УДК 519.6+546.3+576.345

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ СПОЛУК ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА КЛІТИНИ ЛЮДИНИ, КУЛЬТИВОВАНІ *IN VITRO*

Марченко М.Л.[1], Безденежних Н.О.[2], Кудрявець Ю.Й.[2]

[1]Інститут медицини праці АМН України, м. Київ

[2]Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, м. Київ

З метою створення моделі оцінки токсичності речовин *in vitro* в культурі клітин проведені експерименти з використанням культур клітин людини різного тканинного походження (легені та печінка – A-549, A-549IFN, Hep-G2). У порівняльних дослідженнях використані два основних тести, за якими оцінювали кількість життєздатних клітин – МТТ (метилтетразолієвий тест) та В-сульфородаміновий (СРВ). Для експерименту були відібрані найпоширеніші забруднювачі навколишнього середовища – сполуки важких металів. Встановлено, що два різних методи аналізу *in vitro* не відрізняються між собою за чутливістю (за показниками IC_{50}), але з метою моніторингу широкого набору сполук більш зручним і дешевшим є СРВ-тест. Встановлено, що клітини людини різного тканинного походження відрізняються за чутливістю до певних ксенобіотиків; показано, що модифікація клітин тривалою експозицією з інтерферонами здатна підвищувати їх чутливість до солей деяких металів. Дані отримані *in vitro* свідчать про їх відповідність результатам дослідження гострої токсичності солей важких металів *in vivo*.

Ключові слова: базальна цитотоксичність, IC_{50}, культури клітин, важкі метали, метилтетразолієвий тест, В-сульфородаміновий тест, клітини модифіковані інтерфероном

Вступ

Останні п'ятдесят років в багатьох країнах світу проводяться дослідження з метою використання клітинних систем *in vitro* для передбачення ефектів гострої токсичності *in vivo*. Аналіз даних, що підтверджують зв'язок між результатами, отриманими в дослідах *in vitro* та *in vivo* засвідчив, що значення LD_{50} для щурів та показники летальної концентрації речовини у крові людини можуть бути розраховані з достатньою точністю за даними IC_{50} (концентрація речовини, що викликає 50% загибелі клітин в досліді *in vitro*). На робочій зустрічі, присвяченій методам *in vitro* для оцінки гострої системної токсичності, організованої ICCVAM (Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods) та NICEATM (National Toxicology Program Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods) у 2000 році, було підтверджено, що дослідження *in vitro* на лініях клітин роблять великий внесок у розуміння відношення між показниками базальної цитотоксичності та показниками системної токсичності *in vivo* [1, 2]. Головним висновком обговорення було також те, що більшість значень базальної цитотоксичності для ліній клітин людини мали високий кореляційний зв'язок зі значеннями $ЛК_{50}$ (летальна концентрація у крові людини, що викликає 50% смертність), які були розраховані за даними дослідження пацієнтів, що внаслідок нещасного випадку або задля суїциду приймали смертельні або великі дози тих чи інших токсичних хімічних речовин. Точність розрахунків значно підвищується, якщо для корекції даних, отриманих у дослідах *in vitro*, використовують токсико-кінетичні показники (проникність через гемато-енцефалічний бар'єр, всмоктування у гастро-інтестинальному тракті, водо- чи жиророзчинність, n-октанолововодний коефіцієнт, тощо) [2].

Як частину стратегічних досліджень токсичності речовин, методи культур тканини *in vitro* вже використовують у фармацевтичній і в хімічній промисловості у тих випадках, коли розроблений продукт призначений для потреб людини. Було доведено, що коректно та адекватно проведені дослідження в культурі клітин *in vitro*, навіть без використання дослідів на тваринах, можуть бути корисними для прийняття поправок при формулюванні рішення про ризик та небезпеку хімічної речовини [1].

Зрозуміло, що в поняття гострої токсичності входить і гостра органна токсичність, оскільки гостре масштабне ураження навіть одного органу може призвести до загибелі організму. У зв'язку з цим

при використанні культур клітин з метою оцінки ризику органного ураження ліпше всього підбирати ті клітини, що мають органоспецифічний характер або клітини, присутні у всіх органах та системах людини чи тварин (клітини ретикуло-ендотеліальної системи: фібробласти, епітеліоцити, гепатоцити та інш.). Крім того, для підтвердження результатів цитотоксичності *in vitro* необхідно використовувати кілька методів її оцінки [1].

Найпоширенішими речовинами, що забруднюють робочі місця та атмосферне повітря, являються важкі метали [3], тому для оцінки базальної цитотоксичності *in vitro* нами були підібрані солі важких металів – це $MnSO_4$, $HgCl_2$, $CdSO_4$ та Pb ацетат. Для багатьох важких металів таких, як Cd^{2+}, Hg^{2+} та інш. порушення функцій мітохондрій – це перший механізм їх цитотоксичності. Було підтверджено, що причиною гепато-ренальної токсичності цих металів є ураження мітохондріального дихання та проникності мембрани мітохондрій [4]. Проникність мембрани мітохондрій залежить від функції їх іонних каналів. Наші попередні дані підтверджують, що ці канали відкриваються під дією деяких ксенобіотиків, у тому числі – Hg^{2+}. Надалі залучаються два механізми: регульований, внаслідок чого активуються Ca^{2+}, інгібується циклоспорін А та іони магнію, та другий – нерегульований, який діє незалежно від іонів кальцію та не впливає на циклоспорін А і іони магнію [4].

