

# Vplyv cyklofosfamidu na bunkovú líniu MCF-7 liečenú docetaxelom a doxorubicínom



Trebuňová M.,  
Laputková G., Lacjaková K.,  
Vérebová A., Géci I., Sabo J.

Ústav lekárskej a klinickej biofyziky  
Lekárska fakulta, UPJŠ, Košice

XXXV. Dny lekárskej biofyziky  
Rožnov pod Hradištím

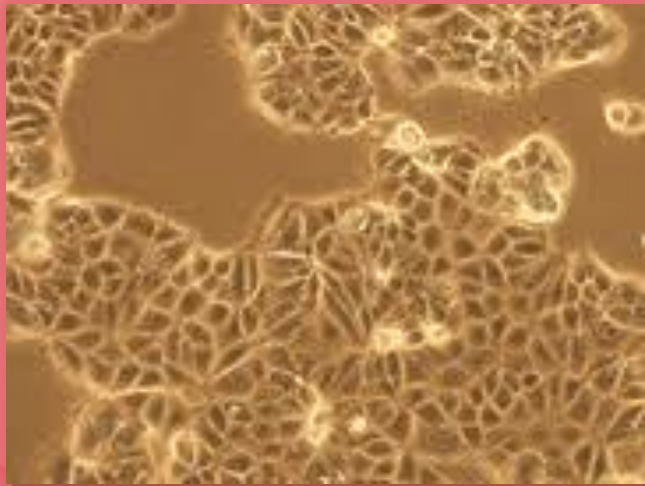
# Cieľ práce

Cieľom tejto štúdie bolo zhodnotiť vplyv cyklofosfamidu na bunkovú líniu MCF-7 liečenú docetaxelom a doxorubicínom.

Antiproliferačný účinok cytostatík bol meraný použitím štandardného kolorimetrického testu.



# Materiál



Bunková línia MCF-7  
(ATCC, Manassas, USA)



Docetaxel (DOC), doxorubicin (DOX) a cyklofosfamid (CPA),  
Dr. Andrašina (Klinika Rádioterapie a Onkológie, UPJŠ Košice).



# Kultivácia buniek:

## Bunková kultúra MCF-7

10% DMEM médium: fetálne bovinné sérum, penicilín,  
streptomycín

Podmienky rastu: 5%CO<sub>2</sub>, 95% vlhkosť, 37°C



# Metódy

## Konštrukcia rastovej krivky, počítanie buniek

1:9= trypanová modra : bunková suspenzia, počítanie buniek v Búrkerovej komôrke pod svetelným mikroskopom

Každých 24 hod., 11 dní

## Štandardný kolorimetrický test-MTT test

spektrofotometrické meranie pri 480 nm(MRX Dynatech Reader ELISA)

Metabolická aktivita buniek ovplyvnených cyklofosfamidom bola vyhodnotená v 5. deň rastu kultúry.





# Rastová krivka

hodnoty buniek boli prepočítané na počet buniek v 4ml  
zostrojené rastové krivky pre neliečenú a liečenú bunkovú líniu  
z exponenciálnej fázy rastu sme vypočítali **čas dvojnásobného  
počtu buniek  $t_d$**

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu}$$

$\mu$  = *rastová rýchlosť*



# Štatistické vyhodnotenie



Výsledky rastových kriviek sú prezentované s pravdepodobnou chybou priemeru (SEM).

Pri vyhodnotení metabolickej aktivity buniek sme použili štandardnú odchýlku (SD).

