

ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ НА ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК ДВУХ ВИДОВ ЛАСТОНОГИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Капитошина Е.В., Борода А.В., Кипрюшина Ю.О., Майорова М.А., Шульгина М.А., Шевченко О.Г.

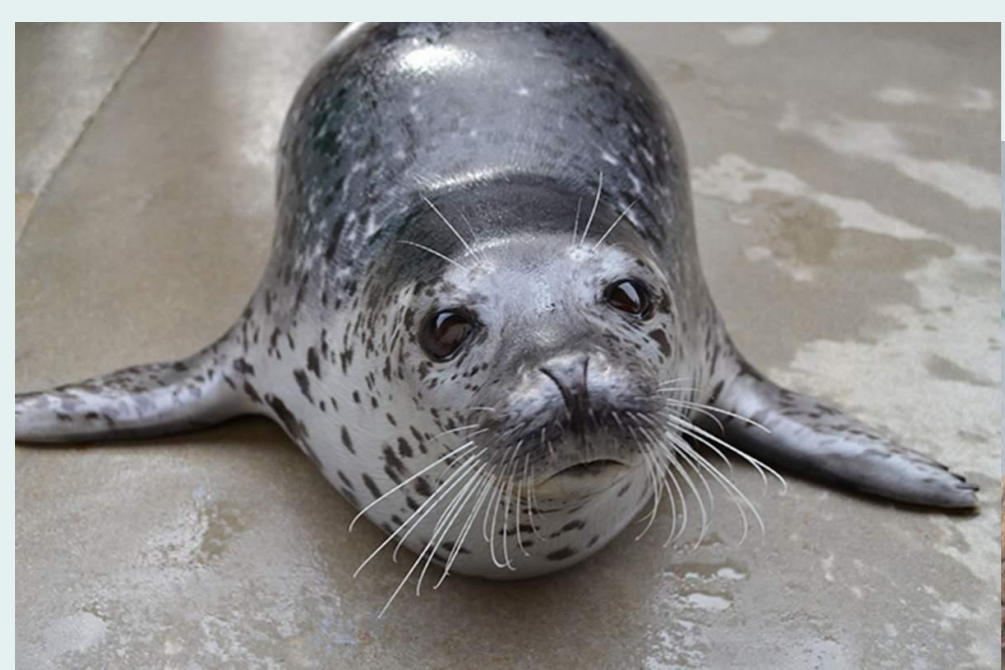
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук

- Цветения вредоносных водорослей усиливаются из-за глобального потепления и антропогенного влияния.
- Токсичные вещества в водных экосистемах передаются по пищевым цепям высшим хищникам (морским млекопитающим и человеку).
- Для проведения экотоксикологических исследований используют метод культуры клеток.

Цель исследования - изучение цитотоксичности одноклеточных морских водорослей родов *Alexandrium* и *Pseudo-nitzschia* на первичных культурах клеток ластоногих млекопитающих.

Дальневосточная нерпа (*Phoca largha*)