Крім того, відомі інші шляхи токсичної дії важких металів. У тому разі, коли ці речовини потрапляють в організм людини чи тварин per os, у кислому середовищі шлунку вони перетворюються у стійкі окиснені форми та включаються у біологічно активні молекули організму. Це можуть бути протеїни та ензими, з якими вони формують стійкі зв'язки. Відбувається реакція заміщення водню металом у сульфгідрильних групах (-SH) цистеїну, або сульфуру ($-SCH_3$) в молекулі метіоніну (Ogwuegbu and Ijioma, 2003) [5]. Внаслідок цього атоми водню або металу, що в нормі є елементами ензиму чи білка, заміщуються отруйним металом, що виключає надалі їх нормальне функціонування (Holum, 1983) [5].

У рамках цієї роботи нами була також зроблена спроба з'ясувати характер дії тих чи інших солей важких металів на клітини, модифікованих інтерфероном. Інтерферони (ІФН) належать до одних з найважливіших чинників реактивності організму людини на клітинному і системному рівні. Вони належать до протизапальних й імуномодулюючих цитокінів. Особливу увагу привертають протипухлинні властивості ІФН, механізми яких до кінця ще не розкриті і на даний момент інтенсивно вивчаються [9]. Протипухлинна активність ІФН реалізується як прямою дією на пухлинні клітини шляхом модифікації фенотипу пухлинної клітини, інгібіції експресії онкогенів, продукції ангіогенних чинників, шляхом цитотоксичної та антипроліферативної його дії на пухлинні клітини, так і опосередковано – через підвищення активності неспецифічної і специфічної ланки імунного протипухлинного захисту організму: моноцитів, природних кілерів, дендритних клітин і цитотоксичних Т-лімфоцитів. Інтерферон, як цитокін з широким спектром регуляторних функцій, виступає і в ролі індуктора чи модифікатора апоптозу. Деякі дані свідчать, що ІФН стимулює апоптоз, індукований різними чинниками. Останнє призводить до підвищення чутливості клітин-мішеней до дії багатьох протипухлинних цитостатиків [10, 11]. Активація ІФН певних механізмів чутливості клітин до ксенобіотиків може вплинути на їх чутливість до цитотоксичної дії і солей важких металів.

Керуючися вищесказаним, на першому етапі досліджень *in vitro* нами були використані три культури клітин людини: А-549 (епітеліоподібні клітини аденокарциноми легень людини), ці ж клітини, що модифіковані довгостроковою дією ІФН та Hep-G2 (клітини гепатоцелюлярної карциноми людини). Для визначення цитотоксичності використовували МТТ-тест (визначення функціонування мітохондрій за активністю мітохондріальних дегідрогеназ, які утворюють кристали з солями тетразолію) [6] та тест з сульфородаміном В, що являє собою аніонний барвник, який електростатично взаємодіє з протеїнами клітини [7]. Останній, дуже чутливий підхід, дає змогу чітко визначати кількість клітин при дослідженнях цитотоксичності тих чи інших речовин [7, 8].

Матеріали та методи дослідження

Об'єкти. Досліджувані клітини Hep-G2 та А-549 (отримані з Банку клітинних ліній ІЕПОР ім. Р.Є.Кавецького НАН України) культивували в повному поживному середовищі RPMI 1640 («SIGMA», США), що містило 4 ммоль/л L-глютаміну, 10% ембріональної сироватки теляти («SIGMA», США), 40 мкг/мл гентаміцину у зволоженій атмосфері з 5% CO_2 при 37 °С. Заміну середовища проводили кожні 2 доби. Пересів клітин здійснювали за допомогою розчину версена при утворенні клітинами на субстраті суцільного моношару (4 -5 -та доба росту). Для вивчення дії дослід-

жуваних речовин на клітини при культивуванні їх з ІФН *in vitro* клітини А-549 довгостроково (до року) культивували в присутності цитокіну в зростаючих концентраціях (від 100 до 10000 од/мл). При цьому використовували офіцинальний препарат рекомбінантного інтерферону-альфа2b («Біофарма», Україна).

Солі важких металів: $MnSO_4 \cdot H_2O$ (масова доля основної речовини – 98,18%), $HgCl_2$ (масова доля основної речовини – 99,6%), $CdSO_4 \cdot 8H_2O$ (масова доля основної речовини – 98,18%), $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$ (масова доля основної речовини – 99,78%) – були отримані в «Хімлабореактив». Для досліду готували робочі розчини солей металів. Як розчинник використовували дистильовану, деіонізовану стерильну воду. Надалі, для отримання необхідної концентрації, що вноситься безпосередньо у лунку, робочий розчин солі металу додавали у живильне середовище для клітин, таким чином розчинника у перших лунках було не більше ніж 2%.

