

ШЫҒУ ТЕГІ ӘРТҮРЛІ ЭНДОТОКСИННИҢ ТАУЫҚ ЭМБРИОНЫНА ПИРОГЕНДІ ӘСЕРІН ЗЕРТТЕУ

А.Қ.Сағынова¹, Н.Ш. Акимбеков², А.А. Жұбанова³

ал-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы қ., Қазақстан
goldy91@bk.ru

Бұл мақалада құрамында эндотоксині (ЛПС) бар бұзылған грамм теріс бактериялары негізіндегі суспензияның 6 нұсқасы (*E.coli* штамынан бөлініп алынған лабораториялық липополисахарид, коммерциялық липополисахарид, пирогенал және олардың карбонизделген күріш қауызымен өңделген формалары) алынды, олардың жұмыртқа эмбриондарына жеке және бірлескен пирогенді активтілігі зерттелді. Зерттеу барысында жұмыртқа эмбриондарына алынған нұсқалар ішінен бұзылған грамм теріс бактериялары негізіндегі суспензияның жеке және карбонизделген күріш қауызымен бірлескен әсері анықталды. Морфометриялық көрсеткіштері бойынша бұзылған грамм теріс бактериялары негізіндегі суспензияның жеке және карбонизделген күріш қауызымен өңделген әсеріне зерттеулер бойынша нәтижелер алынды.

Кілтті сөздер: *E. coli*, липополисахарид, пирогенал, карбонизделген сорбент.

Эпидемиологиялық жағдайдың нашарлауы, көбінесе грамтеріс бактериемиямен ауыратын науқастар санының артуы заманауи өзекті мәселе болып қала береді. Грамтеріс бактериемия жүкқан кезде ең негізгі даму себебі липополисахаридтер (ЛПС) болып табылатын эндотоксинді шоктың асқыну қаупі артады. ЛПС – грамтеріс бактериялардың сыртқы мембранасының негізгі құрылымдық бірлігі.

ЛПС-тің токсинді құрамдас бөлігі липид А болып табылады. ЛПС-тің өзегінің және полисахаридті фрагментінің ұзындығы мен құрамын бактериялардың хемотипі анықтайды. ЛПС тек бос күйде ғана әр түрлі биологиялық белсенділіктерді көрсетеді. Бактериядан ЛПС-тің босап шығуына клеткаға тән қасиеттері де оның тіршілікке қабілеттілігі, құрылымы және клетка қабырғасының заряды, бактериялардың өсу жағдайы және әр түрлі сыртқы агенттер сияқты сыртқы факторлар да әсер етуі мүмкін [1]. Кез келген адсорбция тәсілінің оң нәтижелігіне әсер ететін екі негізгі маңызды факторлар – бұл ЛПС пен тазаланатын сұйықтықтың адсорбентке салыстырмалы туыстығы, сонымен қатар ЛПС пен басқа адсорбаттар арасындағы өзара әсердің деңгейі және сипаты. Басқа факторларға жүйедегі физико-химиялық әрекеттесулердің температураға, рН-қа, беткейлік-белсенді және денатурациялаушы заттардың болуына тәуелділік жатады [2]. Адсорбенттер ішінде карбонизделген материалдар жетекші рөл алады. Оларды жоғары үлесті беткей мен микропоралардың үлкен көлемді болуы, сонымен қатар зарядты және беткейіндегі химиялық топтарды өзіне жинап алу мүмкіндігі ерекшелендіреді. Адсорбенттердің ЛПС молекуласын өзіне сіңіру және сұйықтықтарды элиминациялау қасиеті зерттеу жұмысының өзектілігіне айналды.

Біздің зерттеу жұмысымыздың негізгі мақсаты бұзылған грамм теріс бактериялары негізіндегі суспензияның (ЛПС) жұмыртқа эмбрионына пирогенді активтілігін және карбонизделген сорбентпен өңделген әсерін зерттеу болып табылады.

