

UDC 616. 74-092

Akimbekov N.Sh., Zhubanova A.A.

**THE EFFECT OF CARBONIZED MATERIAL
ON HUMAN AND BOVINE AORTIC ENDOTHELIAL CELLS**

(Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan,
Aachen University of Applied Sciences, Julich, Germany)

In this work it is studied the effect of carbonized material on the basis of rice shell (CRS) on human and bovine aortic endothelial cells and it has been found out that at less concentration of CRS does not exert influence on growth of cell cultures.

Of late years in medicine more and more it has been speaking about blood vascular illnesses. And there are various methods of treatment. To introduce a way of treatment in practical application it is necessary to investigate all system of blood vessel. Here the leading role plays endothelial cells. In this work it was investigated the effect of carbonized materials on the basis of rice shell on human and bovine aortic endothelial cells. Researches were spent in laboratories of cellular biophysics and microbiology of Aachen University of Applied Sciences (Germany), the special attention has been given prospect of use of the given material for creation of selective and inexpensive systems.

Materials and methods

For the experiment it was used two types of endothelial cells; human and bovine aortic endothelial cells. All protocols working with these cell cultures showed below;

1. Preparation the medium. It was calculated the needed culture surface area according to the plating confluence and filled the appropriate volume of PromoCell Growth Medium (DMEM supplemented with 10 % fetal bovine serum, 100 U/ml penicillin, and 100 µg/ml streptomycin) (at least 9 ml per vial of cells) in cell culture vessels and placed the vessels in an incubator (37°C, 5% CO²) for 30 minutes.

2. Thaw the cells. It was removed the cryovial from the liquid nitrogen container and immediately placed it on dry ice - even for short transportation and submerged the vial into a water bath (37°C) and continuously agitated for 90 sec.

3. Disinfection the vial and seed the cells. Thoroughly rinsed the cryovial with 70% ethanol to avoid microbial contamination. Then, wiped the vial with a tissue. Then it was opened under a laminar flow bench and resuspended the cells by carefully pipetting up and down and was transferred to a cell culture vessel with the prewarmed medium.

4. Incubate the cells. The vessel placed in an incubator (37°C, 5% CO²) for cell attachment and replaced the medium after 16 – 24 hours.

Then to the ready cultivated cells (cell confluence 70-90%, that is µg/mm²) had added the sterile activated material on the basis of rice shell (at the concentration of 5 µg, 10 µg, 50 µg). Then the cells were washed with PBS, and then used Diff Quick method. After staining the cells were photographed under an optical microscope (Laser microscope, Axiovert 100 M). The cell number was counted at 12 different areas. Data were averaged from three parallel experiments, which were normalized to that of the control.

Results and discussions

Human Aortic Endothelial Cells (HAoEC) respond to cytokine stimulation by expressing cell adhesion molecules. Aortic endothelial cells have been used as an *in vitro* model for the study of morphological and ultra-structural changes of cells.

Bovine Aortic Endothelial Cells (BAoEC) are an economical alternative suitable for the studies of endothelial function and endothelial metabolism. These cells play critical roles in cardiac homeostasis.

As shown in Fig.1, after culture with different concentrations of CRS for 24h, there was a dose-dependent decrease in number of viable cells with increasing dose of the CRS for cells.

Below it is shown photos of HAoEC and BAoEC at different concentration of CRS. It is noticeable that at 5 µg concentration of CRS does not effect on HAoEC and BAoEC growth as shown in the graph and the number of cells reached 19485±2 (HAoEC) and 19475±2 cell/cm² (BAoEC).

At 10 µg CRS concentration the growth of HAoEC reached 8085±1 cell/cm² as so BAoEC's 8360±2 cell/cm². The number of cells decreased to compare with control. In the control HAoEC growth showed 18425±1 and BAoEC - 18425±2 cell/cm². Survivability at this concentration of BAoEC is higher than HAoEC.