Фарбування МТТ. Клітини висаджували на 96-лункові планшети в концентрації $1 \cdot 10^5$/мл по 100 мкл на лунку у повному ростовому середовищі. Через 24 години до клітин вносили розчин досліджуваних солей важких металів у різній концентрації. Через 24 годин культивування в середовище вносили барвник МТТ (3-[4,5-Dimetilthiazole-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide; Thiazolyl blue) (SIGMA, США) по 10 мкл/лунку в концентрації 5 мг/мл на 3 години. Після цього планшет центрифугували (1500 об/хв протягом 5 хв), видаляли супернатант й додавали в кожну лунку по 50 мкл DMSO (диметилсульфоксид; SERVA) для розчинення кристалів формазану. Через 30 хвилин інкубації при кімнатній температурі визначали оптичну густину (ОГ) вмісту лунок при довжині хвилі 540 нм за допомогою мультилункового спектрометра Мультискан (Швеція). Як контроль використовували порожні лунки та лунки з клітинами, в які не додавали ксенобіотик, а також контроль з розчинником – дистильованою, деіонізованою водою (2%) у живильному середовищі для клітин.

Фарбування сульфородаміном В (Sulforodamine) – СРВ-тест. На 96-лункові планшети висаджували клітини в концентрації $1 \cdot 10^5$/мл по 100 мкл на лунку у повному ростовому середовищі. Через 24 години до клітин вносили розчин досліджуваних солей важких металів у різній концентрації і інкубували їх при 37 °С протягом 24 та 48 годин. Потім клітини фіксували 50%-им розчином трихлороцтової кислоти (ТХО) (кінцева концентрація 10%) протягом 1 год при 40 °С і промивали проточною водою. Перевагою методики є те, що після фіксації клітин ТХО та промивання вони можуть до фарбування зберігатися довгий час при -20 °С. Фарбували фіксовані у лунках клітини 0,4% розчином Sulforodamine B (SIGMA, США) протягом 30 хв. Після видалення барвника лунки промивали 1% розчином оцтової кислоти і розчиняли фарбник додаванням 10мМ розчину Tris-base (10 хв на шейкері). Результати досліду реєстрували за допомогою мультилункового спектрометра при довжині хвилі – 540 нм.

Результати досліджень та їх обговорення

В експериментах встановлено, що використані два різних методи аналізу *in vitro* сполук з гострою цитотоксичністю не відрізняються між собою за чутливістю (за показниками IC_{50}) – коефіцієнт кореляції для клітин лінії А-549 – 0,99 та для Hep-G2 – 0,88. Це свідчить, що МТТ та СРВ-тест можуть бути успішно використані у моделі оцінки ризику за показниками цитотоксичності *in vitro* і з однаковою достовірністю підтверджуватимуть результати встановлені у досліді (рис. 1). Слід відзначити, що цитотоксична дія досліджених сполук розвивається досить швидко і дані отримані протягом перших 24 год інкубації з препаратами практично не змінюються і через 48 год інкубації.

Порівняльні дослідження чутливості клітин ліній, отриманих з тканин різних органів людини (А-549 – легені, Hep-G2 – печінка) засвідчили, що існують певні відмінності в їх чутливості до деяких речовин. Дані проведених нами дослідів виявили, що найбільш токсичною сполукою для клітин лінії А-549

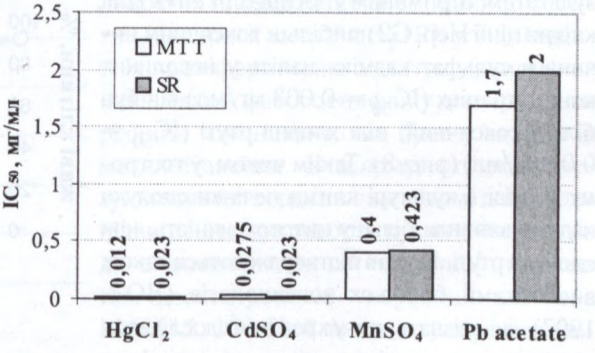

Рис. 1. *Порівняння параметрів цитотоксичності за IC_{50} (мг/мл), отриманих за допомогою МТТ та В-сульфородамінового тестів в культурі клітин лінії А-549.*