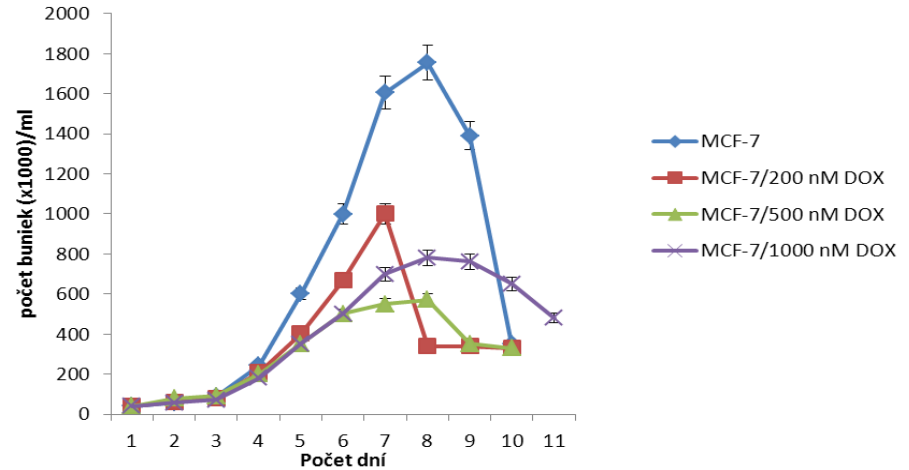
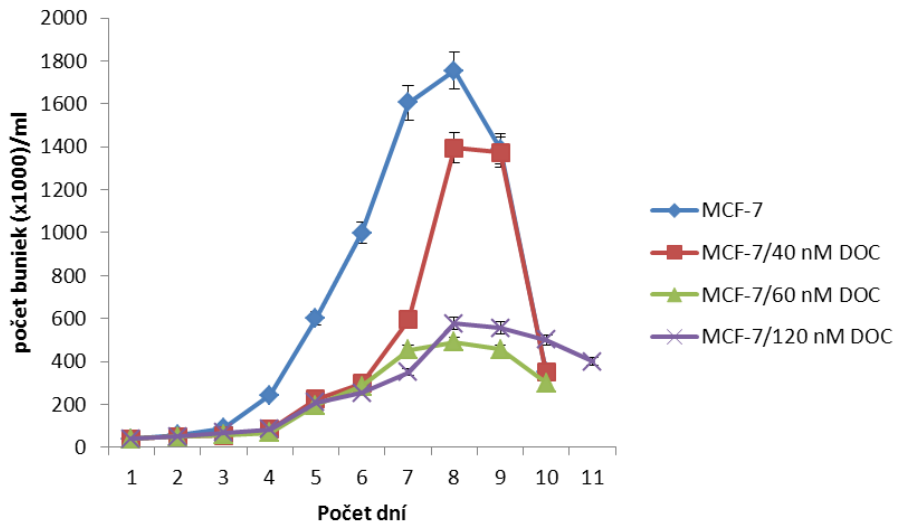
Porovnanie medzi skupinami sme vyhodnotili pomocou obojstranného t-testu.

Hodnoty, kde  $p < 0,05$  - štatisticky významné





# Vyhodnotenie



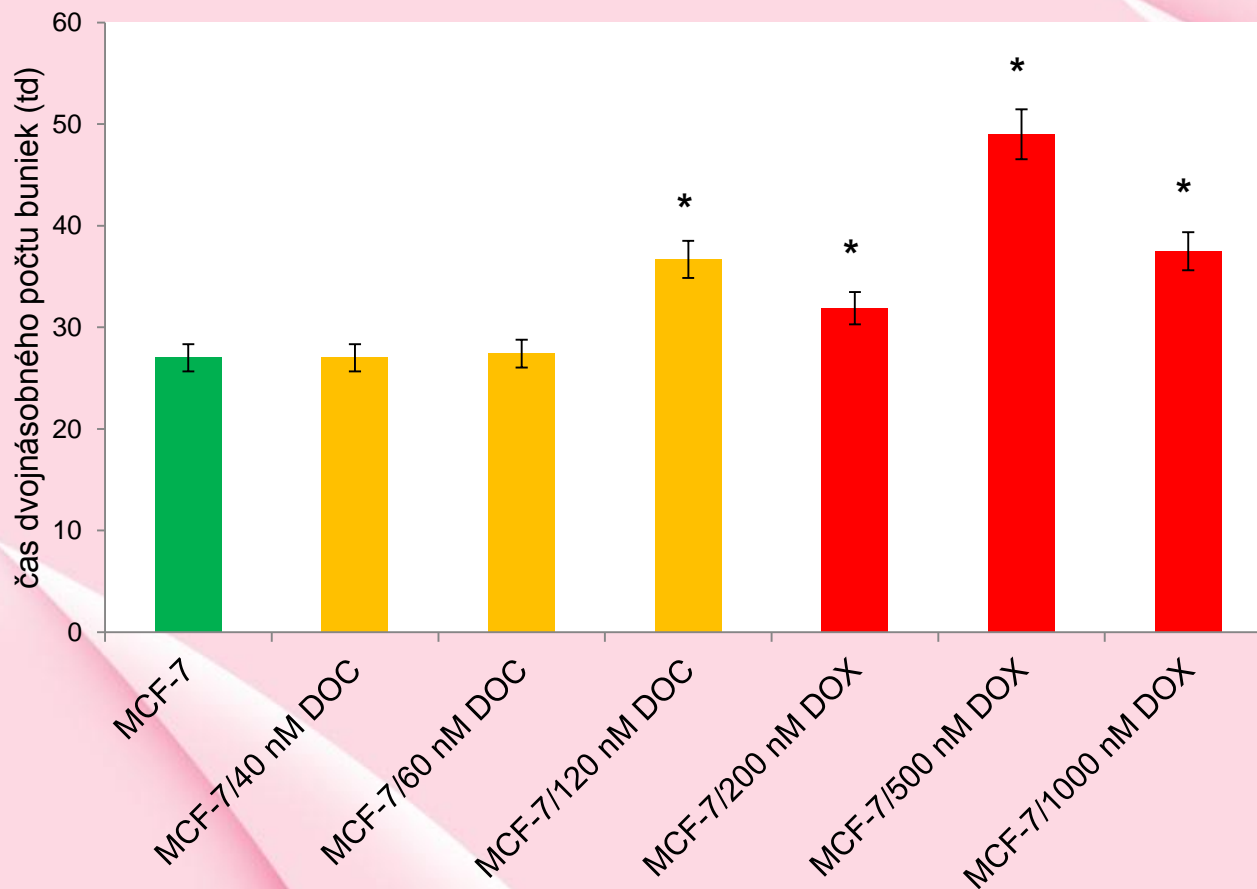
Rastová krivka bunkovej línie MCF-7  
liečenej docetaxelom (DOC)