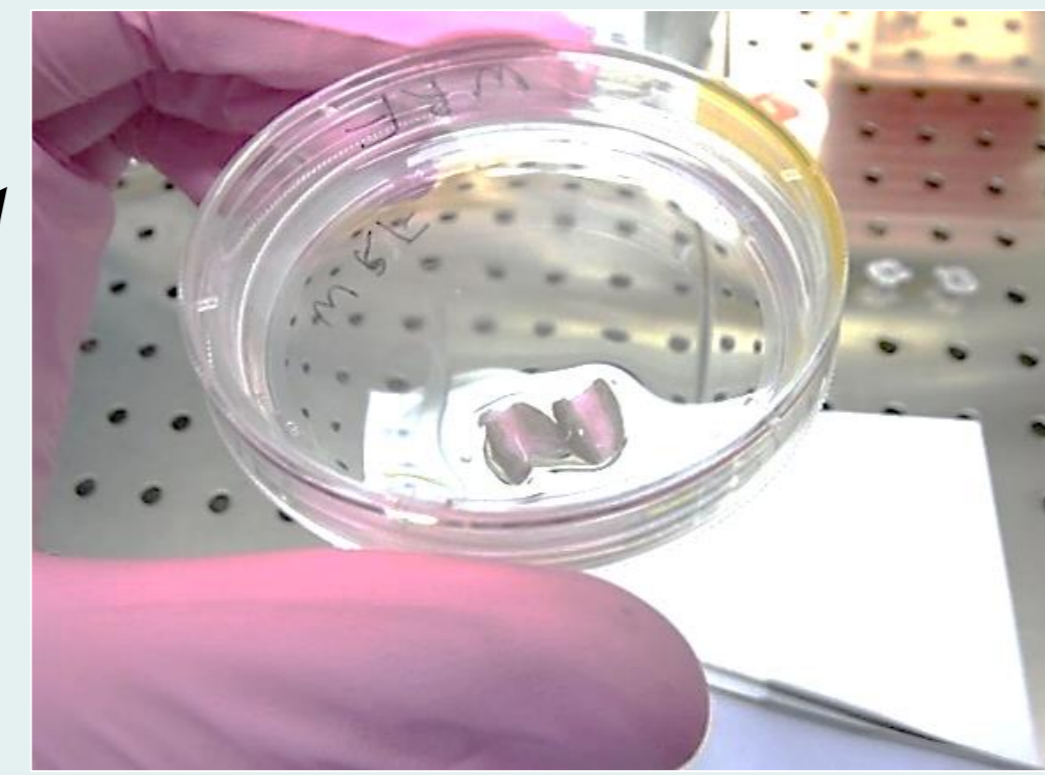
Морж (*Odobenus rosmarus*)