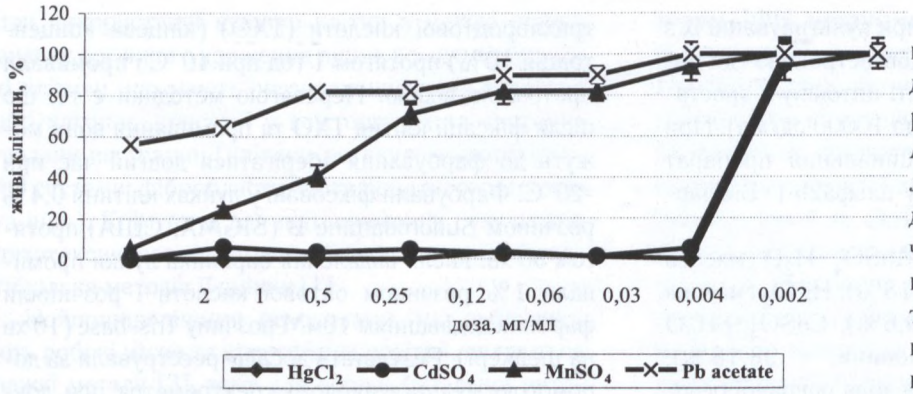

Рис. 2. *Вплив солей важких металів на клітини А-549.*

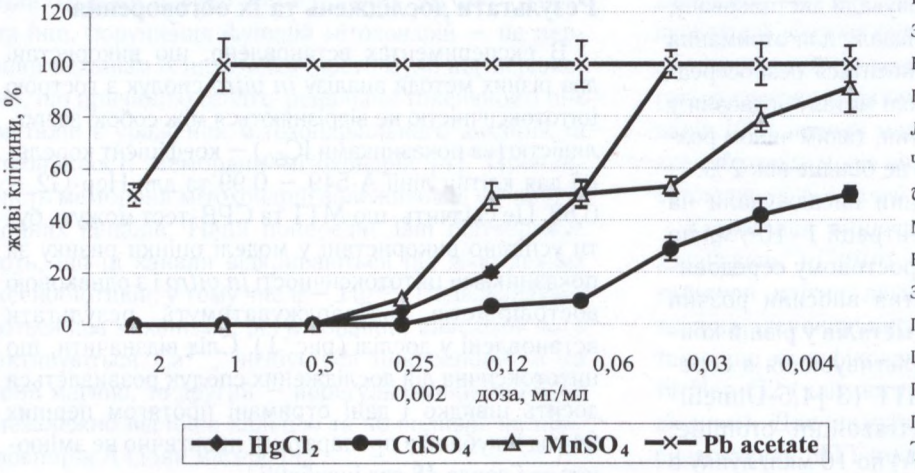

Рис. 3. *Вплив солей важких металів на клітини Hep-G2.*

є хлорид ртуті (IC_{50} = 0,012 мг/мл), надалі за токсичністю йдуть сульфат кадмію (IC_{50} = 0,02 мг/мл), сульфат марганцю (IC_{50} = 0,42 мг/мл) і завершує цей ряд ацетат свинцю (IC_{50} = 2 мг/мл) (рис. 2). Ці дані повністю відповідають результатам, отриманим у дослідах *in vivo*. Для клітин лінії Hep-G2 найбільш токсичним виявився сульфат кадмію: навіть у невеликих концентраціях (IC_{50} = 0,003 мг/мл) він був більш токсичний, ніж хлорид ртуті (IC_{50} = 0,05 мг/мл) (рис. 3). Таким чином, у гострому досліді в культурі клітин печінки сполука кадмію виявила більшу цитотоксичність, ніж сполука ртуті. Ці дані підтверджуються також висновками багатьох токсикологів (ВОЗ, 1997), які свідчать, що у хронічних дослідах *in vivo* сполуки кадмію демонструють нефротоксичність, але у гострих — більше виявляється його гепатотоксичність (Roberts 1999, ATSDR, Tox FAQs for Cadmium).

Сульфат марганцю також виявив більшу токсичність для клітин лінії Hep-G2, порівняно з клітинами лінії А-549. Навіть у відносно малих концентраціях (від 0,008 до 0,002 мг/мл) він викликав часткову загибель клітин лінії Hep-G2 (10—40% мертвих клітин), в той час, як клітини А-549 зберігали повну життєздатність при тих же концентраціях чинника. На рисунках 8, 9 показані зразки морфологічних змін при дії на клітини солей важких металів. Можна припустити, що такий ефект залишиться малопомітним під час проведення дослідів *in vivo* на тваринах, адже помірний вплив на печінку не викликає помітних клінічних змін у стані тварин або їх загибель. Можливо, лише спеціальні печінкові біохімічні проби дадуть змогу виявити гепатотоксичність чинника. Таким чином, у дослідах *in vitro* може бути з високою чутливістю виявлена навіть незначна дія сполуки металу на клітини печінки (рис. 3), яку можна не помітити при тестуванні сполук *in vivo*.

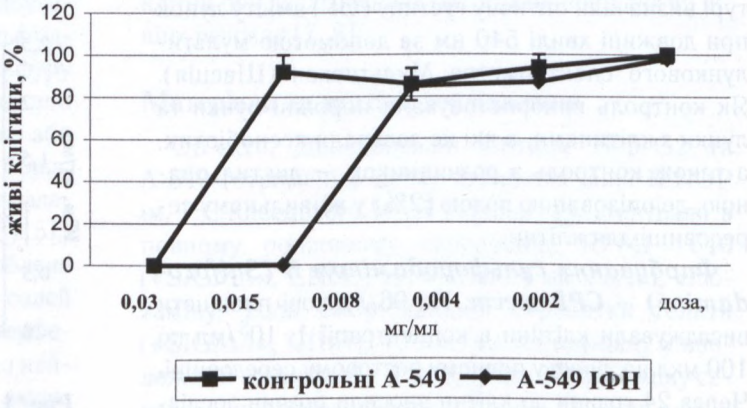

Рис. 4. *Вплив $HgCL_2$ на клітини раку легенів людини А-549 контрольні та модифіковані інтерфероном.*