Rastová krivka bunkovej línie MCF-7  
liečenej doxorubicínom (DOX)



# Čas dvojnásobného počtu buniek $t_d$ pre bunkové línie liečené docetaxelom (DOC) a doxorubicínom (DOX).

Signifikantné porovnania s kontrolou  $p < 0,05$





## Štatistická analýza z hodnôt času dvojnásobného počtu buniek ( $t_d$ ) MCF-7 buniek liečených docetaxelom

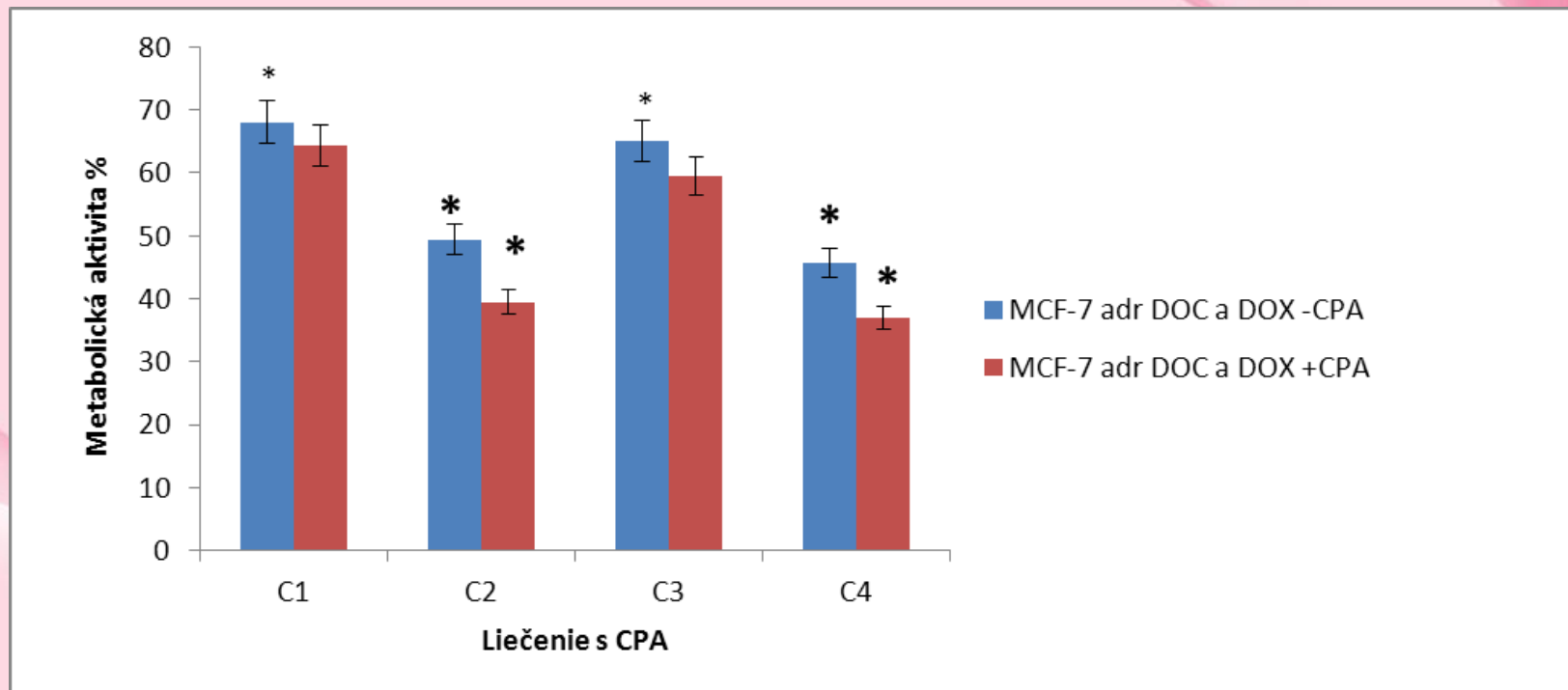
	MCF-7	40 nM DOC	60 nM DOC	120 nM DOC
MCF-7		$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p < 0.05^*$
40 nM DOC			$p > 0.05$	$p < 0.05^*$
60 nM DOC				$p > 0.05$

