

Как видно из рисунка 3, и препараты спирулины, и биокомпозита способны значительно подавлять рост условно патогенных энтеробактерий, способствуя таким образом восстановлению микробиоценоза кишечника.

Таким образом, согласно полученным нами экспериментальным данным, применение препаратов спирулины, а также биокомпозита на основе КРШ и клеток микроводоросли спирулины, приводит к раннему восстановлению микрофлоры кишечника крыс за счет увеличения количества лактобактерий – представителей нормальной микрофлоры кишечника и снижения количества энтеробактерий – представителей условно патогенной микрофлоры. Это означает, что сконструированный нами биокомпозит на основе сорбента КРШ и клеток микроводоросли спирулины может быть предложен для эффективной коррекции микрофлоры кишечника.

Литература

- 1 Гаев П.А., Калев О.Ф., Коробкин А.В. Энтеросорбция как метод эфферентной терапии. - Челябинск: ЧелГМА, 2001. - 56 с.
- 2 Ishibashi N., Yamazaki S. Probiotics and safety // Am. J. of Clin. Nutr. – 2001. – Vol. 73, № 2. – P. 465-470. Конев Ю.В. Дисбиозы и их коррекция // Consilium med. - 2005. - №6. - С. 432-437.
- 3 Жубанова А.А., Заядан Б.К., Акмуханова Н.Р., Кирбаева Д.К. Получение кормовой добавки на основе фоторезистентного штамма цианобактерии – *Spirulina platensis* ZBK-1M // Материалы 4 Московского Межд. конгресса “Биотехнология: состояние и перспективы развития”. – М., 2007. – С.262.
- 4 Заядан Б.К., Жубанова А.А. Создание биологически активных препаратов на основе цианобактерии *Spirulina platensis* // Сборник II межд. науч. конференции “Химия, технология и медицинские аспекты природных соединений”. – Алматы, 2007. - С. 284-285.
- 5 Мансуров З.А., Жилибаева Н.К., Уалиева П.С., Мансурова Р.М. Получение и свойства сорбентов из растительного сырья // Химия в интересах устойчивого развития. - 2002. - Т. 10, № 4. - С. 339-346.

УДК 57.085.20

Н.Ш. Акимбеков^{1*}, И. Дигель², З.А. Мансуров¹, А.А. Жубанова¹

¹Казахский Национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан

²Аахенский университет прикладных наук, Германия

*e-mail: akimbeknur@gmail.com

Изучение влияния карбонизованного материала на основе рисовой шелухи на жизнеспособность и миграцию фибробластов в культуре клеток Т3В3

Изучен цитотоксический эффект карбонизованной рисовой шелухи (КРШ) на культуру Т3В3 клеток фибробластов дермы мышей, а также процесс миграции и пролиферации этих клеток в присутствии КРШ. Делается вывод о безвредности и перспективности применения КРШ в сорбционно-аппликационной терапии для лечения острых и хронических гнойно-некротических процессов в ранах и мягких тканях.

Ключевые слова: Сорбент, эффект, фибробласты, миграция, пролиферация, жизнеспособность клеток.

N.Sh. Akimbekov, I. Digel, A.A. Zhubanova.

Investigation the Influence of Carbonized Material Based On Rice Husk on Viability and Migration of Fibroblasts in T3B3 Cell Culture

Cytotoxic effect of carbonized rice husk (CRH) on fibroblasts of mice derma in T3B3 cell culture and processes of migration and proliferation of these cells in the presence of CRH were investigated. Received results showed that the application of CRH in sorption therapy for treatment of acute and chronic purulo-necrotic processes is innocuous and perspective.

Keywords: sorbent, influence, fibroblasts, migration, proliferation, cell viability.

Н.Ш. Акимбеков, И. Дигель, А.А. Жубанова

Күріш қауызы негізіндегі карбонизделген материалдың Т3В3 клетка дақылдындағы фибробластардың тіршілік қабілеттілігі мен миграциясына әсерін зерттеу

Тышқанның Т3В3 клетка дақылдындағы дермалық фибробластына карбонизделген күріш қауызының (ККҚ) цитотоксикалық әсері және оның клеткалар миграциясы мен пролиферация процестеріне әсері зерттелді. Созылмалы және ауыр іріңді-некротизді процестерді емдеуде сорбциялық-аппликациялық терапияда ККҚ қолдану – оның зиянсыздығын және перспективті материал екендігі белгілі болды.