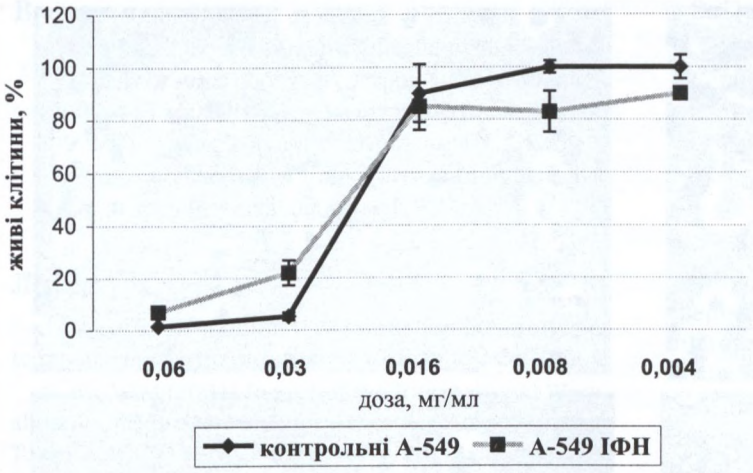

Рис. 5. *Вплив $CdSO_4$ на клітини раку легенів людини А-549 контрольні та модифіковані інтерфероном.*

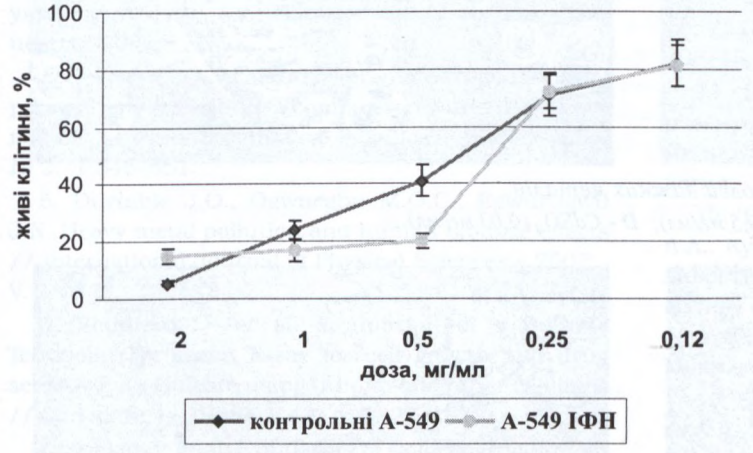

Рис. 6. *Вплив $MnSO_4$ на клітини раку легенів людини А-549 контрольні та модифіковані інтерфероном.*

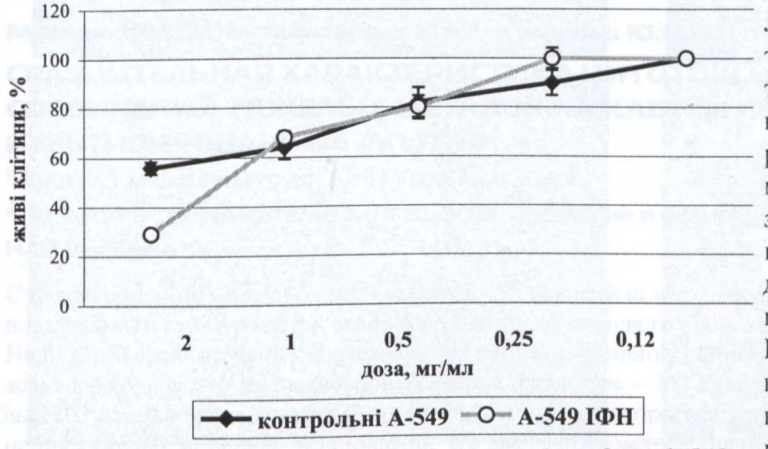

Рис. 7. *Вплив Pb acetate на клітини раку легенів людини А-549 контрольні та модифіковані інтерфероном.*

