Қазақстан Республикасы Тәуелсіздігінің 30 жылдығына арналған «Сейфуллин оқулары – 17: «Қазіргі аграрлық ғылым: цифрлық трансформация» атты халықаралық ғылыми – тәжірибелік конференцияға материалдар = Материалы международной научно – теоретической конференции «Сейфуллинские чтения – 17: «Современная аграрная наука: цифровая трансформация», посвященной 30 – летию Независимости Республики Казахстан.- 2021.- Т.1, Ч.1 - С.38-41

ЭРИТРОЦИТТЕРДЕ МИКРОЯДРОЛАРДЫҢ ТҮЗІЛУІНЕ ФЕНИЛГИДРАЗИН ӘСЕРІ

Жанабергенов[1] А.О., Бейсенова[2] Р.Р., Хантурин[2] М.Р.
[2]Евразийский национальный университет им. Л. Н. Гумилева , г. Нур-Султан

Жұмыс барысында фенилгидразинмен жедел және созылмалы улану кезінде қан эритроциттерінде микроядролардың мөлшері бақыланды. Қан құрамындағы эритроциттерде микроядролық үзінділердің кездесу жиілігі, бақылаумен салыстырғандажоғары болатындығы анықталды. Салсоколлин препаратын енгізгенде, фенилгидразинмен уландырылған жануарлар тобына қарағанда, микроядролар саны төмендеді.

*Кілт сөздер.*фенилгидразин, салсоколлин, цитологиялық көрсеткіштер, микроядролар, эритроциттер.

Кіріспе. Тірі ағзаларға қоршаған орта факторларын немесе химиялық заттардың мутагендік әсерін анықтау үшін микроядорлық әдіс қолданылады. Соматикалық мутацияларды анықтауда кең пайдаланылатын әдістердің бірі, микроядролық әдіс болып табылады. Басқа хромосомаларға қарағанда, митотикалық аппаратпен байланыспай қалған және митозға қатыспаған хромосомалармен немесе хромосома үзінділерімен микроядролар түзіледі. Бұл осындай хромосомалар және олардың үзінділерінің мезгілсіз конденсациясымен бірге жүреді. Метафазада микроядролық хромосомалар профаздық түр бойынша конденсацияланған, сондықтан, оларды микроскоп арқылы оңай ажыратуға болады. Кей жағдайда ол үшін арнайы бояу әдістері қажет те емес. Микроядролардың мөлшерін әртүрлі жүйелерде зерттейді: лабораториялық жануарлардың жілік майы жасушаларында, адамның лимфоциттерінде және эритроциттерінде, эпителий жасушаларында.

Микроядролық тест үшін қан немесе жілік майының эритроциттері жиі қолданылады, себебі, бұл ең қолжетімді тін болып табылады, олардың құрамында, қазіргі таңда микроядро деп аталатын Жолли түйіршіктерін гематология саласында алғаш рет бақылаған.

Дәстүрлі түрде, микроядролық талдау үшін негізінен қанның немесе жілік майының эритроциттері қолданылады, себебі бұл, бәрінен бұрын, ең қол жетімді тіндер болып табылады, және де тарихтан баршаға мәлім, қазіргі таңда микроядро деп аталатын Жолли түйіршіктері гематология саласында алғаш рет бақыланған.

Микроядролық талдау нәтижелеріне эритропоэза белсенділігі біршама әсерін тигізетіндігі туралы мағлұматтар жеткілікті өте көп.

Микроядролық талдау бойынша басым көпшілік зерттеулер тышқандарға жүргізілген, оның өз себептері бар: объектінің қол жетімділігі және жан-жақты зерттелгендігі, жануардың құйрық тамыры қанынан гематологиялық препараттарды алу жеңілділігі, және де, әртүрлі мәліметтер бойынша 0,1-ден 0,6%-ға дейін жасуша нормасында болатын, микроядролармен эритроциттердің біршама үлкен деңгейлері. Салыстыру үшін, адамдағы микроядролармен эритроциттердің деңгейі бір ретке төмен, және бұл талдауды едәуір қиындатады, себебі, айтарлықтай көп жасушаны қарастыру керек болады. Дегенмен, микроядролық талдау үшін тышқандармен бірге алуан түрлі жануарлар қолданылды: маймылдар, лабораториялық ақ егеуқұйрықтар, кенгурулық егеуқұйрықтар, иттер, мангусттар, балықтар және теңіз кірпілері [1,2].