Зерттеу материалдары және әдістері

Зерттеу жұмысына зерттеу объектілері ретінде бұзылған грамм теріс бактериялары негізіндегі суспензияның (ЛПС) лабораториялық, коммерциялық, пирогенал перепаратының жеке және карбонизделген күріш қауызымен (ККҚ) адсорбцияланған ерітінділері, эмбрионалды дамудың әр түрлі кезеңдеріндегі тауық эмбриондары (ТЭ) пайдаланылды.

Зерттеу әдістері

E. coli-дан бөліп алынған ЛПС-тің (лабораториялық, коммерциялық, пирогенал дәрілік препараты, ККҚ өңделген ерітінділер) ТЭ-на пирогендік әсері бойынша тәжірибелік жұмыс барысында салмақтары мен пішіндері салыстырмалы түрде бірдей 25 дана ұрықтанған үй жұмыртқалары пайдаланылды.

Тауық эмбрионының тірі қалушылығын қамтамасыз ететін ЛПС концентрациялары мен қажет мөлшерлерін дұрыс алу үшін 7 жұмыс тобы (бақылау I, II; зертханалық ЛПС I, II; зертханалық ЛПС + ККҚ I, II; коммерциялық ЛПС I, II; коммерциялық ЛПС + ККҚ I, II; Пирогенал I, II; Пирогенал + ККҚ I, II) құрылды.

Барлық жұмыс топтарына енгізілетін ерітінділер бірдей мөлшерде (0,1 мл) және бірдей концентрацияда (1:1000000) болды. Әр түрлі ЛПС ерітінділерінің бірдей концентрация мен мөлшерде алу ТЭ әсерін салыстырмалы түрде байқауға мүмкіндік береді.

Ұрық мүшелері мен қантамыр жүйелері жақсы дамыған кезеңде, 15-ші және 18-ші тәуліктерде ЛПС бір рет енгізіліп отырды. Себебі дамудың бұл тәуліктерінде эмбрион қоректік заттардың көзі ретінде саруызды пайдаланады. ЛПС енгізілетін орын саруыз қапшығы орналасқан ауданға сәйкес келеді.

Жұмыртқа бетінің дезинфекциясы үшін 5% йодтың спиртті ерітіндісі пайдаланылды. Йодтың спиртті ерітіндісі жұмыртқа бетіне, шамамен, 2 см² ауданға енгізіледі.

ЛПС ерітінділерін ТЭ енгізу барысында 2 тәжірибелік топ құрылды:

I – бақылаутобы – интакттыэмбриондар;

II – сынақтобы – бұлтоптыңұрықтарынадамудың 15-ші және 18-ші тәуліктерінде ЛПС ерітінділеріенгізіледі.

Инкубация зертханалық жағдайда, 20±2°C температурада және 80 % салыстырмалы ылғалдылықта жасалды. Инкубация барысында ЛПС енгізілетін күнге дейін әрбір 3 күн сайын жұмыртқалардың салмақтары тіркеліп отырды [3].

Жұмыртқалардың сапасын бақылау құрылғысы – овоскоп көмегімен жұмыртқалардың ұрықтанғандығын, сонымен қатар, ЛПС ерітіндісі енгізілетін саруыз қапшығының орналасу ауданын бақылауға болады. ЛПС-ті енгізу стерильді жағдайларда жүзеге асырылады: боксты 2-3%-дық фенол ерітіндісімен өңдеп, жұмысқа дейін 2-3 сағат бойы УКС сәулелендіру қажет. Енгізілетін ЛПС мөлшері өте аз болғандықтан, инсулин шприцтері пайдаланылды. Енгізілетін орынды алдын ала 5%-дық йодтың спиртті ерітіндісімен өңдеп, инені спирт шамында күйдіру арқылы саңылау жасалады. Инемен саңылау жасау барысында жұмыртқаны жарып алуға тырысу керек. ЛПС ерітіндісінің қажет мөлшерін шприцке алынады.