Источник: <https://animalreader.ru>

Материалы и методы. Схема эксперимента

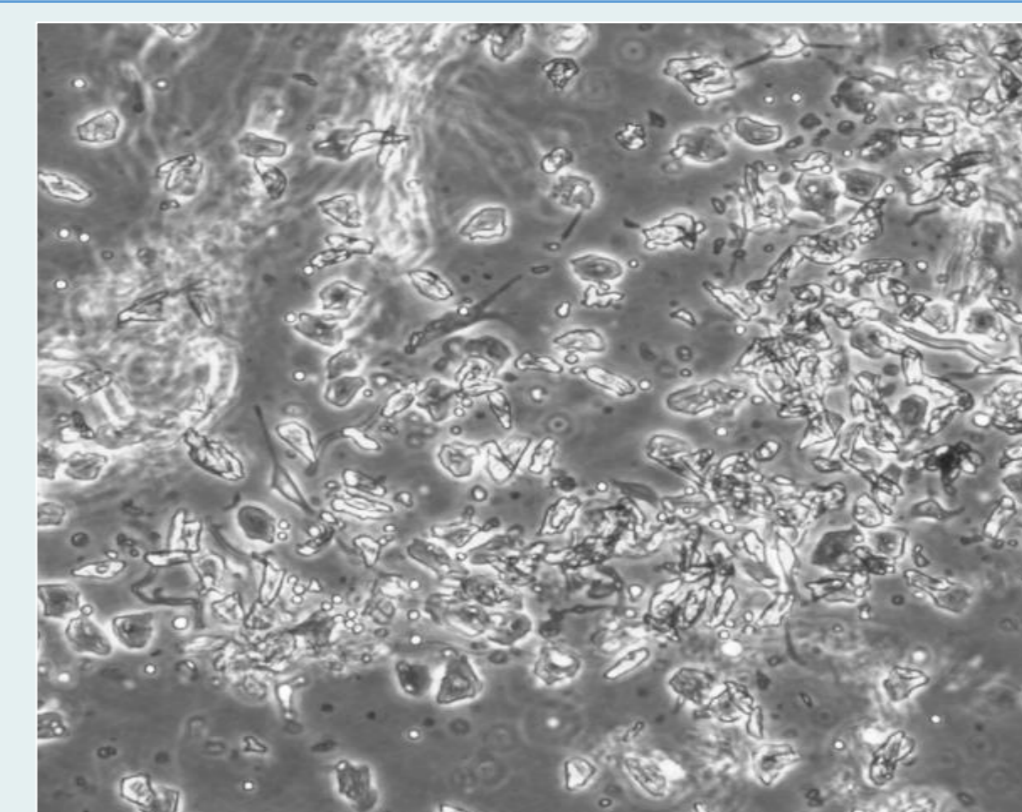
1. Образцы кожи диаметром 3 мм



2. Измельчение биоптата до фрагментов 6 – 8 мм³