In Fig. 1 it was obvious that HAoEC showed no growth at 50 µg concentration, but BAoEC grew and cell number formed 1030 cell/cm².

In figure 3 shown that BAoEC was less affected by Rice Shell to compare with HAoEC. But both of endothelial cells grew well at 5 µg concentration of carbonized material.

The made work has shown, that at less concentration (5 µg) of carbonized material does not exert influence on growth both endothelial cells and even is noticeable that cells grow well with comparison by the control.

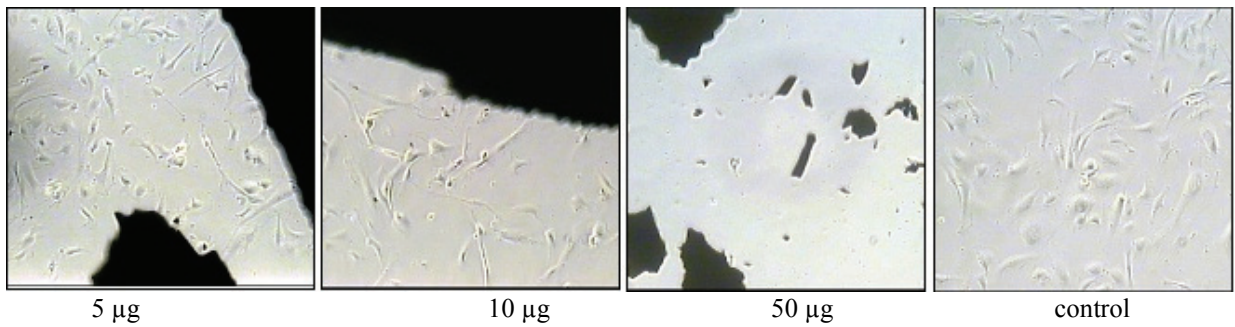


Figure 1 - The growth of HAoEC at different concentration of CRS ($\mu\text{g}/\text{mm}^2$)

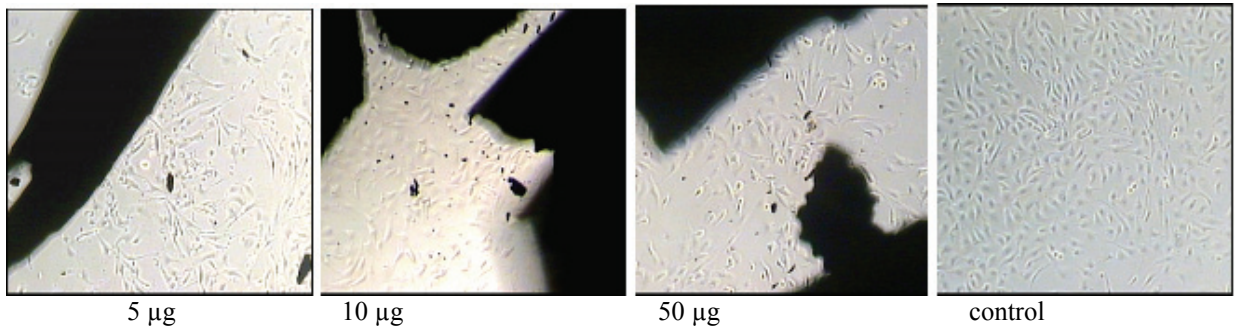


Figure 2 - The growth of BAoEC at different concentration of Rice Shell ($\mu\text{g}/\text{mm}^2$)

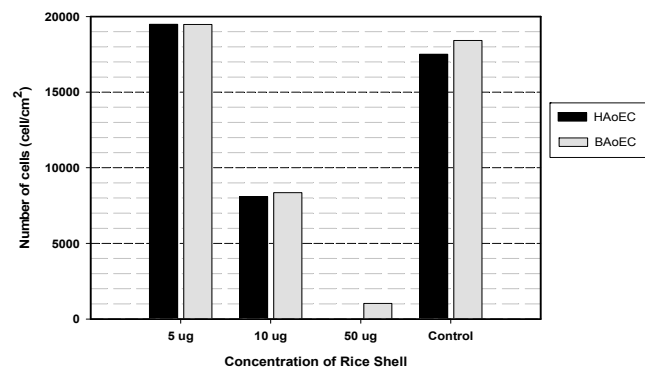


Figure 3 - The viability of HAoEC and BAoEC at different concentration of CRS

The results showed that the morphologies, attachment and spreading behavior of the CRS-treated cells were similar to the untreated control cells.