Вестник КазНУ. Серия биологическая. №3/1(59). 2013

Түйін сөздер: сорбент, эффект, фибробласттар, миграция, пролиферация, клеткалардың тіршілікке кабілеттілігі.

Медицинское применение сорбентов сформировало целое направление в методах сорбционной терапии – эфферентные (физико-химические) методы, которые приобретают особое значение в решении одной из самых острых современных медико-социальных проблем – охраны внутренней среды организма [1].

К наиболее древним методам эфферентной терапии относится аппликационная сорбция, основанная на использовании сорбентов, обладающих специфическими свойствами. Выявлено, что, если сорбенты при прямом контакте с раневой поверхностью используются для извлечения из ран и раневых полостей токсических метаболитов, микробных клеток и бактериальных токсинов, то при энтеральном применении они способны также проявлять антитоксические и антибактериальные свойства, нормализуя таким образом микрофлору кишечника.

Известно, что активные сорбенты можно получать из вторичного растительного сырья (древесина, косточки плодовых деревьев, рисовая и пшеничная шелуха и т.п.), путем его высокотемпературной карбонизации и активации. Установлено, что полученные таким образом карбонизованные сорбенты представляют класс высокомолекулярных пористых углеродных материалов, обладающих развитой наноструктурированной поверхностью и способностью эффективно и избирательно поглощать молекулы веществ различной природы из жидких сред [2-3].

Установлено [4], что дешевым и экологически чистым сырьем для получения дешевых и доступных полифункциональных сорбентов может быть вторичное сырье пищевой промышленности - рисовая шелуха, высокотемпературная обработка которой позволяет получить высокопористый карбонизованный сорбент с наноструктурированной поверхностью (КРШ).

В предыдущих экспериментах *in vivo* выявлено [5], что использование КРШ в качестве сорбционного аппликационного материала предупреждает или снижает риск распространения гнойного процесса у лабораторных животных.

В наших экспериментах установлено, что применение сорбентов оказало заметный тормозящий эффект на развитие гнойной инфекции.

Выбор методов лечения обширных ран достаточно широк и зависит от фазы раневого процесса. В фазе регенерации главную роль играют эндотелий капилляров и фибробласты. Фибробласт – важнейший компонент грануляционной ткани, который, образуя коллагеновые волокна, обеспечивает заживление (рубцевание) раны.

Клеточная миграция в культурах описывается направленным движением клеток по поверхности матрикса. Мигрирующие клетки обладают направленной полярностью с ведущим краем по фронту клетки и ведомым краем позади. Изучение миграции клеток важно для понимания нормальных и патологических процессов клеточных культур. Хорошо известно, что движение клеток осуществляется благодаря перестройке их внутреннего каркаса – цитоскелета. Изменения цитоскелета позволяют клеткам вытягиваться, сокращаться и делиться.

В данной работе были изучены цитотокси-ческий эффект КРШ на культуру клеток фибробластов ТЗВЗ и процесс миграции этих клеток в присутствии КРШ.

Материалы и методы

В качестве объекта использовали фибробласты дермы мышей ТЗВЗ (DSMZ Германия).

Для культуры фибробластов в качестве питательных сред применялась смесь DMEM (supplemented with 10 % fetal bovine serum, 100 U/ml penicillin, and 100 µg/ml streptomycin) от немецкой фирмы DSMZ.

Культуры были получены в замороженном состоянии в криотрубках и разогревали в водяной бане при температуре 37°C. Затем, суспензию культуры клеток в криотрубках добавляли в питательную среду в чашки Т-25 и инкубировали в присутствии 5 % CO₂ при температуре 37°C. На следующий день после разморозки культуры клеток питательная среда заменялась на новую, во избежание токсического воздействия диметилсуль-фоксида (DMSO) на клетки.

При достижении конфлюэнтного слоя до 70% - 80%, проводилось разделение культур клеток. Старая питательная среда удалялась и клетки трижды промывались 5 мл раствора PBS, который затем удалялся. Для отделения клеток от матрикса

добавлялся 1 мл раствор трипсина (0,25% Trypsin/EDTA) и клетки инкубировались в присутствии 5% CO₂ при температуре 37°C в течение 3 мин. После этого, в чашки с отделенными клетками добавлялась свежеприготовленная питательная среда в объеме 1 мл. Далее клеточная суспензия тщательно перемешивалась и определенное количество клеток (1-2 x 10⁶ клеток/80 см²) переносилось в новые T-25 чашки (5 мл).