3. Ферментативная дезагрегация ткани с использованием коллагеназы В

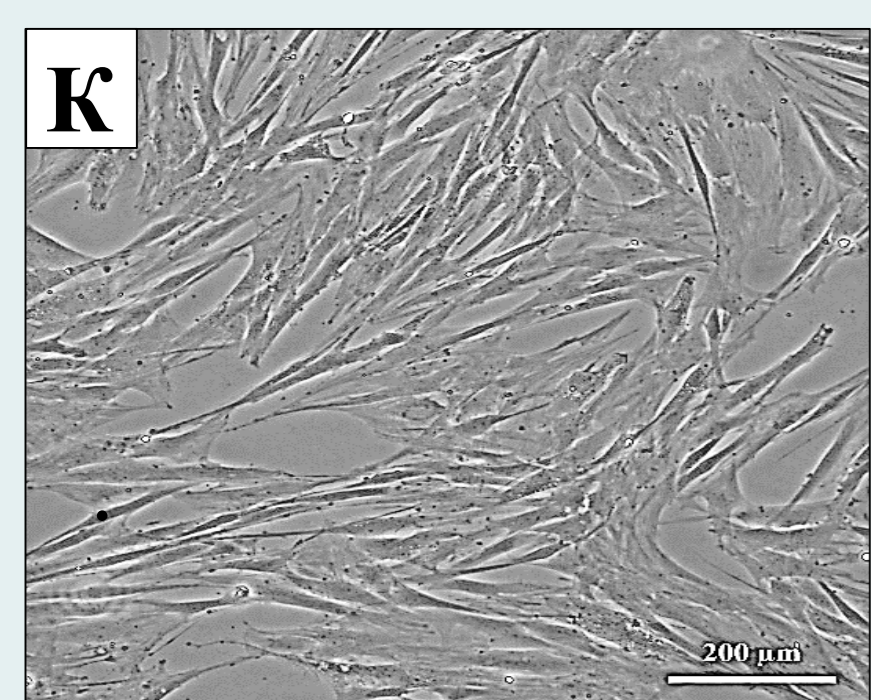
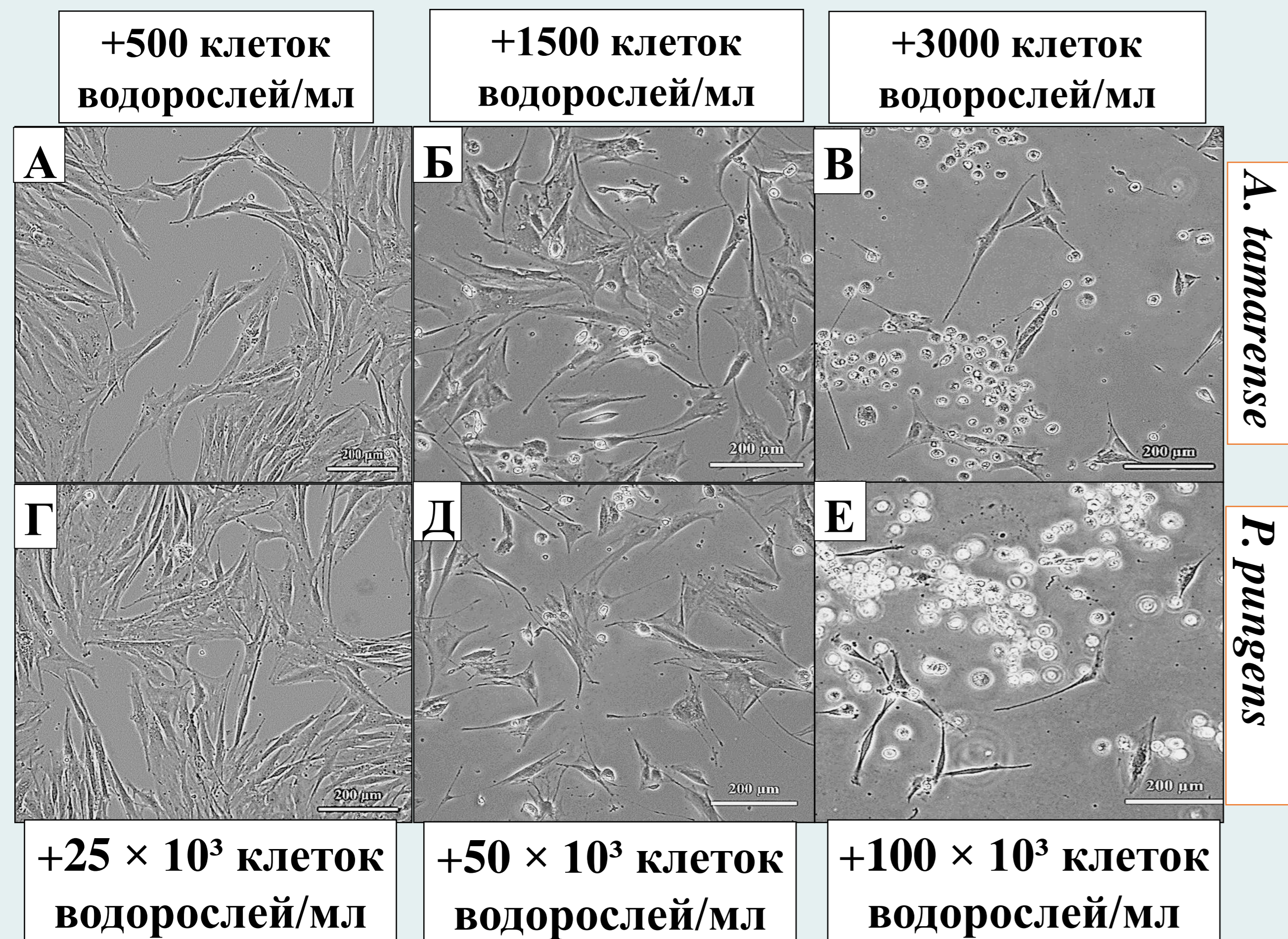