Інтерферон, як ендогенний цитокін чи лікарський засіб, здатен змінити чутливість клітин до ксенобіотиків [9]. Це свідчить, що при певному стані організму, коли відбувається викид ендогенного ІФН або при його використанні при деяких захворюваннях, чутливість клітин до тих чи інших чинників хімічної природи може змінюватися. У зв'язку з цим, ми порівняли чутливість до дії солей важких металів клітин легені людини лінії А-549, модифіковані тривалою обробкою ІФН, з такою клітин вихідної лінії. В цьому дослідженні виявилося, що модифікація клітин цитокіном призводить до значного підвищення їх чутливості до деяких солей. Так, під час вивчення дії хлориду ртуті встановлено, що цитотоксичність цього чинника у клітинах А-549, модифікованих дією ІФН, зростає удвічі – IC_{50} хлориду ртуті в цих клітинах складає – 0,01 мг/мл, тоді як у контрольних – 0,02 мг/мл. Так, при концентрації чинника 0,015 мг/мл виживають практично 100% контрольних клітин, а модифіковані ІФН всі гинуть (рис. 4). При дослідженні впливу сульфатів свинцю та марганцю, ацетату амонію такої суттєвої різниці не було виявлено, але тенденція до підвищення чутливості клітин до солей важких металів під дією ІФН зберігається (рис. 5–7). Цікаво, що чутливість клітин цих двох субліній до солі кадмію виявилася однаковою. Механізм підвищеної чутливості модифікованих ІФН клітин до деяких солей зараз ще нез'ясований. Він може критися в особливостях плазматичної мембрани цих клітин, експресії каспази 3 [12], у відмінності їх проліферативного статусу, якщо чинники мають фазоспецифічну дію, нарешті, різниця між ними може бути у статусі їх металотіонеїнів. В цілому, отримані результати підтвердили вже відомі дані щодо підвищення чутливості пухлинних клітин до апоптичних чинників різної природи при довгостроковій експозиції клітин з ІФН [12, 13]. Цей факт потребує подальшого дослідження у зв'язку з можливим використанням нанокомпозитів важких металів у комплексній терапії пухлин з включенням ІФН.

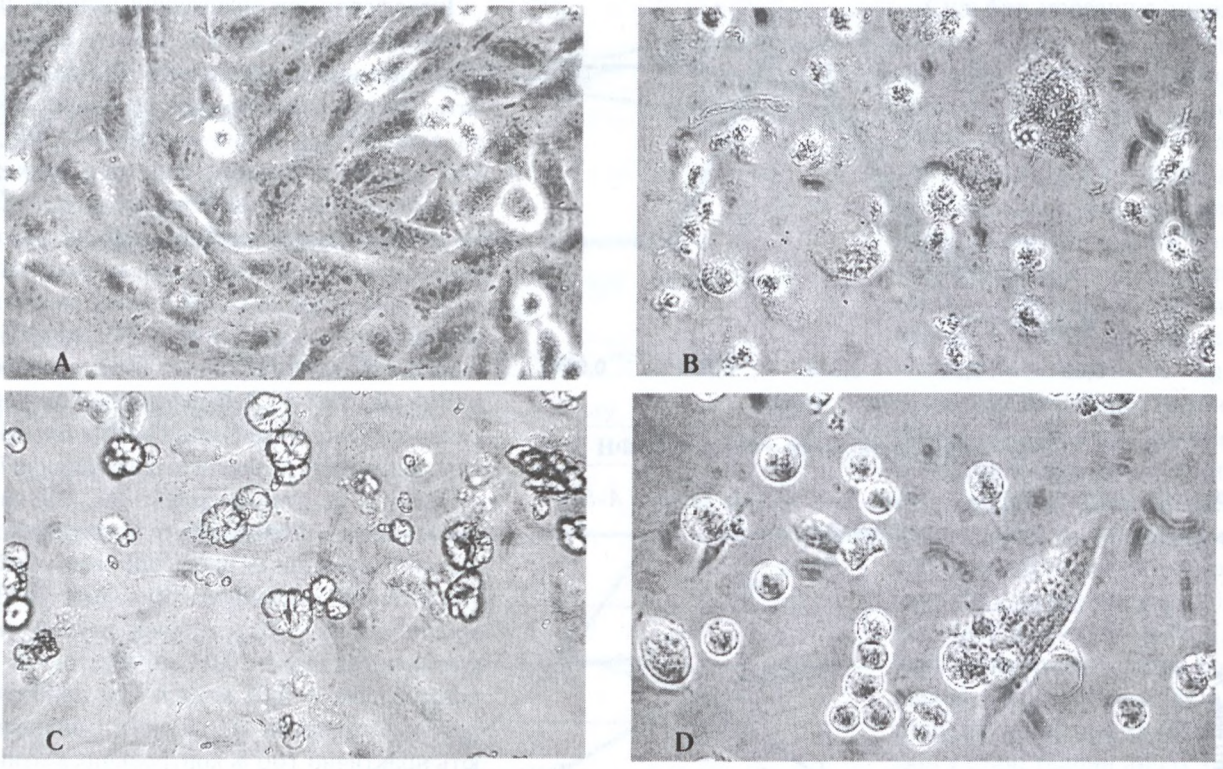

Рис. 8. *Морфологія клітин А-549 під дією солей важких металів.*
A - контроль; B - $HgCl_2$ (0,03 мг/мл); C - $MnSO_4$ (0,5 мг/мл); D - $CdSO_4$ (0,03 мг/мл).