При достижении культуры конфлюэнтного состояния, для изучения миграции клеток с помощью культурального скальпеля (Nunclon™ Cell Scraper, NC-179693, 23 mm) делали царапину по длине матрикса, образуя «модельную рану» и добавляли КРШ в количестве 0,01 мг/мл. Рост и перемещение клеток наблюдалось под микроскопом, оценивалось движение клеток, объединенных в группы. Цифровые изображения были получены в t = 1, 2, 3 и 4 суток. Также измерялись изменения плотности клеточного слоя, вызванные делением клеток.

Результаты и их обсуждение

Оценка цитотоксического эффекта КРШ на фибробласты мышей в культуре проводилась подсчетом количества жизнеспособных клеток.

Этот показатель использовался нами как для выяснения эффективности КРШ при культивировании клеток *in vitro*, так и при функционировании клеток *in vivo*.

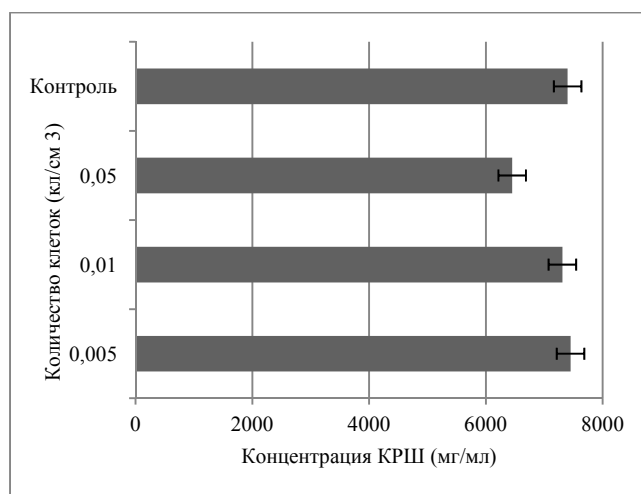


Рисунок 1 – Количество жизнеспособных Т3В3-фибробластов при добавлении КРШ в различных концентрациях (клетка/см²)

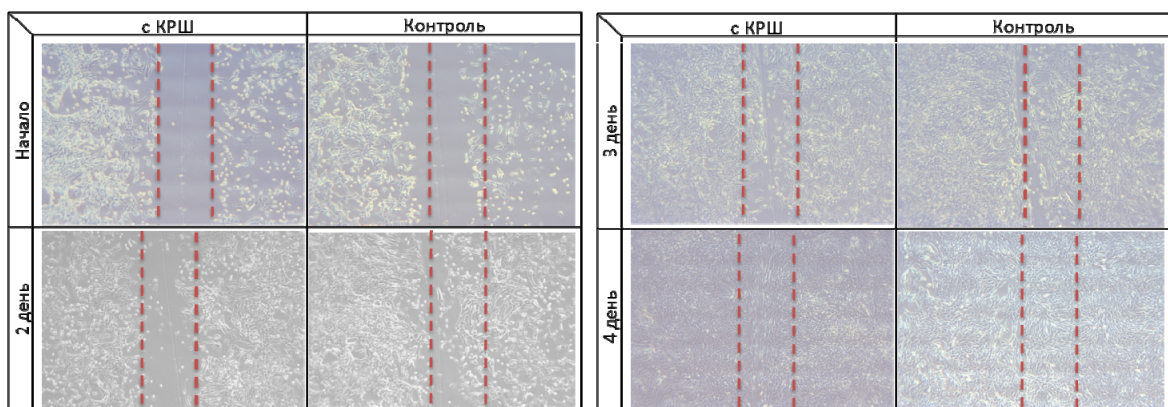


Рисунок 2 – Миграция фибробластов в культуре клеток NHDF

Как видно на рисунке 1, КРШ в концентрациях 0,005 и 0,01 мг/мл заметного влияния на количество жизнеспособных клеток не оказывает. Так, эти величины в опытах составляют 7450±1,1, 7310±1,7, а в контроле 7400±1,3 кл/см² соответственно. В концентрации КРШ 0,05 мг/мл наблюдается некоторое уменьшение количества фибробластов. Это может быть обусловлено тем,

что в таких концентрациях КРШ покрывают почти всю поверхность культуры и потому задерживают рост клеток.