Л. Я. Перепечаев жүргізген жылықанды омыртқалылар арасында микроядролармен эритроциттердің деңгейі талдауы келесі ретті құрауға мүмкіндік береді, осыған байланысты, микроядролармен эритроциттердің ең үлкен деңгейі қоңыр тістілерде бақыланды, одан төменірек тышқан, егеуқұйрық, сары атжалман, теңіз шошқасы, қоян, мысық, ит, макака-резус маймылы, ірі қара мал және адам. Егер түрдің орташа өмір сүру ұзақтығымен салыстырсақ, келесі тенденцияны оңай байқауға болады: өмір сүру уақыты ұзақ болған сайын, соғұрлым микроядролармен эритроциттердің деңгейі төмен, яғни ағзаның генетикалық гомеостазын демейтін механизмдер ұзақ өмір сүретін түрлерде белсендірек жұмыс істейді. ДНК-репарационды жасуша белсенділігі әртүрлі жануарларда бірдей еместігі туралы мәліметтер айғақтайды. Әсіресе, ол жертесерлерде төмен, тышқанда көбірек, егеуқұйрықта, атжалман, сиырда одан да көп және піл мен адамда ерекше жақсы дамыған. Сонымен қатар, егер әртүрлі жануарлардан эмбрион фибробласттарын алсақ, онда олардың мутагендерге промутагендердің биотрансформациясына қабілеттілігі айтарлықтай өзгеше болады және де үлкен шамадан кішіге өзіндік бір рет пайда болады: егеуқұйрық, теңіз шошқасы, қоян, жылқы, піл, қытай аламаны, адам.

Sioy et al. (1981) мутагендермен әрекет кезінде аталықтар мен аналықтардың микроядролармен жасуша деңгейлеріндегі айырмашылық гормондармен байланысты екенлігін бақылады. Аналықтар мен піштірілген аталықтар арасындағы мутагендік сезімталдылықта айырмашылықтар табылмады. Тестостеронды піштірілген аталықтарға енгізу, олардың бензолға деген мутагендік сезімталдылығын жоғарылатты. Жетілмеген үшапталық тышқандарда аталықтар мен аналықтардың микроядролар деңгейлерінде айтарлықтай айырмашылықтар анықталмады. Бұл мәліметтерден, әртүрлі ғалымдармен алынған микроядролық талдаулар нәтижелерін салыстырып қарау көбіне мүмкін емес, себебі тәжірибелерде көп жағдайда әртүрлі генотипті жануарлар, жыныстары және жастары қолданылған. Алайда, аталықтар мен аналықтардың микроядролармен жасуша деңгейлерінде анық түрде айырмашылықтар байқалмаған деректерді

атап өту қажет, сонда да, едәуір көп мәліметтерден қорыта отырып, жыныстық және жыныстық емес гормондар мутациялық процесс салдарына әсер етуі мүмкін, демек, мутагендерді тесттеу бойынша тәжірибелерде бірдей жыныс пен түрлерді таңдап алу қажет [3,4,5].

Зерттеу материалдары және әдістері. Салмағы 250-300 грамм болатын 50 ақ тексіз егеуқұйрықтарға тәжірибелер жүргізілді. Тәжірибелердің 5 топтамасы жасалынды, бірінші топтама бақылау ретінде қолданылды, екінші және үшінші топтамада фенилгидразиннің жедел дозаларының әсерлері анықталды, және «Салсоколлин» препаратымен қалпына келтіру жағдайында тексерілді, төртінші және бесінші топтама тәжірибелерінде фенилгидразиннің созылмалы дозалары, сонымен бірге, «Салсоколлин» препаратымен қалпына келтіру кезіндегі әсерлері зерттелді.

Тәжірибелік жануарлар 5 топқа бөлінді. Бірінші топ (n=10) 1 мл көлемінде суды қабылдады. Екінші топ (n=10) жануарларға қарын арқылы фенилгидразинді 188 мг/кг мөлшерінде бір рет жедел интоксикацияланған. Үшінші топқа (n=10) 18,8 мг/кг мөлшерінде 3 ай бойы фенилгидразинді созылмалы интоксикация жағдайында енгіздірілген. Төртінші топқа (n=10) және бесінші топқа қарын арқылы 50 мг/кг мөлшерінде «Салсоколлин» препараты мен 188 мг/кг мөлшерінде бір рет жедел және 18,8 мг/кг мөлшерінде 3 ай бойы созылмалы интоксикация жағдайында фенилгидразин енгіздірілген жануарлар тобы құрады.

Микроядролық тестті Май-Грюнвельд әдісімен Паппенгейм модификациясында жүргіздік. Осы әдістемені қолданған кезде микроядролар қызыл-күлгін, нормохромды эритроциттер – қызғылт, ал полихроматофилді эритроциттер – көк түске ие болады. Әдістің негізі мынандай:

- жаңа, ауада кептірілген жұғындыларды Май-Грюнвельд ерітіндісі (20-30 тамшы) қабатымен бекіту үшін 3 минутқа жауып қояды;
- сондай мөлшерде дистилденген суды қосады, 1 мин;
- сұйылтылған ерітіндіні шаймай, құйып тастап, сұйылтылған Гимзе ерітіндісін (10 тамшы 10 мл дистилденген суға) қосады және 15-20 мин бояйды, әрі қарай талданатын препаратты шайып, кептіреді. Осы бояудан кейін микроядролар анық көрінеді және оңай дифференцияланады.

Эритроциттерде микроядролардың деңгейін промиллемен есептейді. Егеуқұйрықтарда әдетте 2-3 мың, ал адамдарда – 20-30 мың эритроциттер қарастырылады [6].