Закладка клеток в криобанк



Культивирование фибробластов кожи морских млекопитающих в присутствии различных концентрации экстрактов морских водорослей *Alexandrium tamarense* (500, 1500, 3000 клеток водорослей/мл среды для фибробластов) и *Pseudo-nitzschia pungens* (25-100 × 10³ клеток водорослей/мл среды для фибробластов) в течение 6 суток с изучением морфологии, функциональной активности, уровня апоптоза и жизнеспособности фибробластов.

Результаты



А-В – экстракт *A. tamarense*;
Г-Е- экстракт *P. pungens*;
К – контрольная культура фибробластов.
Масштабная линейка 200 мкм.

Рисунок 1 - Внешний вид культуры фибробластов кожи дальневосточной нерпы *P. largha* при культивировании в присутствии разных концентраций экстрактов водорослей

Рисунок 3 - Динамика роста и изменения состояния культуры фибробластов кожи дальневосточной нерпы *Phoca largha* в течение 6 суток при культивировании с экстрактами водорослей: А – *A. tamarense* в концентрации 3000 клеток водорослей/мл; Б – *P. pungens* в концентрации 100 × 10³ клеток водорослей/мл.

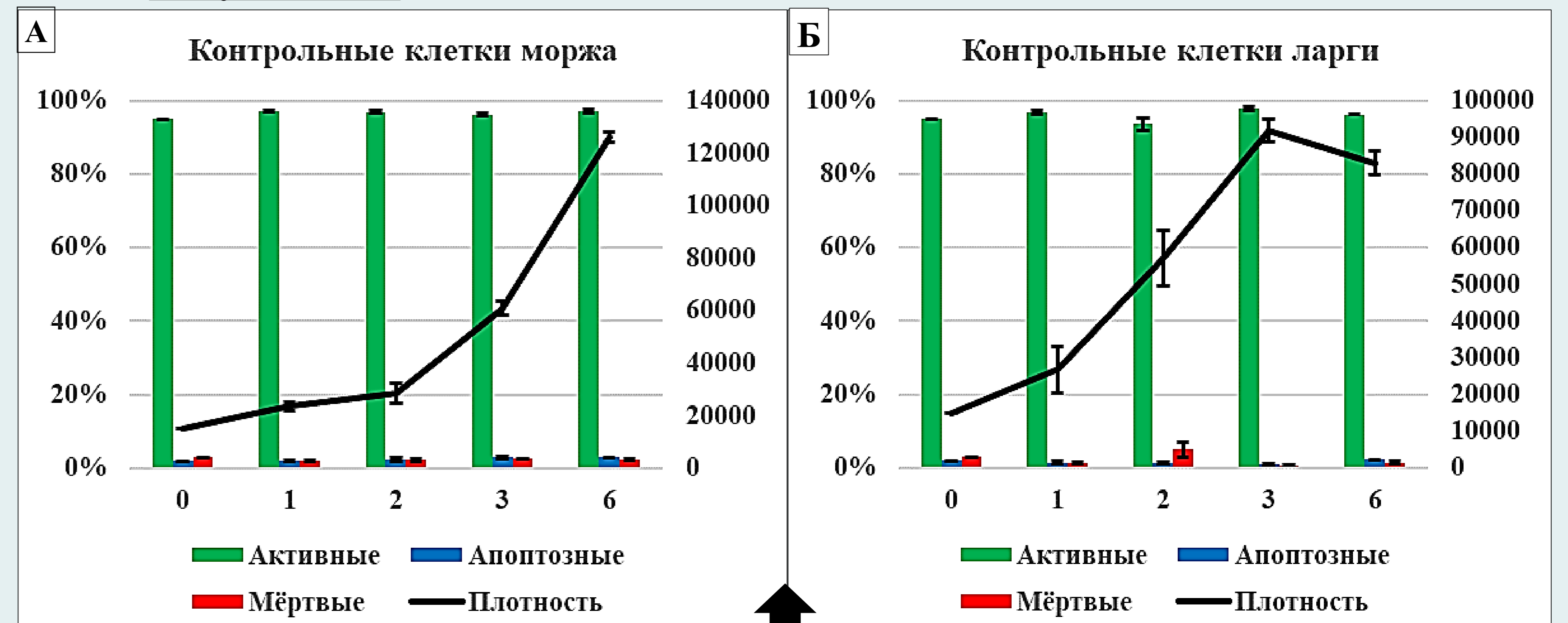


Рисунок 2 - Динамика роста и изменения состояния культуры фибробластов кожи при культивировании в течение 6 суток без экстрактов водорослей: А – дальневосточная нерпа *P. largha*; Б – морж *O. rosmarus*