В контроле клетки в течение всего срока наблюдения сохраняли способность равно-мерно пролиферировать и мигрировать, что играет важную роль в процессах регенерации. При культивировании с КРШ в концентрации 0,01 мг/мл заметных изменений не наблюдается (рисунок 2).

Таким образом, результаты модельных экспериментов с использованием фибробластов в культуре клеток ТЗВЗ показали, что КРШ не оказывают заметного негативного действия на эти клетки. Данные, полученные в модельных экспериментах, дают наглядное представление о том, каким образом процессы могут осуществляться в присутствии КРШ в опытах *in vivo*.

Литература

- 1 Решетников В.И. Разработка лекарственных форм препаратов с иммунобиологической и сорбционной активностью // Фармация. – 2002. - №5. – С. 40-44.
- 2 Курманбеков А.С. Биосорбенты на основе карбонизованных абрикосовых косточек и рисовой шелухи: автореф. ... канд. хим. наук. - Алматы, 2008. – 20 с.
- 3 Тимофеев В.С., Темкин О.Н., Гафаров И.Г. Патент РФ 2237013. Способ приготовления активированного угля из растительного сырья. – БИПМ. - № 27.27.09.2004.
- 4 Мансуров З.А., Жилибаева Н.К., Уалиева П.С., Мансурова Р.М. Получение и свойства сорбентов из растительного сырья // Химия в интересах устойчивого развития. - 2002. - Т. 10. - № 4. – С. 339-346.
- 5 Mansurov Z., Digel I., Biisenbaev M., Savitskaya I., Kistaubaeva A., Akimbekov N., Zhubanova A. Chapter 11: Heterogeneous Composites on the Basis of Microbial Cells and Nanostructured Carbonized Sorbents, Composite Materials / Book 2 Ed. Prof. Ning Hu: InTech Publ., 2012. ISBN 980-953-307-495-0. – P.271-295.

УДК 57.085.20

N.S. Akimbekov^{1*}, I. Digel², K.T. Tastambek¹, A.A. Zhubanova¹

¹Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

²Aachen University of Applied Sciences, Aachen, Germany

*e-mail: akimbeknur@gmail.com

Biocompatibility of carbonized rice husk with a rat heart cells line H9c2

The objective of this *in vitro* study is to explore the cytocompatibility properties of purified carbonized rice husk (CRH) with cardiomyocytes. Microscopic observation evidenced that CRH cause slight modification in cell shape and in cell count only after five days of culture. The effect of CRH bound to cells was tested by reseeded treated H9c2 cells. Cells from a CRH-treated sample showed an ability to proliferate at the small concentration of CRH. At the concentration of 0,1 mg/ml CRH-treated cell showed a limited proliferation, however overtime cells continued to grow and recovered in shape and number.

Keywords: sorbent, cell viability, cardiomyocyte, migration, proliferation.

Н.Ш. Акимбеков, И. Дигель, К.Т.Тастамбек, А.А. Жубанова

Биосовместимость карбонизованной рисовой шелухи (CRH) и культуры клеток кардиомицитов (H9c2)

Цель данной работы – изучение биосовместимости сорбента на основе карбонизованной рисовой шелухи (CRH) и культуры клеток кардиомицитов (H9c2). Микроскопическое исследование показало, что CRH в малых концентрациях заметного влияния на количество жизнеспособных клеток не оказывают, за срок наблюдения клетки равномерно пролиферировали и мигрировали. Таким образом, результаты модельных экспериментов с использованием кардиомицитов в культуре клеток H9c2 выявили, что CRH не оказывают заметного негативного действия на эти клетки.

Ключевые слова: сорбент, жизнеспособность клеток, кардиомицит, миграция, пролиферация.

Н.Ш. Акимбеков, И. Дигель, К.Т.Тастамбек, А.А. Жубанова

Карбонизделген күріш қауызы (CRH) негізіндегі сорбент пен кардиомицит клетка дақылдың (H9c2) биосыйымдылығы

Жұмыстың басты мақсаты – карбонизделген күріш қауызы (CRH) негізіндегі сорбент пен кардиомицит клетка дақылдың (H9c2) биосыйымдылығын зерттеу. Микроскопиялық зерттеулер бойынша, төменгі концентрацияда CRH тіршілікке қабілетті клеткалар санына айтарлықтай өзгерістер көрсетпейді, бақылау барысында клеткалар біркелкі пролиферацияланды және миграцияланды. Олай болса, модельді зерттеудің