. Сердюк А. М. Екологічна безпека України // Довкілля та здоров'я. — 1996. — № 1. — С. 4-7. 7. Трахтенберг И. М., Колесников В. С., Луковенко В. П. Тяжелые металлы во внешней среде: Соврем. гигиен. и токсикол. аспекты. — Минск: Наука і техника, 1994. — С. 285. 8. Трахтенберг И. М. Тяжелые металлы как химические загрязнители производственной и окружающей среды // Довкілля та здоров'я. — 1997. — № 2. — С. 48-51. 9. Фитотерапия в онкологии (лекарственные растения и рак): Лечебник. — Луганск: Лугань, 1994. — С. 128. 10. Guillozo A. J. The use of isolated cells in toxicity testing: (Abstr.) 9th Int. Congr. Histochem. and cytochem., Maastricht, 30 aug., 5 sep., 1992 // Histochem. J. — 1992. — 24, № 8. — P. 101. 11. Hobsorn D. W. An overview of in vitro toxicity assays: (Pap) Keystone Symp. Mol. and Cell. Biol. Discovery and Dev. Ther. Compounds, Snowmass, Colo, March 20 — 26, 1993 // J. Cell Biochem. — 1993. — Suppl. 17 D. — P. 170. 12. Muller-Lierheim W. G. Kriterien für der Routineinsatz von zytotoxizitätstests // Z. Zahnartl. Implantl. — 1988. — 4, № 4. — P. 237-239.

SPECIAL FEATURE OF COMBINED INFLUENCE OF CONIUM MACULAUM AND POTASSIUM OXALATE TINCTURES ON THE HeLa CELLULAR CULTURE

S. Ye. Deyneka, I. F. Meshchishen, O. O. Khavich

Abstract. Combined influence of different solutions (1:10 and 1:100) of spirituous tinctures of dried leaves, flowers and seeds of *Conium maculatum* and Potassium oxalate has been studied in vitro on the culture of HeLa cells by means of alternative method of investigation in the dosage of 200 mkg/ml. Reliable protective effect of spirituous tinctures of dried leaves and flowers of *Conium maculatum* regarding toxic action of potassium oxalate on the isolated cells has been established.

Key words: *Conium maculatum* tincture, cellular culture, potassium oxalate, in vitro, protective effect.

Research Institute of Medico-Ecological Problems, Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi).