

ӘОЖ 57.053+57.085.23

Ә.Ә. Ноғайбаева¹, С.Т. Төлеуханов¹, С.Н. Шин^{2*}¹Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.²ҚР ДСМ «Дәрілік заттарды, медициналық мақсаттағы бұйымдарды және медицина техникасын сараптау ұлттық орталығы» РМҚ

*E-mail: S.Shin@dari.kz

Тышқан ұрықтарынан алынған фибробласттарға гистамин ерітінділерінің әсері

Андағна. Мақалада әр түрлі концентрацияда дайындалған гистамин ерітінділерінің тышқан ұрығынан алынған фибробласттарға әсер ету реакциясының ерекшеліктерін *in vitro* жағдайында зерттеу нәтижелері баяндалған. Гистамин рецепторлары организмде кеңінен тараған және маңызды орын алады. Сол себептен де, гистамин рецепторларының клетка дақылдарында әрекет етуі өзекті болып табылады. Осындай тәсілді пайдалану арқылы *in vitro* жағдайларында жасалған зерттеулердің нәтижелері *in vivo* көрсеткіштеріне жақындатады.

Түйін сөздері гистамин, рецепторлар, клетка дақылы, қоректік орта, фибробласт, монокабат, тышқан ұрықтары, ацидоз.

Бұл жұмыста бірінші рет гистаминнің рецепторлары клетка дақылдарында әртүрлі концентрацияларда анықталып отыр. Гистаминнің 0,1% және 0,01% ерітіндісін жай ерітіндіде емес, арнайы клетка дақылдарын өсіру үшін дайындалатын ерітіндіде жасайды. Яғни, құрамына антибиотиктер қосылған және ірі қара малдың (ІҚМ) қан сарысуы қосылған қоректік ортада дайындайды. Себебі, қазіргі кезде клетка дақылдарында зерттеу жұмыстарын жүргізу өте өзекті болып келеді, әсіресе медицина мен биология саласында. Сол себептен, клетка дақылдарында адам мен жануарлардың организмдерінде кездесетін гистаминнің түзілуі жайлы ақпарат көздерімен таныса келе, гистаминнің клетка дақылдарында атқаратын қызметін зерттеп білу аса қызығушылықты тудырды. Көбіне гистаминді зерттеушілердің ғылыми зерттеу жұмыстары омыртқалы жануарлардың организміндегі гистамин мен гистамин рецепторларын зерттеуге бағыттаған [1]. Сондықтан, біздің тарапымыздан клетка рецепторларының сүтқоректі жануарлардан алынған клетка дақылдарында қалай әрекет ететіндігі немесе қандай физиологиялық өзгерістерге ұшырайтыны жөнінде зерттеу жұмыстары та-

былмады [2]. Мысалға айтар болсақ, жасанды қоректік ортаны өзгерту жағдайында клетка мембранасының рецепторларының құбылуы немесе өзгеруі, сонымен қатар жануарларға зақым келтіретін тәжірибелерді қолданбай олардың орнына клетка дақылдарын пайдаланып, клетка дақылдарында жануарлар организмінде физиологиялық өзгерістердің үлгісін жасауға жаңа мүмкіндік беретін тәжірибелер мен зерттеу жұмыстарын жүргізу секілді жұмыстар кездеспеді [3]. Сол себептен, гистаминнің рецепторлары ағзамызда кеңінен таралғандықтан, олардың тышқан ұрықтарынан алынған фибробласттарға әсерін зерттеп білуді ұйғардық. Өйткені, гистамин рецепторларының қызметін, тіршілік әрекеттерін жасанды ортада зерттеген өте маңызды болып келеді. Тек қана ортаның рН көрсеткіші қалыпты жағдайында ғана емес, сонымен қатар ацидоз жағдайларында да гистамин рецепторларының реакциясын білу маңызды. Себебі, қоректік ортаның рН көрсеткіші әртүрлі ортада гистамин рецепторларының реакцияларын, бір-бірінің нәтижелерінен алынған мәліметтері арқылы салыстыруға болады. Салыстыру арқылы жасалынған тәжірибелерге нақты баға беріледі.

Яғни, біздің жұмысымыздың мақсаты клетка дақылдарында гистамин рецепторларының физиологиялық өзгерістерін зерттеу болып табылады.

Зерттеу материалдары және әдістері

Зерттеу жұмысымызға тышқан ұрықтарының фибробластарын алу үшін, 12 күндік ұрықты пайдаландық. Яғни, зерттеу жұмысымызға салмағы 25-30 г болатын ақ зертханалық буаз тышқандар қолданылды. Сонымен қатар гистаминнің әртүрлі ерітінділерін дайындау үшін Германияда жасалған гистамин дигидрохлорид (Sigma-Aldrich, Германия) реактивін қолдандық.

Тышқан ұрықтарынан алынған клеткалардан клетка дақылдарында монокабат түзілу үшін көптеген ерітінділер пайдаланылды. Мысалға, тышқаннан ұрықтарды алғаннан кейін оларды Хенкс ерітіндісімен (Sigma-Aldrich, Германия) жуып-шайдық та механикалық кескілеу процесін жасадық және оларды залалсыздандыру үшін пеницилин немесе беницилин секілді антибиотиктерді ерітінді құрамына енгіздік. Алынған ұрықтарды механикалық кескілеу процесінен кейін химиялық процесін іске асыру үшін 0,25 % трипсин (Sigma-Aldrich, Германия) қолданылды. Клеткалардың өсіп, дамуы үшін міндетті түрде қоректік орталар қажет. Пайдаланған қоректік ортамыз «среда Eagle's» деп аталады (Sigma-Aldrich, Германия). Қоректік ортаның рН көрсеткіші 7,5- ке тең. Қоректік ортаның рН көрсеткішін арнайы рН-метр РВ-11 құралымен анықтадық (Sigma-Aldrich, Германия). Сонымен қатар, клеткалардың организмнен тыс жасанды ортада тіршілігін сақтап тұруы

үшін міндетті түрде қоректік ортаның құрамына 10 % ірі қара малдың қан сарысуы қосылады (Sigma-Aldrich, Германия). Дайын болған ерітінділерімізді арнайы клетка дақылдарын өсіруге арналған матрасстарға 24 сағат 37°C термостатта (RS Biotech, Ұлыбритания) инкубацияланады.

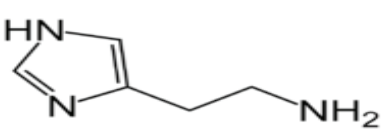
Клеткалардың өсуін, монокабат түзу барысын және олардың морфологиялық өзгерістерін (формалары, көлемдері) компьютерлік бағдарламамен қамтамасыз етілген люминесцентті микроскоп арқылы (AxioStar Plus өндірушісі Carl Zeiss, Германия) бақыладық.

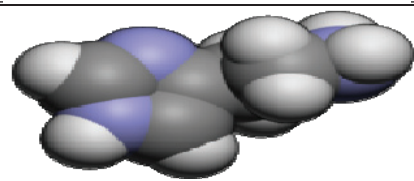
Алынған нәтижелер және оларды талдау

Зерттеу жұмыстарында тышқан ұрығының фибробласттарынан жасалынған жасанды қоректік орта пайдаланылды. Фибробласттар салмақтары 25-30 г болатын зертханалық ақ буаз тышқандардан алынды [4]. Жасанды қоректік ортада монокабат алу үшін құрамына 10 % ірі қара малдың қан сары суы қосылған қоректік ортаны пайдаландық [5].

Монокабат түзген клеткаларға арнайы қоректік орталарда дайындалған 0,1 % және 0,01 % гистамин дигидрохлоридін енгіздік. Себебі, гистамин биогенді амин тобына жатады және аллергиялық реакциялардың медиаторы, сонымен қатар бірнеше физиологиялық процесстердің реттеушісі болып табылады. Гистамин өзінің іс-әрекетін арнайы клеткалық рецепторлар арқылы тигізеді. Қазіргі кезде гистамин рецепторларының үш түрі белгілі. Олар: Н1-, Н2- және Н3-рецепторлары [6]. Гистаминнің химиялық құрылымын төмендегі 1-кестеде көрсетілген.

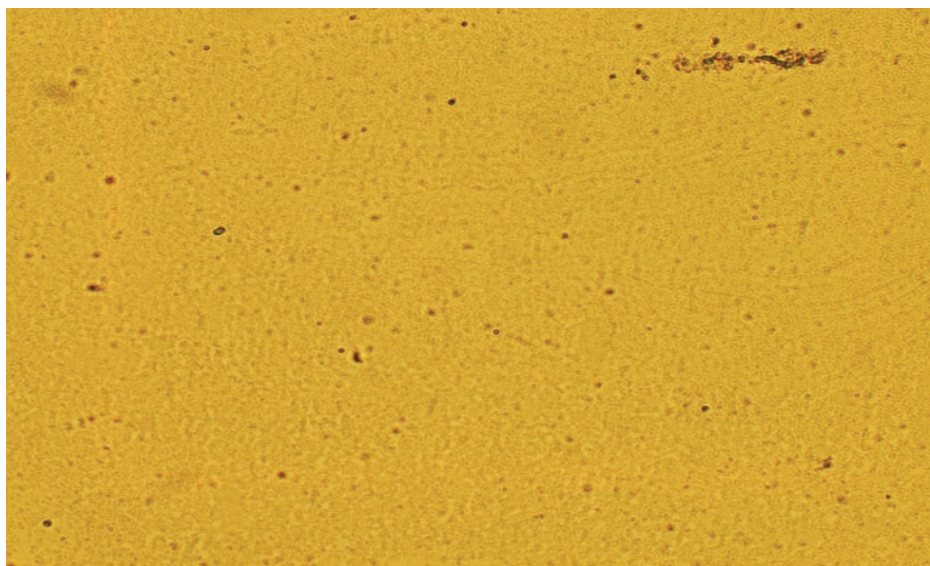
1-кесте – Гистаминнің химиялық құрылымы

Систематикалық атауы	4-(2-Аминоэтил)-имидазол немесе β-имидазол-этиламин	
Негізгі атауы	Гистамин	
Химиялық формуласы	C ₅ H ₉ N ₃	
Эмпирикалық формуласы	C1=C(NC=N1)CCN	
Молярлы массасы	111.15 г/моль	

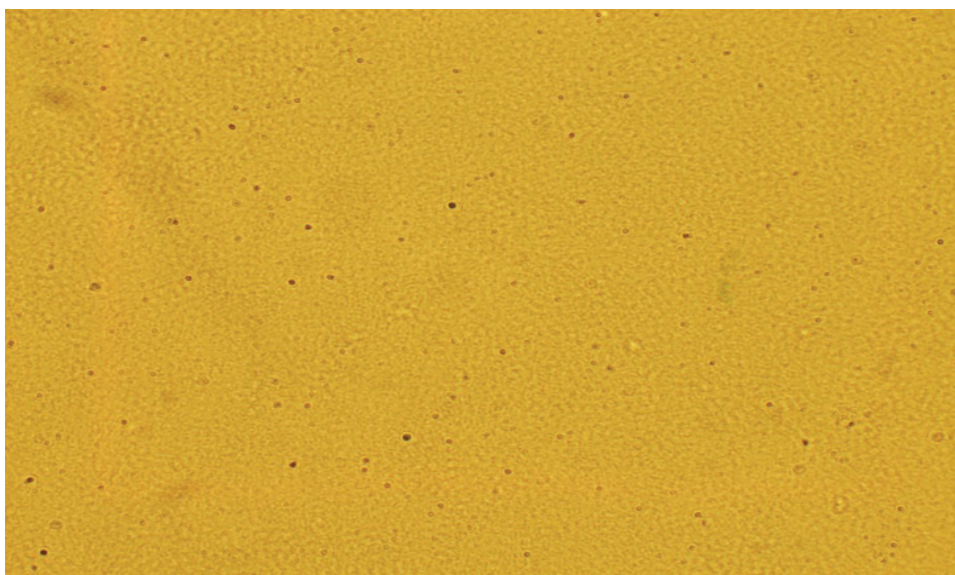


Сонымен бірге салыстыру үшін оң және теріс бақылау дайындалды. Оң бақылау ретінде – ешқандай гистамин қосылмаған клетка дақылының монокабаты есептелінді. Ал теріс бақылауға фенол алынды. Дайындалған бақылаулардың барлығы арнайы матрасстарға құйылып инкубацияланды 37°C [7]. Тәжірибелік жұмысымызды гиста-

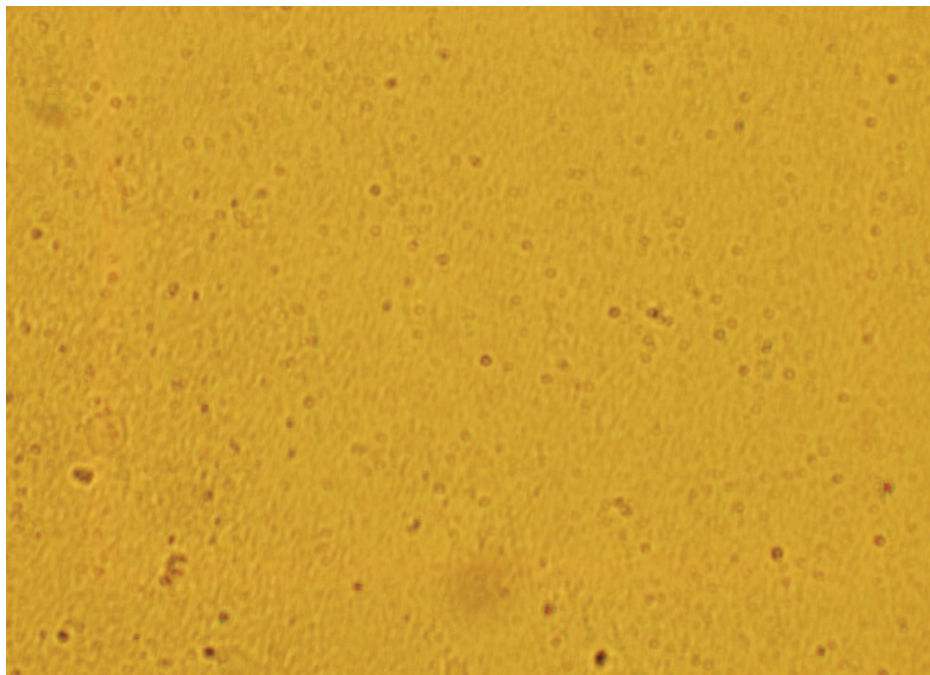
мин енгізгеннен кейін 2 жолмен бақылады: 1-ші бақылауды 24 сағаттан кейін, ал 2-ші бақылауды әр сағат сайын, яғни 1,2,4 сағат аралықтарында бақылап отырдық [8]. Клетка дақылдарында гистаминнің 0,1 % және 0,01 % концентрацияларының тышқан фибробластарының монокабат түзулеріне деген реакциясы 1-4 суреттерде көсетілген.



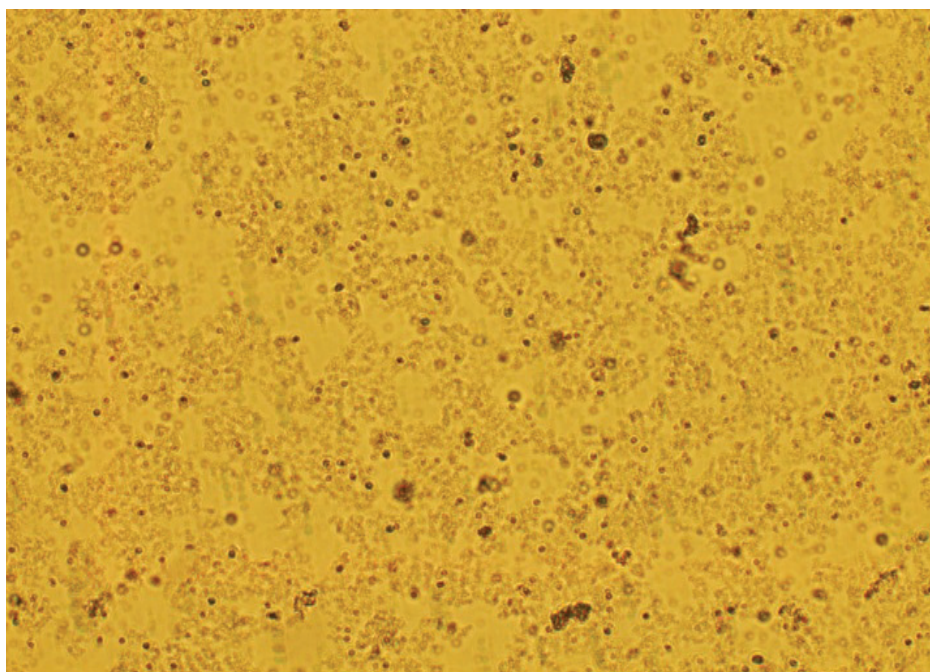
1-сурет – Клетка дақылдарында түзілген монокабат (гистамин 0,01%)



2-сурет – Клетка дақылдарында түзілген монокабат (гистамин 0,1%)



3-сурет – Гистамин енгізілмеген моноқабат (оң бақылау)



4-сурет – Фенол енгізгеннен кейінгі моноқабат (теріс бақылау)

Суреттен көріп отырғанымыздай, алғашқы трипсинделген клеткалар гистаминнің концентрациясына қарамай матрасстың үстінде тегіс моноқабат түзілді (сурет -1,2,3). Тәжірибеміздің нәтижесінде мынадай нәтижелерге қол жеткіздік: клеткалар

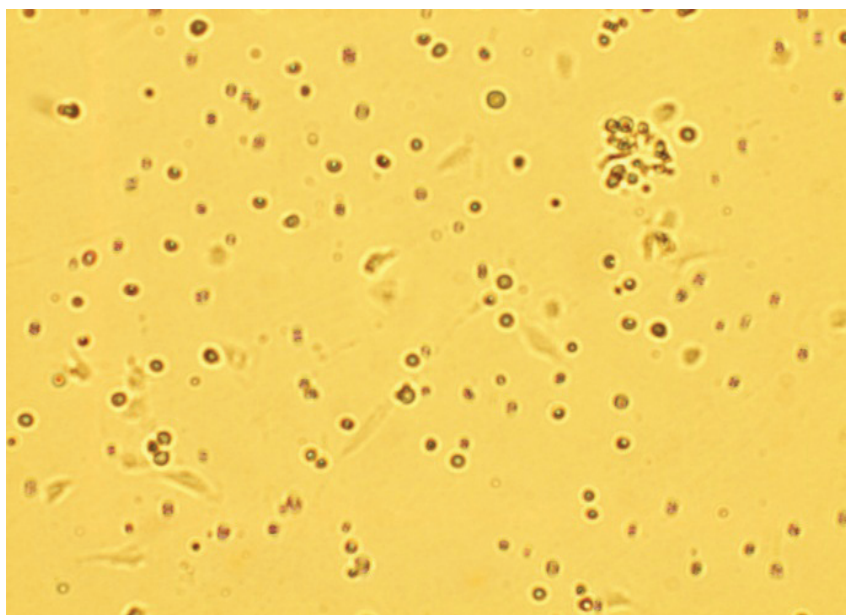
моноқабатында ешқандай теріс өзгерістер болмады, клеткалар жиналып біртекті қабат түзді және оң бақылаумен салыстырғанда айтарлықтай айырмашылықтары болмады. Салыстыру үшін дайындалған оң бақылауда да клеткалардың белсенді түрде дамуы байқалды.

Теріс бақылауда фенол енгізгеннен кейін клеткалардың басым бөлігінің монокабаттық құрылымының бұзылғаны байқалды (4-сурет).

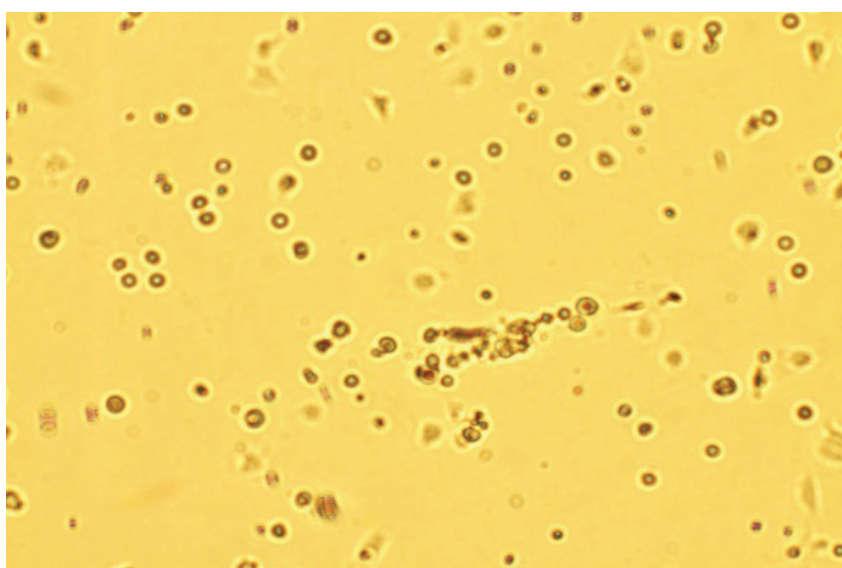
Демек мұндай нәтиже, гистаминнің клетка дақылдарында фибробласттардың монокабат түзуіне белсенді түрде қатысатынын дәлелдейді.

Зерттеуіміздің екінші сатысында гистаминнің клетка дақылдарына 1, 2, 4 сағат аралығында тигізген әсерін бақылады. Алға қойылған мақсатты орындау үшін гистаминнің әртүрлі кон-

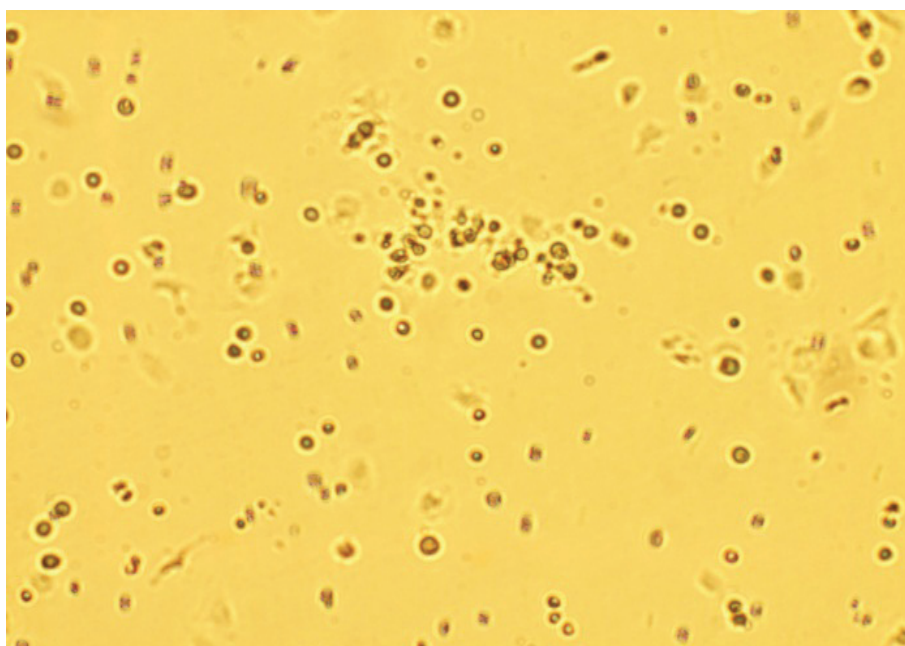
центрациялары таңдалып алынды. Гистаминнің әсерін 24 сағаттан кейін бақылағанымызда клеткалардың бірігіп монокабат түзгенін көрдік. Бірақ бұл бақылауда клетка фибробластарының қалай монокабат түзгендерін және қанша уақыт аралықтарында түзгенін көрмедік. Сондықтан гистаминді клетка дақылдарына енгізгеннен кейін 1, 2, 4 сағат аралықтарында бақылап отырдық. Біздің бақылауымыздың суреттемелік кескіндері 5-8 суреттерде көрсетілген.