## Štatistická analýza z hodnôt času dvojnásobného počtu buniek ( $t_d$ ) MCF-7 buniek liečených doxorubicínom

	MCF	200 nM DOX	500 nM DOX	1000 nM DOX
MCF-7		$p < 0.05^*$	$p < 0.05^*$	$p < 0.05^*$
200 nM DOX			$p < 0.01^*$	$p < 0.01^*$
500 nM DOX				$p < 0.01^*$

\*Reprezentuje signifikantné odlišnosti v  $t_d$  medzi skupinami buniek

# Vplyv DOC, DOX+CPA na MCF-7



Koncentrácia liekov v mixe: C1: DOC= 40nM, DOX= 200nM;  
C2: DOC= 60nM, DOX= 200nM; C3: DOC= 40nM, DOX= 500nM;  
C4: DOC= 60nM, DOX= 500nM.

# Štatistická analýza $t_d$ hodnôt MCF-7 buniek



	C1 , s CPA	C2, s CPA	C3, s CPA	C4, s CPA
C1, bez CPA	$p > 0.05$	$p < 0.05^*$	$p > 0.05$	$p < 0.05^*$
C2, bez CPA	$p < 0.01^*$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p < 0.05^*$
C3, bez CPA	$p > 0.05$	$p < 0.05^*$	$p > 0.05$	$p < 0.05^*$
C4, bez CPA	$p < 0.01^*$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$

Porovnávanie štatisticky významných hodnôt medzi jednotlivými skupinami buniek liečenými kombináciou cytostatík o rozličných koncentráciách.

Koncentrácia liekov v mixe: C1: DOC= 40nM, DOX= 200nM;

C2: DOC= 60nM, DOX= 200nM; C3: DOC= 40nM, DOX= 500nM; C4: DOC= 60nM, DOX= 500nM.

# Záver

Podľa štatistickej analýzy:

pri liečení DOC (120nM) a DOX (200nM) boli zmeny v raste buniek štatisticky významné ( $p < 0.05$ ) v porovnaní s neliečenými bunkami MCF-7,

pri kombinácii cytostatík (60nM DOC s 200nM DOX a 60nM DOC s 500nM DOX) a po pridaní 600nM CPA, sme zaznamenali štatisticky významné zníženie metabolickej aktivity buniek MCF-7 ( $p < 0.05$ ),

CPA v koncentrácii 600nM je vhodný na posilnenie účinku docetaxelu v kombinácii s doxorubicínom pri určitých koncentráciách,

lineárna závislosť medzi zvyšovaním koncentrácie DOC a DOX so 600nM CPA a metabolickou aktivitou buniek nebola potvrdená.







Ďakujem za pozornosť