

ISSN 2518-1629 (Online),
ISSN 2224-5308 (Print)

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ҰЛТТЫҚ ҒЫЛЫМ АКАДЕМИЯСЫНЫҢ
Өсімдіктердің биологиясы және биотехнологиясы институтының

Х А Б А Р Л А Р Ы

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
Института биологии и биотехнологии растений

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN
of the Institute of Plant Biology and Biotechnology

**БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ МЕДИЦИНА
СЕРИЯСЫ**



СЕРИЯ

БИОЛОГИЧЕСКАЯ И МЕДИЦИНСКАЯ



SERIES

OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

1 (319)

**ҚАҢТАР – АҚПАН 2017 ж.
ЯНВАРЬ – ФЕВРАЛЬ 2017 г.
JANUARY – FEBRUARY 2017**

**1963 ЖЫЛДЫҢ ҚАҢТАР АЙЫНАН ШЫҒА БАСТАҒАН
ИЗДАЕТСЯ С ЯНВАРЯ 1963 ГОДА
PUBLISHED SINCE JANUARY 1963**

**ЖЫЛЫНА 6 РЕТ ШЫҒАДЫ
ВЫХОДИТ 6 РАЗ В ГОД
PUBLISHED 6 TIMES A YEAR**

**АЛМАТЫ, ҚР ҰҒА
АЛМАТЫ, НАН РК
ALMATY, NAS RK**

Б а с р е д а к т о р

ҚР ҰҒА академигі, м. ғ. д., проф.

Ж. А. Арзықұлов

Абжанов Архат проф. (Бостон, АҚШ),
Абелев С.К. проф. (Мәскеу, Ресей),
Айтқожина Н.А. проф., академик (Қазақстан)
Акшулаков С.К. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Алшынбаев М.К. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Березин В.Э., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Бисенбаев А.К. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Бишимбаева Н.К. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Ботабекова Т.К. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Ellenbogen Adrian prof. (Tel-Aviv, Israel),
Жамбакин К.Ж. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан), бас ред. орынбасары
Ishchenko Alexander, prof. (Villejuif, France)
Қайдарова Д.Р. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Күзденбаева Р.С. проф., академик (Қазақстан)
Лось Д.А. prof. (Мәскеу, Ресей)
Lunefeld Bruno prof. (Израиль)
Миербеков Е.М. проф. (Қазақстан)
Муминов Т.А. проф., академик (Қазақстан)
Purton Saul prof. (London, UK)
Рахыпбеков Т.К. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Сапарбаев Мұрат проф. (Париж, Франция)
Сарбассов Дос проф. (Хьюстон, АҚШ)

«ҚР ҰҒА Хабарлары. Биология және медициналық сериясы».

ISSN 2518-1629 (Online),

ISSN 2224-5308 (Print)

Меншіктенуші: «Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы» РҚБ (Алматы қ.)

Қазақстан республикасының Мәдениет пен ақпарат министрлігінің Ақпарат және мұрағат комитетінде
01.06.2006 ж. берілген №5546-Ж мерзімдік басылым тіркеуіне қойылу туралы куәлік

Мерзімділігі: жылына 6 рет.

Тиражы: 300 дана.

Редакцияның мекенжайы: 050010, Алматы қ., Шевченко көш., 28, 219 бөл., 220, тел.: 272-13-19, 272-13-18,
www.nauka-nanrk.kz / biological-medical.kz

© Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы, 2017

Типографияның мекенжайы: «Аруна» ЖК, Алматы қ., Муратбаева көш., 75.

Г л а в н ы й р е д а к т о р
академик НАН РК, д.м.н., проф.

Ж. А. Арзыкулов

Абжанов Архат проф. (Бостон, США),
Абелев С.К. проф. (Москва, Россия),
Айтхожина Н.А. проф., академик (Казахстан)
Акшулаков С.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Алчинбаев М.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Березин В.Э., проф., чл.-корр. (Казахстан)
Бисенбаев А.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Бишимбаева Н.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Ботабекова Т.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Ellenbogen Adrian prof. (Tel-Aviv, Israel),
Жамбакин К.Ж. проф., чл.-корр. (Казахстан), зам. гл. ред.
Ishchenko Alexander prof. (Villejuif, France)
Кайдарова Д.Р. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Кузденбаева Р.С. проф., академик (Казахстан)
Лось Д.А. prof. (Москва, Россия)
Lunenfeld Bruno prof. (Израиль)
Миербеков Е.М. проф. (Казахстан)
Муминов Т.А. проф., академик (Казахстан)
Purton Saul prof. (London, UK)
Рахыпбеков Т.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Сапарбаев Мурат проф. (Париж, Франция)
Сарбассов Дос проф. (Хьюстон, США)

«Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская».

ISSN 2518-1629 (Online),

ISSN 2224-5308 (Print)

Собственник: РОО «Национальная академия наук Республики Казахстан» (г. Алматы)

Свидетельство о постановке на учет периодического печатного издания в Комитете информации и архивов
Министерства культуры и информации Республики Казахстан №5546-Ж, выданное 01.06.2006 г.

Периодичность: 6 раз в год

Тираж: 300 экземпляров

Адрес редакции: 050010, г. Алматы, ул. Шевченко, 28, ком. 219, 220, тел. 272-13-19, 272-13-18,
www.nauka-nanrk.kz/biological-medical.kz

© Национальная академия наук Республики Казахстан, 2017

Адрес типографии: ИП «Аруна», г. Алматы, ул. Муратбаева, 75

Editor in chief

academician of NAS RK, doctor of medical science, professor

Zh. A. Arzykulov

Abzhanov Arkhat prof. (Boston, USA),
Abelev S.K. prof. (Moscow, Russia),
Aitkhozhina N.A. prof., academician (Kazakhstan)
Akshulakov S.K. prof., corr. member. (Kazakhstan)
Alchinbayev M.K. prof., corr. member. (Kazakhstan)
Berezin V.Ye., prof., corr. member. (Kazakhstan)
Bisenbayev A.K. prof., corr. member. (Kazakhstan)
Bishimbayeva N.K. prof., corr. member. (Kazakhstan)
Botabekova T.K. prof., corr. member. (Kazakhstan)
Ellenbogen Adrian prof. (Tel-Aviv, Israel),
Zhambakin K.Zh. prof., corr. member. (Kazakhstan), deputy editor in chief
Ishchenko Alexander, prof. (Villejuif, France)
Kaydarova D.R. prof., corr. member. (Kazakhstan)
Kuzdenbayeva R.S. prof., academician (Kazakhstan)
Los D.A. prof. (Moscow, Russia)
Lunefeld Bruno prof. (Israel)
Miyerbekov Ye.M. prof. (Kazakhstan)
Muminov T.A. prof., academician (Kazakhstan)
Purton Saul prof. (London, UK)
Rakhypbekov T.K. prof., corr. member. (Kazakhstan)
Saparbayev Murat prof. (Paris, France)
Sarbassov Dos, prof. (Houston, USA)

News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of biology and medicine.

ISSN 2518-1629 (Online),

ISSN 2224-5308 (Print)

Owner: RPA "National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan" (Almaty)

The certificate of registration of a periodic printed publication in the Committee of information and archives of the Ministry of culture and information of the Republic of Kazakhstan N 5546-Ж, issued 01.06.2006

Periodicity: 6 times a year

Circulation: 300 copies

Editorial address: 28, Shevchenko str., of. 219, 220, Almaty, 050010, tel. 272-13-19, 272-13-18,

<http://nauka-nanrk.kz/biological-medical.kz>

© National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, 2017

Address of printing house: ST "Aruna", 75, Muratbayev str, Almaty

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 5 – 12

Yu. S. Krylova¹, V. O. Polyakova¹, A. M. Gzgyan¹, V. N. Lokshin², I. M. Kvetnoy¹¹FSBSI “The Research institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D. O. Ott”,
Saint Petersburg, Russia,²«PERSONA» the International Centre of Clinical Reproduction, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: vyacheslavl19@rambler.ru

**ENDOMETRIOSIS GENITALIS EXTERNA,
IMMUNOHISTOCHEMICAL DIAGNOSIS
OF ENDOMETRIUM IMPLANTATION RECEPTIVITY**

Abstract. The lack of implantation in cycles of in vitro fertilization (IVF) is one of the main problems of modern reproductive medicine. Implantation is a multifactorial process, it is difficult to imagine the existence of a single criterion, with which it is possible to determine the receptivity of the endometrium. However, the possibility of accurate diagnosis of the state of endometrium receptivity cannot be overestimated in terms of clinical relevance. Endometrial biopsy today remains the most common method to diagnose pathological conditions that lead to a significant reduction or loss of the ability of endometrial implantation.

Important one is the ability to predict the onset of implantation, since the detection of violations make it possible to avoid unnecessary emotional stress, not to carry out the support of the luteal phase and the hopeless refrain from embryo transfer, preserving them for the delayed transfer. We evaluated the possibility of using the immunohistochemical study with the assessment of key biological molecules involved in the formation of implantation window (LIF, ER, PR, Integrin, TGF- β 1, VEGF), for prognosis and diagnosis of disorders of the endometrium implantation receptivity in patients with external genital endometriosis. As a result of studies there have been verified informative immunohistochemical markers that have been used to create the IVF treatment outcome prediction algorithm. With the help of the developed model it is possible to predict the group with poor outcome of treatment that can reasonably plan the tactics of treatment measures and enhances the effectiveness of IVF treatment.

Key words: IVF, endometrium implantation receptivity, receptivity, "implantation window", LIF, VEGF, Integrin α V β 3, TGF β 1, ER, PR.

Infertile couple is an important medical, social and economic problem. According to WHO, its frequency is 10-15%, and has no tendency to decrease. Lack of efficiency of restoration methods of natural human fertility has stimulated the development of new assisted reproductive technologies such as in vitro fertilization (IVF), the effectiveness of which varies from 28.5% to 32.5% [1]. Optimizing the efficiency of IVF is directly related to the decision of the key issues of reproductive medicine - the identification of the receptivity period (implantation receptivity of the endometrium) to determine the operational readiness of the endometrium to the blastocyst implantation [2]. Endometrium implantation receptivity is a complex of structural and functional characteristics of the endometrium with clear time constants that define the ability of the endometrium to provide implantation of the embryo. Implementation of endometrium receptivity is performed through genetic and molecular reactions that lead to the expression of large amounts of biologically active molecules such as cytokines, growth factors, adhesion molecules, etc. Traditionally assessment of the endometrium receptivity is performed by biopsy, allowing to identify the lack of the luteal phase [3]. However, this method does not allow to get complete information on the receptivity of the endometrium. So, the researchers admit that at the histological visualization it is not possible to identify functional subliminal disturbances of implantation susceptibility. Determination by immunohistochemistry of signaling molecules ensuring the endometrium implantation ability enables for the evaluation of operational readiness of the endometrium for implantation.

Disorder of the functional activity of the endometrium is also probable in the normal morphological state that manifests with a change in the balance of regulatory molecules, providing endometrium receptivity. Based on the detection of violations in receptivity it is possible to appoint the complex therapy for women with reserved ovulatory cycles promoting trophic and metabolic processes in the endometrium.

The aim of this study was verifying the most specific and significant immunohistochemical markers of endometrium receptivity for the development of IVF treatment outcome prediction algorithm at external genital endometriosis of the I-II degree.

Material and Methods. The study material amounted to 95 cases of endometrial biopsy of women treated by IVF and following transferring the embryo into the uterus, on the basis of FSBSI "Ott RI OGR". To study the following groups were formed. Group I included 25 women with EGE of I-II degree and a positive outcome of the treatment program (pregnancy is confirmed echographically), II group consisted of 30 women with EGE of I-II degree, whose pregnancy has not occurred. Group III, the control group, included 40 women who were treated due to male factor of infertility, and the positive outcome of the program. The study included women with infertility in age from 24 to 35 years old, the level of follicle-stimulating hormone in the blood, defined on 3-5 days of the menstrual cycle (d.m.c.) of all surveyed women did not exceed 11 IU / L, at ultrasound investigation on 3-5 d.m.c determined from 7 to 12 antral follicles in the ovaries maximum echographic cut. All women received standard protocol IVF or IVF with intracytoplasmic sperm injection (ICSI) with the use of gonadotropin-releasing hormone antagonists. In order to support the luteal phase of the cycle the micronized progesterone was used. It was conducted transfer of only morphological qualitative embryos on the fourth or fifth day of cultivation. The average dose of recombinant gonadotropins, the number of obtained oocytes and the transferred embryos did not differ in clinical study groups. Pregnancy diagnostics was performed by determination of human chorionic gonadotropin in the blood on the 14 day after embryo transfer into the uterine cavity and ultrasonically on the 21 day. Forming a study group, we standardized as much as possible all the indicators, so that would be the only variable in the study was the endometrium implantation receptivity.

Endometrial biopsy was performed in the period of the intended implantation window on 7-9 day after ovulation in the cycle, prior to IVF cycle, using Pipelle de Cornier suction curette ("Jiangsu Suyun Medical Materials Co., Ltd.). Ovulation was confirmed by ultrasound and by determining the peak of luteinizing hormone in urine. The resulting endometrial samples were teated according to standard procedure to obtain the paraffin blocks. Histologic examination was conducted according to the criteria proposed by Mazur and Kurman [5], on the basis of which it was selected the samples containing middle stage secretion phase endometrium no evidence of inflammation and fibrosis. In case of doubt, the additional color on the Van Gieson method was used to identify chronic inflammation, leukocyte sub-populations CD20, CD138 were determined by immunohistochemistry.

Immunohistochemistry (IHC) was performed on deparaffinized and dehydrated sections of 4-6 um of thick with an avidin-biotin immunoperoxidase method. Expression levels were determined: leukemia inhibiting factor (LIF) (Anti-LIF, Abcam (ab135629), 1:100); vascular endothelial growth factor type A (VEGF-A) (Anti-VEGF-A, Abcam (ab28775), 1:50); transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1) (Anti-TGF- β 1, Novocastra, 1:40); estrogen receptor type alpha (ER) (Anti-ER, DAKO (1D5), 1:35); progesterone receptor, type A (PR) (Anti-PR, DAKO (636), 1:35); integrin alpha five beta three (Integrin α V β 3) (Anti- Integrin α V β 3, Abcam (ab7166), 1:250).

To quantify the immunohistochemical reaction there were obtained images using a Nikon DXM 1200 camera and "AST 1" software, version 2.12, fixing of the image was carried out on the x40 magnification. To evaluate the results of immunohistochemical staining it was performed morphometric study of micrographs using the system of computer analysis of microscopic images of Morphology 5.2. (VideoTest, Russia). In each case, all of the material was analyzed, except the field of vision, containing dyeing defects and artifacts.

The results of the reactions to the antigens having nuclear localization (ER, PR), was evaluated by counting system «histochemical score» (HS). The maximum value of HS is 300 points.

The intensity of reactions with antigens, localized in the cytoplasm and on cell membranes (LIF, VEGF-A, Integrin α V β 3, TGF-b1) was evaluated by two parameters - the relative area of expression and the optical density. The relative area of expression was calculated as the ratio of the area occupied by the immunopositive cells to the total cell area in the field of vision and expressed in percentage. The optical

density of expression of the identified products was measured in arbitrary units. The first component reflects the expression of the test marker in cell population and the second - in the individual cells. Evaluation of immunohistochemical reaction was carried out in two histological endometrial structures - glands and stroma.

Statistical processing of the obtained data was performed using the «Microsoft Excel» standard package and the «Statistica for Windows» application package, version 6.0, StatSoft Inc. (USA) using parametric and non-parametric statistical methods.

Descriptive statistics included calculation of the mean (M), standard error of the mean (m). Evaluation of intergroup differences in characteristic values was carried out using Student's t-test and the Mann-Whitney rank-U-test. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$ (95% -level of significance) and $p < 0.01$ (99% -level of significance).

Prediction of IVF outcome was carried out with the help of discriminant analysis and classification trees. The list of potential predictors included variables (a predetermined pairing with the onset of pregnancy) with significance level of $p < 0.05$.

Results. Status of the receptor apparatus of the endometrium in terms of ART is extremely important. This makes the choice of stimulation circuit, and may indicate a lack of sensitivity even to strong hormonal stimuli. Preparation of the endometrium to the blastocyst nidation is impossible without exposure to progesterone and estradiol by reaction with the appropriate steroid receptors.

The results for ER and PR receptors expression in the studied groups are shown in Table 1.

Table 1 – Expression of estrogen and progesterone receptors in the stromal and glandular component of the endometrium in the studied groups, points

Group	ER stromal	ER glandular	PR stromal	PR glandular
I	45,2±4,9	70,3±7,6	150,7±16,4	84,5±9,2
II	92,2±10,0*,**	75,2 ±8,2**	100,0±10,9*,**	73,2±8,0**
III	75,5±8,2	47,4±5,2	167,7±18,2	95,4±10,3

*The differences in the two groups at the outcome are significant at $p < 0.05$.
**The differences in the two groups with the control are significant at $p < 0.05$.

The data on the expression of ER in the stromal and glandular components show an increase of indicators in the subgroup with a negative outcome ($p < 0.005$), but lower levels of ER in the positive outcome group also differ from the control.

PR expression was high in the group of EGE and of positive outcome, as well as in control and was within normal "implantation window". A subgroup with negative outcome has a significant reduction in the level of PR both in stromal and glandular components.

LIF expression was observed predominantly in the luminal epithelia and glands, expression was in the stromal component was detected in women with histologically and immunohistochemically confirmed chronic inflammation in the endometrium, so those women were excluded from the study.

During apposition and adhesion of the blastocyst phase LIF is an intermediary in the interaction between maternal decidual leukocytes and implement trophoblast [6].

The results obtained for the LIF expression in the studied groups are presented in Table 2.

Table 2 – LIF Expression in the endometrial glandular component in the studied groups

Factor	Relative area of expression (RAE), %		Optical density (OD), c.u	
	«-» outcome	«+» outcome	«-» outcome	«+» outcome
Control	–	27,7±1,3	–	0,230±0,13
EGE	8,3±1,6*,**	14,5±1,6	0,176±0,04*,**	0,228±0,06

*The differences in the compared groups at the outcome are significant at $p < 0.05$.
**The differences in the compared groups with the control are significant at $p < 0.05$.

Considering these results, we observed the LIF expression maximum values in the control group. The groups of women with EGE values are reduced relative to control and fluctuate within 14-10% in the subgroup with a positive outcome, and show a sharp decline as in the relative area of less than 10% and in optical density below 0,200 c.u. in subgroups with a negative outcome.

Integrin $\alpha V\beta 3$ is involved in the initial attachment of the blastocyst and regulates intercellular interactions. Its expression is observed in the stromal and glandular component of the endometrium [6]. Results of the integrin $\alpha V\beta 3$ expression in the endometrium of women of the study groups are presented in Tables 3 and 4.

Table 3 – Integrin $\alpha V\beta 3$ expression in the stromal component of the endometrium in the studied groups

Factor	Relative area of expression (RAE), %		Optical density (OD), c.u	
	«-» outcome	«+» outcome	«-» outcome	«+» outcome
Control	–	5,5±0,4	–	0,159±0,029
EGE	2,2±0,8**	2,4±0,7	0,076±0,03***	0,170±0,039

*The differences in the compared groups at the outcome are significant at $p<0.05$.
 **The differences in the compared groups with the control are significant at $p<0.05$.

In the group of women with external genital endometriosis expression indicators of integrin $\alpha V\beta 3$ in terms of area and optical density were the lowest in comparison with the control. When comparing the subgroups differences were not found ($p>0.05$).

Table 4 – Expression of integrin $\alpha V\beta 3$ in endometrial glandular component in the studied groups

Factor	Relative area of expression (RAE), %		Optical density (OD), c.u	
	«-» outcome	«+» outcome	«-» outcome	«+» outcome
Control	–	14,1±2,0	–	0,289±0,018
EGE	6,8±0,6***	8,4±0,8	0,186±0,014***	0,244±0,026

*The differences in the compared groups at the outcome are significant at $p<0.05$.
 **The differences in the compared groups with the control are significant at $p<0.05$.

The obtained data demonstrate a direct link of indicators expression of integrin $\alpha V\beta 3$ with a positive outcome. In the subgroup of women with pregnancies the area figures ranged from 8 to 14% while in the subgroups with a negative outcome they were 6.8%. The optical density was also the highest in the control group and in the EGE group with the negative outcome of the program it was minimal.

Vascular endothelial growth factor is a major regulator of angiogenesis, mitogen for vascular endothelial cells. Expression of VEGF-A was observed only in the stromal component of the endometrium and was absent in the surface and glandular epithelium. Results of VEGF-A expression in the endometrium of women of the studied groups are shown in Table 5.

Table 5 – VEGF-A expression in the stromal component of the endometrium

Factor	Relative area of expression (RAE), %		Optical density (OD), c.u	
	«-» outcome	«+» outcome	«-» outcome	«+» outcome
Control	–	8,7±1,9	–	0,201±0,07
EGE	11,2±1,8**	10,1±1,9	0,182±0,007*	0,230±0,04

*The differences in the compared groups at the outcome are significant at $p<0.05$.
 **The differences in the compared groups with the control are significant at $p<0.05$.

VEGF-A expression in the endometrial stroma in women with external genital endometriosis is not differ significantly in terms of the area within the group, however, the optical density in the subgroup with positive outcome is higher than in negative one. Compared with the control of women with EGE the VEGF expression parameters in the stroma are higher in two times in terms of the area expression ($p<0.05$).

TGFβ1 is representative of the growth factors, its expression is detected in all structures of the endometrium: stroma, glandular component and the luminal epithelium. Expression in the glandular component exceeds the expression in the stroma. Results of TGFβ1 expression in the endometrium of women of the studied groups are shown in Tables 6 and 7.

Table 6 – TGFβ1 expression in the stromal component

Factor	Relative area of expression (RAE), %		Optical density (OD), c.u	
	«-» outcome	«+» outcome	«-» outcome	«+» outcome
Control	–	4,4±0,8	–	0,240±0,017
EGE	2,1±0,3 ^{*,**}	4,4±1,0	0,230±0,019 ^{*,**}	0,208±0,005

*The differences in the compared groups at the outcome are significant at p<0.05.
**The differences in the compared groups with the control are significant at p<0.05.

When comparing between subgroups there are significantly higher rates of the relative area in the group with a positive outcome, and the optical density indicators of the negative subgroup. When comparing the control group, the subgroup with a negative outcome has lower values of the relative area (p<0.05), and between the subgroups with a positive outcome differences were not found.

Table 7 – TGFβ1 expression in the glandular component

Factor	Relative area of expression (RAE), %		Optical density (OD), c.u	
	«-» outcome	«+» outcome	«-» outcome	«+» outcome
Control	–	11,8±1,4	–	0,198±0,013
EGE	10,9±1,9	11,7±1,8	0,203±0,012	0,205±0,010

*The differences in the compared groups at the outcome are significant at p<0.05.
**The differences in the compared groups with the control are significant at p<0.05.

When comparing subgroups with each other and with control significant differences were not found.

The next stage of our work was to evaluate the informativeness of immunohistochemical markers to predict the outcome of in vitro fertilization in the group of women with external genital endometriosis. For this we used discriminant analysis method, which showed that the most informative at the outcome forecast of IVF in the group of women with external genital endometriosis: the relative area of LIF expression; relative expression area and optical density of integrin αVβ3 in the glandular and stromal components of the endometrium as well as the relative area of expression of TGFβ1 and VEGF-A growth factor in the endometrial stromal component.

Using a stepwise procedure for adding variables on the basis of Wilkes statistics enabled to calculate the discriminant functions:

$$P = 0,04 \cdot A + 126,0 \cdot B + 3,7 \cdot C - 23,5, \quad (6)$$

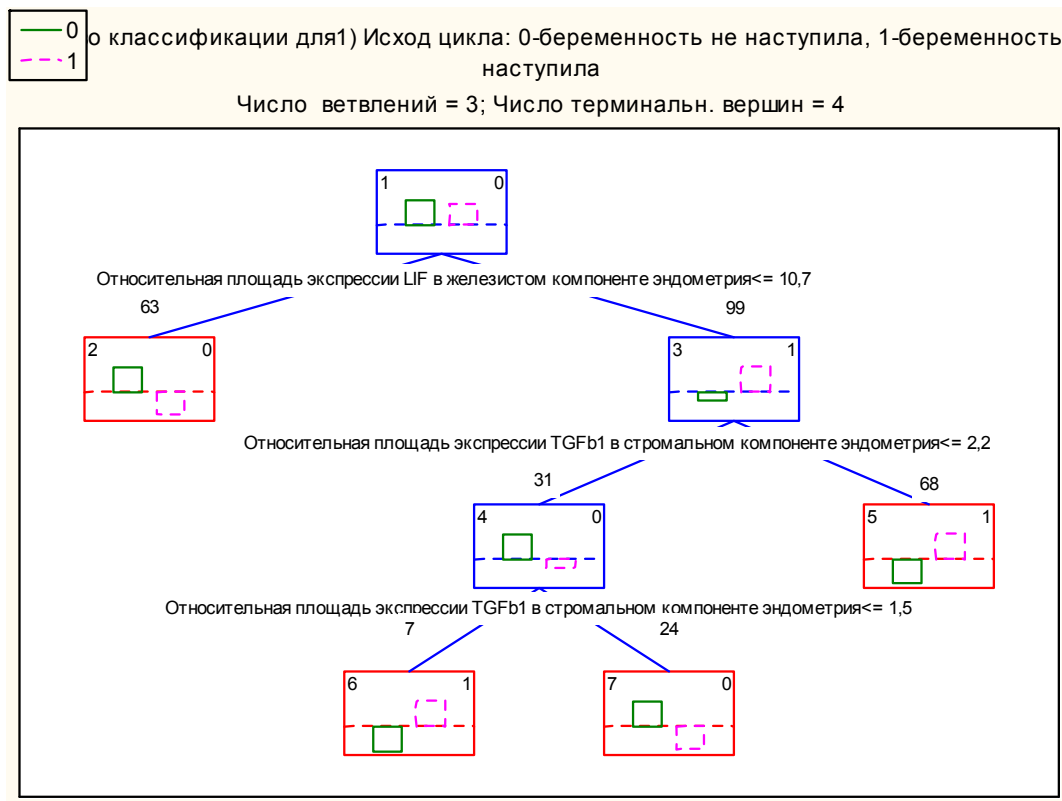
$$O = 0,09 \cdot A + 83,9 \cdot B + 1,9 \cdot C - 13,4, \quad (7)$$

where P – discriminant function of a positive outcome of IVF; O – discriminant function of a negative outcome of IVF; A – PR expression in the endometrial glandular component; B – the optical density of the LIF expression in the endometrial glandular component; C – relative area of TGFβ1 expression in the endometrial stromal component.

All included in the discriminant function variables are significantly different from zero. Test the resulting model in the control group showed 89.1% of correct discrimination. Cross-checking in the training group showed a slightly lower, but also good results: 88.8% of correct answers.

Prediction algorithm of in vitro fertilization outcomes according to the expression of immunohistochemical markers was developed using classification trees - a method to relate objects to one class or another depending on the respective values of one or more independent (predictor) variables. Building a classification tree enabled to classify objects on the basis of decision rules. Choosing the best tree was conducted on the basis of the lowest rates (the proportion of misclassified cases). The forecast has been

selected with the lowest percentage of incorrect classifications (Figure). Analysis of the classification tree showed that the most informative indicators in predicting the IVF outcome: the relative area of the TGFβ1 expression in the stromal component of the endometrium (rank - 100), relative area of the LIF expression in the glandular component of the endometrium (rank - 84) and optical density of the LIF expression in the glandular component of the endometrium (rank - 71).



Classification tree of decision-making.

Note: The decision nodes are marked with boxes. In the boxes on the left side it is the node number, in the right - to which class (group) it belongs. Over the nodes there are indicated the number of cases occurring to this unit, under it - the condition of separation along the branches.

Terms of division of the examined are the following: if the value of the variable corresponds to or is equal to the condition laid down by the decision node, then select the left branch, otherwise - right. Thus, we move along the branches to the final node, which shows us the expected forecast of IVF treatment.