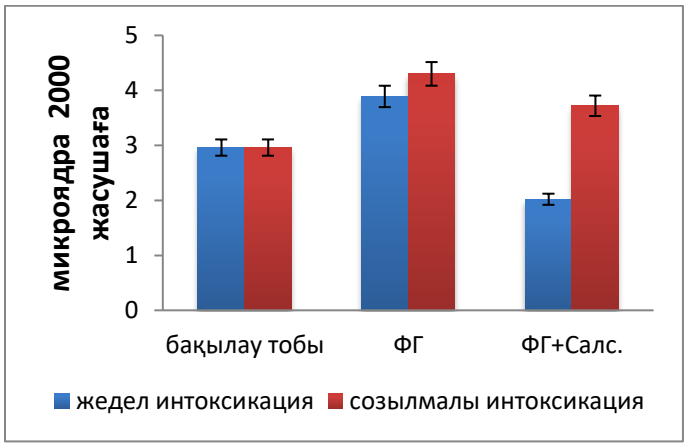
Зерттеу нәтижелері және оларды талқылау. Қоршаған ортаны ластағыштар әрекетін бағалаудың маңызды цитогенетикалық параметрлері жасушаларда микроядролардың жиілігін зерттеу болып табылады. Жасушадан орталықсыз үзінділер немесе қалып қойған хромосомалардың бөліну процестерінің бұзылуы кезінде болатын қолайсыз жағдайларда микроядролар түзіледі.

Микроядролар құрылымдықпен қатар, сандық хромосомды аберрация нәтижесі болуы мүмкін. Осы, антропогендік ластағыштар әрекетінен туындайтын, бұзылушылықтардың индикаторы ретінде қолданылады.

Микроядролық тест заттардың мутагендігін анықтау үшін бейнеті аз

және арзан әдіс болып табылады, әдетте, ол үшін қанның не жілік майының эритроциттері жиі пайдаланылады, себебі бұл – ең қолжетімді тін, сонымен қатар, сауалдың тарихынан білетініміздей, қазіргі уақытта микроядро деп аталатын гематологияда алғаш рет Жолли түйіршіктері ретінде анықталды.

Фенилгидразинмен жедел интоксикация кезінде екінші топтың шеткі қандарының эритроциттерінде микроядролардың 44%-ға дейінгі жоғары мөлшері бақыланды. «Салсоколлин» препаратын енгізген уақытта микроядролардың саны бақылау деректеріне жақындай түсті (сурет 1).



Сурет 1 – Фенилгидразинмен жедел және созылмалы интоксикация кезінде эритроциттер құрамындағы микроядролар саны

Егеуқұйрықтарды цитогенетикалық зерттеу нәтижесінде, фенилгидразинмен созылмалы интоксикация кезіндегі екінші топ жануарларының шеткі қан құрамындағы эритроциттерде микроядролық үзінділердің кездесу жиілігі, бақылаумен салыстырғанда, 30%-ға жоғары болатындығы анықталды (сурет 1). «Салсоколлин» препаратын енгізгенде, фенилгидразинмен уландырылған жануарлар тобына қарағанда, микроядролар саны төмендеді.

Қорытынды. Фенилгидразиннің ағзаға әсерін зерттеу қазіргі уақытта өзекті мәселелердің бірі болып келеді. Зерттеу нәтижесінде фенилгидразинның жедел және созылмалы әсері егеуқұйрықтардың микроядролық түзілу процессіне кері ықпал жасайды. Ал салсоколлин препараты жағымды нәтиже береді. Осыдан, фенилгидразин мутагендік қасиетке ие екендігі шығады. Ал салсоколлин препараты антимутагендік әсерлер көрсетеді.

Әдебиеттер тізімі

1. Зверева Д.Е., Использование микроядерного теста при оценке генотоксических свойств лекарственных веществ. Вестник совета молодых учёных и специалистов Челябинской области №2 (25) Т. 1 2019. 10-11 с.

2. Ильинских Н.Н., Новицкий В.В., Ильинских И.Н. Микроядерный анализ и цитогенетическая непостоянность. -Томск: Изд-во Томского института, 1992. -272 с.

3. Julia Brendt, Carina Lackmann, Sebastian Heger, Mirna Velki, Sarah E.Crawford, Hongxia Xiao, Using a high-throughput method in the micronucleus

assay to compare animal-free with rat-derived S9. Science of The Total Environment. Volume 751, 10 January 2021, 142269

4. Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Оникиенко Ф.А. Проблемы нормы в токсикологии: учебник по медицине. – Москва: "Медицина", 1991. - С. 191-208.

5. Микроядра как маркеры хромосомных изменений клеток / И. Б. Бродский и др. Журнал фундаментальной медицины и биологии. –Ростов-на-Дону : Ростовский гос. медицинский ун-т. – 2012. – № 1. 4-9 с.

6. Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ // Всемирная организация здравоохранения. – Женева, 1989. – 112-121 с.