The made works demonstrated that the CRS exposure caused no cytotoxicity on endothelial cells. These findings will be used at the further work with other cell cultures.

References

- 1 Human Aortic Endothelial Cells: HAOEC. 1997-2009 Cell Applications
- 2 LIVE/DEAD Viability/Cytotoxicity Kit “for mammalian cells”. Product Information. 21 December, 2005
- 3 Robert R. Langley, Karen M. Ramirez and others. Tissue-specific Microvascular Endothelial Cell Lines from H-2Kb-tsA58 Mice for Studies of Angiogenesis and Metastasis. // *CANCER RESEARCH* 63, 2971–2976, June 1, 2003.
- 4 Lyons, A. B. and Doherty, K. V. (1998) Flow cytometric analysis of cell division by dye dilution, in *Current Protocols in Cytometry* (Robinson, J. P., Darzynkiewicz, Z., Dean, P. N., eds.), John Wiley & Sons, New York, pp. 9.11.1–9.11.9.
- 5 Hiromichi Yumoto. Sensitization of Human Aortic Endothelial Cells to Lipopolysaccharide via Regulation of Toll-Like Receptor 4 by Bacterial Fimbria-Dependent Invasion. // *American Society for Microbiology*. 21 September 2005
- 6 Nica M. Borradaile and J. Geoffrey Pickering. Polyploidy impairs human aortic endothelial cell function and is prevented by nicotinamide phosphoribosyltransferase // *Am J Physiol Cell Physiol* 298: C66-C74, 2010. First published October 21, 2009

Тұжырым

Бұл жұмыста күріш қауызы негізіндегі карбонизделген материалдың адам және бұқа аорталы эндотелиальды клеткаларына әсері зерттелді және күріш қауызының төмен концентрациясы клетка дақылдарының өсуіне әсер етпейтіндігі белгілі болды.

Резюме

В данной работе исследуется действие карбонизованного материала на основе рисовой шелухи на эндотелиальные клетки человеческой и бычьей аорты, и выяснено, что при меньших концентрациях рисовой шелухи не оказывают влияния на рост клеточных культур.

УДК: 632.727/937.14

Белгибаева А.Б., Слямова Н.Д., Дуйсембеков Б.А., Смагулова Ш.Б., Нусипбекова А.А.

***Beauveria bassiana* САҢЫРАУҚҰЛАҚ ИНФЕКЦИЯСЫМЕН ЗАЛАЛДАНҒАН АЗИЯЛЫҚ ШЕГІРТКЕНІҢ ІШКІ ҚҰРЫЛЫСЫНДАҒЫ ӨЗІНДІК ЕМЕС ЭСТЕРАЗАЛАРДЫҢ ӨЗГЕРГІШТІГІ**

(Қазақ өсімдік қорғау және карантин ғылыми-зерттеу институты)

Beauveria bassiana саңырауқұлақ инфекциясымен залалданған азиялық шегірткенің ішкі құрылысындағы өзіндік емес эстеразалардың өзгергіштігі зерттелді. 3-ші тәулікте залалданған шегірткелердің ішкі құрылысындағы өзіндік емес эстеразалардың белсенділігі жоғарылайтыны, ал 6-шы тәулікте оның төмендейтіні анықталды. Детоксикациялық жүйелер компоненттерінің белсенділігі саңырауқұлақ инфекциясының бастапқы кезеңінде, бунақденелілердің қорғаныс жүйелеріне қарсы бағытталатындығы байқалды.

Қазіргі уақытта Қазақстанда шегірткелердің санын жоюға тек қана химиялық улы заттар қолданылады. Сол себепті өсімдік қорғауда ғалымдардың алдында тұрған міндетердің бірі - табиғатқа және адамзатқа зиянын тигізбейтін, яғни биологиялық шаралар іздестіріле бастады. Соның ішінде микробиологиялық және биохимиялық тәсілдер болып табылады.

Фитофагтардың санын биологиялық әдіспен бақылауды пайдалану зерттеушілердің бунақденелілердің тоғышарларға төзімділігін қамтамасыз ететін механизмдеріне қызығушылығын тудырды [1, 2]. Бунақденелілердің энтомопатогендік саңырауқұлақтарға төзімділік механизмдері патогендердің элиминациясына бағытталған, сонымен қатар токсинді заттардың деградациясын және олардың метаболизм жүйелерін қосады [1, 3]. Сонымен қатар, энтомопатогенді саңырауқұлақтарға төзімділігін зерттеу кезінде, детоксикациялық өнімдердің патогендер метаболизміне бағытталғандығы, саңырауқұлақтардың микозының даму механизмдерінің негізгі қызметі анықталған [3, 4, 5]. Бұл – энтомопатогенді саңырауқұлақтардың метаболиттердің үлкен арсеналдарының инфекциялық жүйелерге қатысатынын және қамтитынымен байланысты және микоздардың ерекше қасиеті – бунақденелілердің ағзаларының улануы болып табылатындығымен байланысты [6, 7, 8].

Бунақденелілердің негізгі ферментативтік жүйелері – детоксикациялық процесстердің әртүрлі ксенобиотиктеріне қатысатын монооксигеназалар, эстеразалар және глутатион-S-трансферазалар болып табылады [9]. Өзіндік емес эстеразалар бунақденелілердің ағзасындағы бірқатар аса маңызды жүйелерінің қызметін атқарады: олар бунақденелілердің бұлшықеттеріндегі ұшуды белсенді қамтамасыз ететін жоғарғы май қышқылды эфирлердің энергетикалық маңызды катаболизмін, майлардың мобилденуін, сонымен қатар майлы денесіндегі майларды қамтамасыз етеді [10]. Эстеразалардың кең көлемді субстратты спецификалығы олардың әртүрлі дәрежедегі токсиндердің деградациясындағы айрықша қызметі дәлел. Өзіндік емес эстеразалар метаболизм процесінде және фосфорорганикалық қосындылардың детоксикациясында, пиретроидтардың, карбоматтардың, ювеноидтардың процесстеріне қатысатындығы анықталды [11, 12].

Токсиндік эстеразалар молекулаларының деградациялық функциялары инфекциялық процесстердің даму кезінде бунақденелілерді патогендерден қорғауда негізгі қызметтердің бірін атқарады. Үлкен қан көбелегінің *Galleria mellonella* L. жұлдызқұрттарына және жібек құртында *Bombux mori* L. микроспоридиялық, бактериялық және саңырауқұлақ инфекцияларында өзіндік емес эстеразалардың жана изоформаларының индукциясы және олардың әртүрлі органдардағы белсенділігінің өзгергіштігі көрсетілген [3, 13, 14]. Бунақденелілердің детоксикациялық жүйелерінің синтетикалық ингибиторларын қолдану *G. mellonella* - ның энтомопатогендік саңырауқұлақтарға төзімділігін төмендетеді [4, 5]. Шегірткелердің микоз кезіндегі детоксикациялық ферменттері бұрын-соңды зерттелмеген [15]. Сол себептен зерттеулердің мақсаты азиялық шегірткелердің *Locusta migratoria* дернәсілдерінің қанындағы және ішкі майындағы *Beauveria bassiana* саңырауқұлақ инфекциясының дамуы кезіндегі өзіндік емес эстеразалардың белсенділігін анықтау болып табылады.