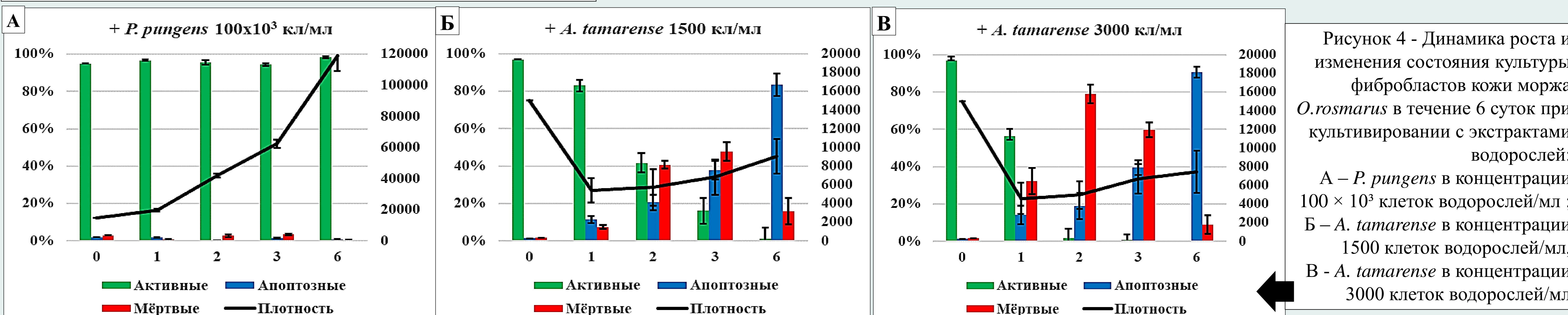
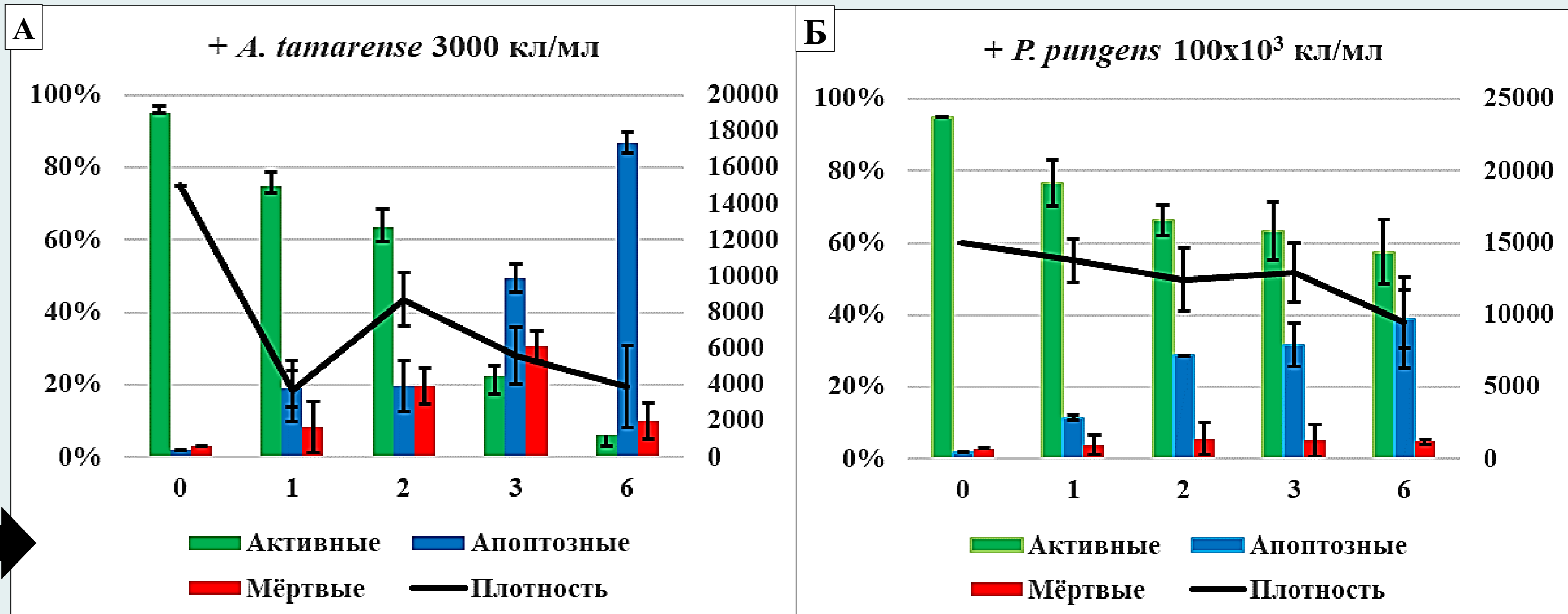


Рисунок 4 - Динамика роста и изменения состояния культуры фибробластов кожи моржа *O. rosmarus* в течение 6 суток при культивировании с экстрактами водорослей: А – *P. pungens* в концентрации 100 × 10³ клеток водорослей/мл; Б – *A. tamarense* в концентрации 1500 клеток водорослей/мл, В - *A. tamarense* в концентрации 3000 клеток водорослей/мл

1. Исследовано влияние экстрактов морских водорослей на морфологию и динамику изменения плотности, доли активных, апоптозных и мёртвых фибробластов кожи морских млекопитающих.
2. Экстракт водоросли *A. tamarense* в концентрации 500 клеток/мл может приводить к замедлению пролиферации клеток кожи морских млекопитающих. Повышение концентрации этой водоросли приводит к необратимым последствиям в клетках уже через двое суток культивирования.
3. Экстракт из водоросли *P. pungens* обладает меньшей цитотоксичностью и его воздействие проявляется при культивировании клеток морских млекопитающих более 3 суток. На клетки моржа этот экстракт не оказывал никакого эффекта даже в концентрации 100 тыс.клеток/мл.