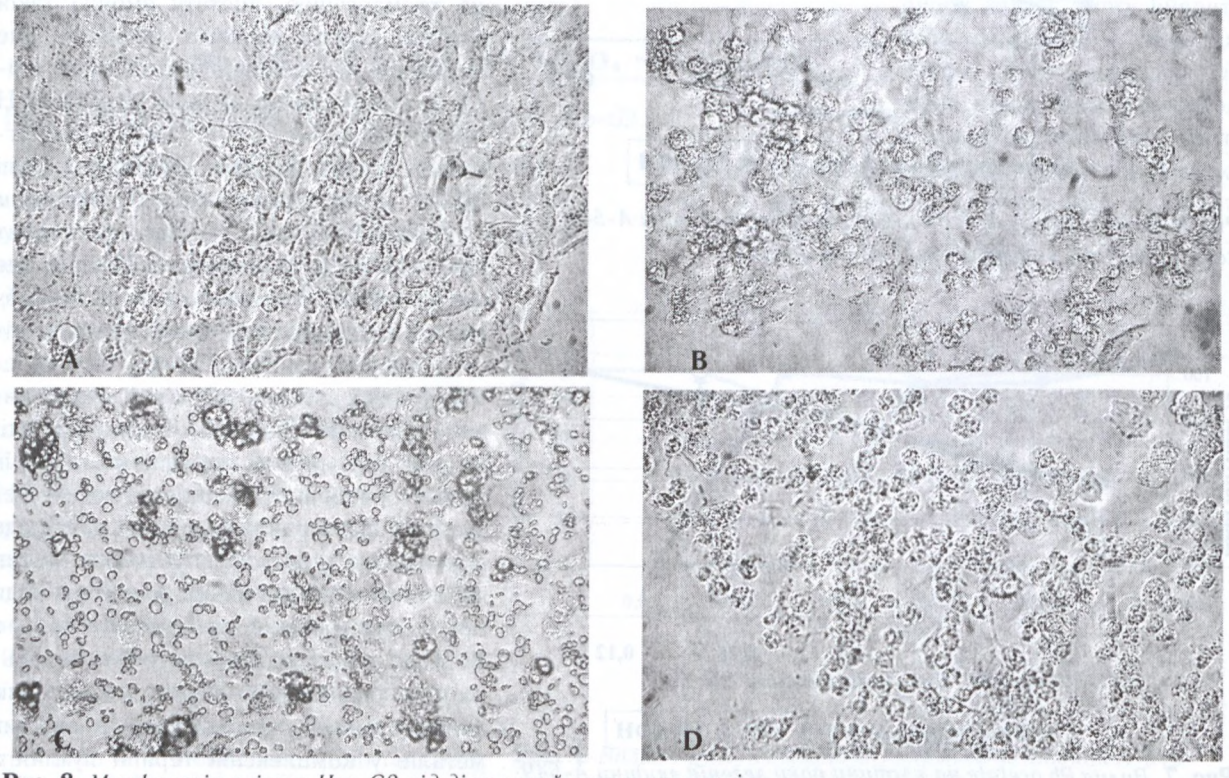

Рис. 8. *Морфологія клітин Hep-G2 під дією солей важких металів.*
A - Контроль; B - $HgCl_2$ (0,03 мг/мл); C - $MnSO_4$ (0,5 мг/мл); D - $CdSO_4$ (0,03 мг/мл).

Висновки

1. Встановлено, що використані два різних методи аналізу *in vitro* сполук з гострою цитотоксичністю (МТТ та СРВ-тест) не відрізняються між собою за чутливістю (за показниками IC_{50}), але з метою моніторингу широкого набору сполук більш зручним і дешевшим є СРВ-тест.
2. Показано, що клітини людини різного тканинного походження відрізняються за чутливістю до певних ксенобіотиків.
3. Модифікація пухлинних клітин тривалою експозицією з ІФН здатна підвищувати їх чутливість до хлориду ртуті.

Література

1. Gennari A. et al. ECVAM Workshop 50: strategies to replace *in vivo* acute systemic toxicity testing – 2004.
2. ICCVAM (2001) Report of the International Workshop on *In Vitro* Methods for Assessing Acute systemic Toxicity. ICCVAM-NICEATM workshop, Arlington, VA, USA.– 2000.– NIH Publscation № 01–4499.– P.370
3. Кундиев Ю.И., Трахтенберг И.М. Химическая безопасность в Украине. Ежегодные чтения, посвященные памяти Е.И. Гончарука (доклад) // Нац. мед. университет им. А.А. Богомольца // К.: ИД «Авиценна», 2007.– 71 с.
4. Belyaeva E.A. et al. Cd2+-promoted mitochondrial permeability transition: a comparison with other heavy metals // Acta Biochimica Polonica.– 2004.– V.51, № 2.– P.545–551.
5. Duruible J.O., Ogwuegbu M.O.C., Egwurugwu J.N. Heavy metal pollution and human biotoxic effects // International Journal of Physical Sciences – 2007.– V. 2, № 5
6. Scudiero D. et al. Evaluation of a Soluble Tetrasoliu/Formazan assay for cell growth and drug sensitivity in Culture using human and other cell lines // Cancer Res – 1988.– V.48 – P. 4827–4833
7. Shekan P. et al. Evaluation of Colorimetric Protein and biomass Stains for Assaying Drug Effects Upon Human Tumor Cell lines // Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., – 1989.– V.30 – P. 2436
8. Liu D. A rapid biochemical test for measuring chemical toxicity to bacteria of single chemicals and mixture // Toxicity Screening Procedures Using Bacterial Systems,New York,1981.– P. 175 – 194
9. Воронцова А.Л., Кудрявец Ю.И. Жильчук В.Е. Интерфероны и их применение в клинической онкологии // Здоровье женщины.– 2003.– Т.4, № 16.– С. 8–14.
10. Satomi H., Wang B., Fujisawa H., Otsuka F. Interferon-beta from melanoma cells suppresses the proliferations of melanoma cells in an autocrine manner // Cytokine Interferon.– 2002.– Apr 21,№ 18(2).– P. 108–15.
11. Кудрявець Ю.Й. Інтерферон-альфа посилює розвиток апоптозу, індукованого різними чинниками в пухлинних клітинах *in vitro* // Эксперим.онкология.– 2001.– V.23,№ 4.– P.267–73.
12. Безденежних Н.О., Лук'янова Н.Ю., Лихова А.А., Кудрявець Ю.Й.. Дослідження механізмів чутливості клітин раку легені людини до комбінованого впливу хіміопрепаратів і гіпертермії в умовах пролонгованої дії інтерферону *in vitro* // Матеріали IX Міжн. конф. молодих онкологів, Київ 2008.– С.20–21.
13. Безденежных Н.А., Лукьянова Н.Ю., Воронцова А.Л., Кудрявец Ю.И.. Маркеры клеточной пролиферации, дифференцировки и злокачественности при длительной экспозиции клеток немелкоклеточного рака легкого с интерфероном *in vitro* // Матеріали IX Міжн. конф. молодих онкологів, Київ, 2008.– С. 22–23.