Саңылау арқылы жұмыртқаның саруыз қапшығына мұқият жартылай енгізіледі. Инені алғаннан кейін тұзақ көмегімен саңылауды парафинмен жауып, инкубацияны жалғастыру керек [4].

ЛПС ерітінділерінің пирогендік дәрежесін өлшеу үшін сандық сынапсыз термометр пайдаланылады.

Зерттеу нәтижелері және оларды талқылау

Жұмыс нәтижелері бойынша ЛПС негізіндегі енгізілген сұйықтықтардың тәжірибелік топтардағы эмбриондардың салмақтық көрсеткіштеріне әсері жоғары екендігін бақылауға болады.

Алайда, ЛПС сұйықтығын ККҚ өңдеп, жұмыртқаға енгізу нәтижелері оның бақылау тобымен салыстырғанда көрсеткіштерінің ұқсас екендігін байқауға болады (Кесте 1, 2). Бұдан шығатын қорытынды, эндотоксиннің ККҚ беткейіне адсорбцияланатыны және ТЭ әсерінің төмендейтіндігін айқындайды.

Кесте 1 - Дамудың 15-ші тәулігінде енгізіліп, 16 тәулікте алынған салмақтық көрсеткіштердің нәтижелері

Зерттеу топтары	15 тәулік, енгізген кездегі салмақ	16 тәулік, жұмыртқаны ашқан кездегі салмақ
Бақылау	50,20±0,1	44,58±0,9
ЛПС лаб	52,13±0,6	47,25±0,5
ЛПС лаб + ККҚ	48,38±0,3	47,14±0,5
ЛПС ком	51,23±0,6	50,14±0,7
ЛПС ком + ККҚ	53,36±0,8	52,98±0,4
Пирогенал	52,29±0,9	51,21±0,4
Пирогенал + ККҚ	53,10±0,9	52,48±0,9

Кесте 2 - Дамудың 18-ші тәулігіне енгізіліп, 19-шы тәулікте алынған салмақтық көрсеткіштердің нәтижелері

Зерттеу топтары	18 тәулік, енгізген кездегі салмақ	19 тәулік, жұмыртқаны ашқан кездегі салмақ
Бақылау	55,96±0,8	55,55±0,5
ЛПС лаб	54,16±0,9	53,14±0,7
ЛПС лаб + ККҚ	52,18±0,4	53,87±0,9
ЛПС ком	46,36±0,3	45,21±0,5
ЛПС ком + ККҚ	51,51±0,1	50,01±0,1
Пирогенал	52,01±0,7	51,98±0,7
Пирогенал + ККҚ	53,45±0,8	52,97±0,4

Жұмыстың келесі сатысында, алынған сұйықтықтардың ТЭ пирогендік әсері зерттелді. 3 кестеден байқап тұрғанымыздай, лабораториялық ЛПС, коммерциялық ЛПС, «пирогенал» дәрілік препараты ерітінділері жұмыртқа температурасының, бақылаумен салыстырғанда, айтарлықтай жоғарылатқандығы анықталды. Себебі, аталған ерітінділер температураны көтеруге бағытталған пирогендік әсерге ие.

Кесте 3 - Дамудың 15-ші тәулігінде енгізіліп, 16-шы тәулігінде алынған температуралық көрсеткіштер

Зерттеу топтары	Дамудың 16-ші тәулігі	Дамудың 19-ші тәулігі
Бақылау	33,9±0,2	34,3±0,2
ЛПС лаб	34,2±0,5	35,5±0,3
ЛПС лаб + ККҚ	33,7±0,3	34,2±0,4
ЛПС ком	34,5±0,2	35,9±0,3
ЛПС ком + ККҚ	33,5±0,3	33,9±0,4
Пирогенал	37,7±0,4	35,3±0,2
Пирогенал + ККҚ	33,2±0,5	34,2±0,2

