

Гутник В. В., Лепетило Д. А.
ИЗУЧЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ И ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ
АКТИВНОСТИ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ ГЛИОМЫ КРЫСЫ С6
ПРИ АППЛИКАЦИИ КЛОНИДИНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ IN VITRO

*Научные руководители: ст. преп. Чепелев С. Н.,
канд. биол. наук Досина М.О.**

*Кафедра патологической физиологии
Белорусский государственный медицинский университет,
ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», г. Минск

Актуальность. В настоящее время представляется актуальным уточнение вопроса о поведении клеток глиальных опухолей при контакте их мембраны с раствором, содержащим разные концентрации клонидина, поскольку доказано, что рецепторы, чувствительные к клонидину, содержатся на мембране некоторых опухолей головного мозга.

Цель: изучение жизнеспособности и пролиферативной активности клеток глиомы С6 крыс при аппликации клонидином в концентрациях 1, 10 и 100 мкг/мл в эксперименте in vitro.

Материалы и методы. Исследование проведено на базе лаборатории нейрофизиологии ГНУ «Института физиологии НАН Беларуси» на перевиваемой культуре клеток глиомы С6 крысы. Клетки культивировали (концентрация $2,0 \times 10^5$ клеток/мл) в чашках Петри с диаметром основания 30 мм в среде F10 с добавлением 10%-ной эмбриональной бычьей сыворотки и 0,1 мкг/мл раствора сульфата гентамицина. Чашки Петри размещали в CO₂-инкубаторе (ShellLab Series 3517, США) при 5% CO₂ и температуре 37°C. Через 24 часа после начала культивирования клеток глиомы С6 добавляли в центральную часть чашки Петри клонидин в концентрациях 1, 10 и 100 мкг/мл. Для сравнения результатов использовали интактную культуру клеток глиомы С6.

Оценку жизнеспособности культивируемых клеток осуществляли с помощью подсчета количества клеток на микроскопе Opton ISM-405 (Германия) при 16-кратном увеличении после предварительной окраски трипановым синим. Жизнеспособные клетки при этом не окрашивались. Жизнеспособность определялась по формуле: (количество живых клеток/общее количество клеток) *100%. Для оценки статистических различий между независимыми выборками применялся U-критерий Манна Уитни. Изменение пролиферативной активности клеток проводили путем анализа прироста клеточной массы. Для этого до начала и через 24 часа после начала эксперимента осуществлялось фотографирование в месте метки трех случайно выбранных полей, после чего оценивалась разница в изменении клеточной массы. Данные представлены в виде среднее ± стандартная ошибка среднего (M±m). Для оценки достоверности различий между двумя выборками независимых измерений применялся непараметрический статистический тест T-критерий Вилкоксона.

Значения $p < 0,05$ считались статистически значимыми. Данные представлены в виде среднее ± стандартная ошибка среднего (M±m).

Результаты и их обсуждение. При анализе жизнеспособности культивируемых клеток глиомы С6 крыс были получены данные: в интактной группе жизнеспособность составила $93,63 \pm 0,89\%$, в группе 1 мкг/мл – $93,18 \pm 1,64\%$, в группе 10 мкг/мл – $95,42 \pm 0,98\%$, в группе 100 мкг/мл – $86,63 \pm 0,61\%$.

При изучении пролиферативной активности культивируемых клеток глиомы С6 крыс были получены данные: в интактной группе прирост клеточной массы составил $458,67 \pm 49,10$ клеток, в группе 1 мкг/мл – $425,33 \pm 21,36$ клеток, в группе 10 мкг/мл – $476,33 \pm 43,80$ клеток, в группе 100 мкг/мл – $305,67 \pm 32,17$ клеток.

Выводы. Раствор клонидина в концентрации 100 мкг/мл эффективен в целях замедления роста и развития клеток глиомы С6 крыс в эксперименте in vitro. В то же время при аппликации клонидином клеток глиомы С6 крыс в концентрациях 10 мкг/мл и 1 мкг/мл в эксперименте in vitro пролиферативная активность и жизнеспособность опухолевых клеток статистически значимо не изменяется.