5-сурет – Тышқан фибробласттарының 1, 2 сағат аралығында түзілуі (гистамин 0,01 %)



6-сурет – Тышқан фибробласттардың 1, 2 сағат аралығында түзілуі (гистамин 0,1 %)



7-сурет – Тышқан фибробласттарының 1, 2 сағат аралығында түзілуі (оң бақылау)



8-сурет – Тышқан фибробласттарының 1, 2 сағат аралығында түзілуі (теріс бақылау)

Сонымен, бақылауымыздың екінші түрінде 1, 2, 4 сағат аралықтарында фибробласттардың көбею қарқындылығының жылдамдығы оң бақылаумен салыстырғанда аз екені анықталды. Гистаминнің 0,1% бар ортада клеткалардың саны 0,01% гистамині бар ортамен

салыстырғанда басым екені анықталды. Гистамин концентрациясы басым бөлігінде, яғни 0,1% гистаминді ортада фибробласттардың жиналуы байқалды.

Демек гистаминнің жоғары концентрациясы клеткалардың бірігуіне оң әсер етеді.

Клеткалардың бірігуі кезінде, олардың байланыстары артып, монокабат түзетіні жайлы тұжырым жасауға болады.

Алынған нәтижелердің негізінде төмендегідей түйіндер жасалды:

Гистаминнің тышқан эмбриондарынан алынған клеткалардың ағзадан тыс жерде жасанды қоректік ортада өскен фибробласттарға кері әсерін тигізбейтіні анықталды.

Зертханалық тәжірибелер кезінде клетка дақылдарында морфологиялық өзгерістер болмады. Оң және теріс бақылаулармен салыстырғанда, шыққан нәтижелер оң бақылаудағы нәтижелерге ұқсас шықты.

Гистаминнің екі түрлі концентрациясында да (0,1 % және 0,01 %) клетка дақылдарында фибробластардың біртегіс монокабаты түзілді.

Гистаминнің клеткалардың өсуіне ықпал жасайтыны және клеткалардың бір-бірімен бірігуіне белсенді түрде жұмыс істейтіні дәлелденді.

Әдебиеттер

1 Воробьев А.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. Медицинское информационное агенство. – М., 2008.

2 Животная клетка в культуре / под. ред. Л. П. Дьяконова, В. И. Ситькова. – М., 2000.

3 Васильев Ю.М., Руднева И.А., Коптяева И.Б. Сравнительное изучение размножения вирусов гриппа птиц в культуре клеток и куриных эмбрионах // Вопросы вирусологии. – М., 2009. – №4. – С.18-23.

4 Методы культивирования клеток. – Л.: Наука, 1988.

5 Ветеринарная фармакология. – Алматы, 2000.

6 Бертрам Г. Катцунг. Базисная и клиническая фармакология // Т. 1. – Москва, 2000.

7 Вайсфелд И.Л., Кассиль Г.Н. Гистамин в биохимии и физиологии. – М.: Наука, 1981.

8 ГОСТ ИСО 10993.5-2002. Оценка биологического действия медицинских изделий. Исследование на цитотоксичность: методы *in vitro*. – Минск, 2005.

А.А. Ноғайбаева, С.Т. Тулеуханов, С.Н. Шин

Влияние гистамина на морфологические изменения фибробластов мышечных эмбрионов

Статья рассматривает влияние растворов гистамина, приготовленных в разных концентрациях, на фибробластов мышечных эмбрионов в условиях *in vitro*. Гистаминовые рецепторы – одни из наиболее распространённых и важных в организме. Поэтому изучение их функционирования в условиях ацидоза очень актуально. Использование такого подхода позволяет максимально приблизить результаты испытаний *in vitro* к показателям *in vivo*.

A.A. Nogaibayeva, S.T. Tuleuhanov, S.N. Shin

Influence of solutions histamine on morphological changes fibroblasts of mouse embryos

Article considers influences of solutions histamine prepared in different concentration on fibroblasts of mouse embryos, in conditions *in vitro*. Histamine receptors one of the most widespread and important in an organism. Therefore studying of their functioning in conditions acidosis is very actual. Use of such approach allows to approach as much as possible results of tests *in vitro* to indicators *in vivo*.