16-шы тәуліктегі пирогендік көрсеткіштер бақылау тобында 33,9±0,2°C құраса, ал лабораториялық жағдайда бөлініп алынған ЛПС ерітіндісі енгізілген тәжірибелік тобында бұл көрсеткіш 34,2±0,5°C жетті. Осы нәтижеден эндотоксиннің пирогендік белсенділік көрсеткендігін байқауға болады. Карбонизделген сорбентпен өңделген

лабораториялық ЛПС ертіндісі енгізілген тәжірибелік топтың көрсеткіші бақылау тобының температурасына жуық ($33,7 \pm 0,3$).

19-шы тәуліктегі бақылау тобындағы жұмыртқалардың температуралық көрсеткіші $3,4 \pm 0,2$ құраса, «пирогенал» ертіндісі енгізілген тәжірибелік топтардың пирогендік көрсеткіші $35,3 \pm 0,2$ құрайды, яғни температура айтарлықтай көтерілген. Себебі «пирогенал» дәрілік препараты температураны көтеруге бағытталған. Ал ККҚ-мен өңделген «пирогенал» ертіндісі енгізілген топтың пирогендік дәрежесі бақылау тобына жуық болды ($34,2 \pm 0,2$).

Қорытынды

Зерттеу нәтижелері көрсеткендей, бұзылған грамм теріс бактериялары негізіндегі суспензияның (ЛПС) лабораториялық, коммерциялық ЛПС және пирогенал препараттарының пирогенді әсерінде жұмыртқа эмбриондарының температурасының төмендегені байқалса, ЛПС –тің карбонизделген сорбентпен өңделген ертінділерінде температурасы туралы көрсеткіштер салыстырмалы түрде бақылау топтарымен ұқсас болып шықты. Бұл көрсеткіш ЛПС ертінділерінің пирогенді активтілігінің жұмыртқа эмбриондарына қаншалықты әсер еткендігін көрсетеді.

Әдебиеттер

1 Huijbregts R.P.H., de Kjoon A.I.P.M., de Kruijff B. Topology and transport of membrane lipids in bacteria. *BBA*. 2000.- P. 43-61.

2 Aida Y. and Pabst M.J. Neutrophil responses to lipopolysaccharide. Effect of adherence on triggering and priming of the respiratory burst. *J. Immunol.* 1991.- P.1271-1276.

3 Wald N.J., Maternal serum alpha-fetoprotein screening for open neural tube defects: revised statistical parameters / N.J. Wald, A.K. Hackshaw, H.S.Cuckle // *VJOG.* - 2000. - V. 107 - № 2. - P. 296-298.

4 Тимченко Л.Д. Содержание альфа-фетопропротеина (АФП) в эмбрионах кур на ранних стадиях эмбриогенеза / Л.Д. Тимченко, А.П. Трунова, В.Н. Стрекалова.

5 Тимченко Л.Д., Концентрация щелочной и кислой фосфатазы в нейтрофилах крови куриных эмбрионов в норме и при введении, амброзийного антигена / Л.Д. Тимченко, А.П. Трунова // Проблемы развития биологии и экологии на Северном Кавказе: Материалы научной конференции / СГУ. - Ставрополь, 2007. - С. 242-245.

Тіркелу картасы

Аты, тегі (толығымен)	Сағынова Алтынай Қайырбекқызы
Ғылыми дәрежесі, ғылыми атағы	2 курс магистранты
Жұмыс орны, қызметі	әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті
Байланыс телефондары	87758279678
e-mail	goldy91@bk.ru
Бағыт (секция)	Биология ғылымдары; секция 2
Баяндама тақырыбы	Шығу тегі әртүрлі эндотоксиннің тауық эмбрионына пирогенді әсерін зерттеу
Он-лайн немесе сырттай қатысу	Сырттай қатысу

Ұйымдастыру комитеті