Марченко М.Л.[1], Безденежных Н.А.[2], Кудрявец Ю.И.[2]

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ СОЕДИНЕНИЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛОВ НА КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА, КУЛЬТИВИРОВАННЫЕ *IN VITRO*

[1]Институт медицины труда АМН Украины,г.Киев
[2]Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, г.Киев

С целью создания модели оценки токсичности веществ *in vitro* на культуре клеток проведены эксперименты с использованием культур клеток человека различного тканевого происхождения (легких и печени – А-549, А-549IFN, Hep-G2). В сравнительных исследованиях проводили оценку с помощью двух основных тестов, по которым определялось количество жизнеспособных клеток в культуре – МТТ (метилтетразолиевый тест) и В-сульфородаминовый (СРВ). Для эксперимента были отобраны самые распространенные полютанты окружающей среды – соединения тяжелых металлов. Установлено, что два разных метода анализа *in vitro* не отличаются между собой по чувствительности (по показателю IC_{50} – концентрация вещества, которая вызывает 50 % гибели клеток *in vitro*), но с целью мониторинга большего количества химических веществ более удобным и дешевым является СРВ-тест. Под-

тверждено, что клетки человека разного тканевого происхождения отличаются по чувствительности к некоторым ксенобиотикам; показано, что модификация клеток длительной экспозицией с ИФН может повышать их чувствительность к солям некоторых металлов. Полученные данные *in vitro* соответствуют результатам исследований острой токсичности солей тяжелых металов *in vivo*.

Ключевые слова: базальная цитотоксичность, IC_{50}, культуры клеток, тяжелые металлы, метилтетразолиевый тест, В-сульфородаминовый тест, клетки модифицированные интерфероном

Marchenko M.L.[1], Bezdenezhnykh N.A.[2], Kudriavets Y.I.[2]

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE EFFECT OF HEAVY METAL COMPOUNDS ON HUMAN CELLS CULTIVATED *IN VITRO*

[1]Institute for Occupational Health of AMS of Ukraine, Kiev

[2]Institute of experimental pathology, oncology and radiobiology n. R.E. Kavetsky of NAN of Ukraine, Kiev

In order to model the assessment of chemical toxicity of cells *in vitro* experiments have been conducted, using human cells of different origin (carcinomic alveolar basal epithelial cells and hepatocarcinoma cell line A-549, A-549IFN, Hep-G2). Two basic tests were used for comparative studies, where the number of viable cells was estimated in the culture – MTT (methyl tetrazolium test) and sulforhodamine B method. For the test, four samples of different salts of heavy metals – $MnSO_4$, $CdSO_4$, Pb acetate and $HgCl_2$, were taken, being the most prevalent in the environment. It was established that two different methods for the analysis *in vitro* did not differ significantly from each other by sensitivity (according to the concentration IC, resulting in 50 % loss of cells *in vitro*). However, for the purpose of monitoring of a greater number of chemical substances the sulforhodamine B method is more acceptable and not so expensive. It was confirmed that cells of different tissue origin differed by sensitivity to some xenobiotics. It is shown that modification of cells in a long-term exposure to interferon can increase cell sensitivity to salts of some metals. The results obtained *in vitro* correspond to the results of studies on acute toxicity of heavy metals *in vivo* tests.

Key words: basal cytotoxicity, IC_{50}, cell cultures, heavy metals, MTT-test, sulforhodamine B method, interferon modified cells

Надійшла: 15.07.2008

Контактна особа: Марченко Марина Леонідівна, молодший науковий співробітник, аспірант, Інститут медицини праці АМН України, вул. Саксаганського, 75, Київ, 01033,тел. (044) 289-41-88, моб. 8 (096) 671-22-82, e-mail: marinmarcha@yahoo.co.uk