The discussion of the results. The lack of implantation in IVF cycles is one of the main problems of modern reproductive medicine. Implantation is a multifactorial process, it is difficult to imagine the existence of a single criterion, with which it is possible to determine the receptivity of the endometrium. However, the possibility of accurate diagnosis of the state of receptivity of the endometrium cannot be overestimated in terms of clinical relevance. Endometrial biopsy today remains the most common method to diagnose pathological conditions that leads to a significant reduction or loss of the ability of endometrial implantation.

Important one is the ability to predict the onset of implantation, since the detection of violations make it possible to avoid unnecessary emotional stress, not to carry out the support of the luteal phase and the hopeless refrain from embryo transfer, preserving them for the delayed transfer.

Endometrial tissue obtained during the "implantation window" in the natural cycle, is able to reflect the receptivity of the endometrium during the cycle, despite the negative impact of ovulation stimulation. Endometrial receptivity is almost on the same level, from cycle to cycle, which provides a constant genomic profile [7]. Therefore, the use of immunohistochemistry studies of the endometrium in preparation for assisted procreation treatment is justified.

According to the studies we have verified the most significant and specific markers of endometrial receptivity, TGF β 1 and LIF that were used to develop a IVF treatment outcome prediction algorithm at external genital endometriosis of the I-II degree.

With the help of the developed model it is possible to predict the group with poor outcome of treatment that allows to take science-based solutions to improve the effectiveness of the remedial measures.

On the basis of the developed model it is proposed the following algorithm of prediction of adverse outcome:

1. When planning IVF treatment it is necessary to conduct a biopsy of the endometrium and histological examination.

2. The second step in the case of not revealing apparent reason preventing the formation of receptivity of the endometrium (hyperplasia, inflammatory changes) a comprehensive assessment of the functional state of the endometrium with immunohistochemistry is under way.

3. The third step is relating to each surveyed to the groups of "positive outcome" and "negative outcome" using a prediction algorithm.

Conclusion. It is becoming increasingly clear that the ideal biomarker for evaluating endometrial receptivity does not exist, as the complexity of the pathogenesis of any disease, leading to infertility, and physiological characteristics of each patient cannot be identified by a single biomarker.

Expansion of basic research on the molecular mechanisms of cell implantation will expand the understanding of the mechanisms underlying the formation of implantation and may be the basis for the development of drugs for the selective effect on the endometrium with impaired receptivity. It is necessary to conduct large studies on large cohorts of women with normal and impaired fertility, which will determine the range of the expression rate of different molecules, to standardize methods and will provide an opportunity in the future to use them for predictive diagnostics and correction of receptivity.

REFERENCES

- [1] Kupka M.S., Ferraretti A.P., de Mouzon J., et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2014; 29: 2099-113.
- [2] Edwards R.G. Human implantation: the last barrier in assisted reproduction technologies? *Reprod Biomed Online* 2006; 13: 887-904.
- [3] Devroey C., Bourgain N.S., Macklon, et al. Reproductive biology and IVF: ovarian stimulation and endometrial receptivity. *Trends Endocrinol Metab* 2004; 15: 84-90.
- [4] Simon A., Laufer N. Repeated implantation failure: clinical approach. *Fertil Steril* 2012; 97: 1039-43.
- [5] Mazur M., Kurman R.J. *Diagnosis of endometrial biopsies and curettings: a practical approach*. New York: Springer, 2005.
- [6] Boomsma C.M., Kavelaars A., Eijkemans M.J., et al. Endometrial secretion analysis identifies a cytokine profile predictive of pregnancy in IVF. *Hum Reprod* 2009; 24: 1427-35.
- [7] Ruiz-Alonso M., Blesa D., Di'az-Gimeno P., et al. The endometrial receptivity array for diagnosis and personalized embryo transfer as a treatment for patients with repeated implantation failure. *Fertil Steril* 2013; 100: 818-24.

Ю. С. Крылова¹, В. О. Полякова¹, А. М. Гзгзян¹, В. Н. Локшин², И. М. Кветной¹

¹Д. О. Отта атындағы ФГБНУ «НИИАГиР», Санкт-Петербург, Ресей,

²«PERSONA» клиникалық репродуктология халықаралық орталығы, Алматы, Қазақстан

СЫРТҚЫ ГЕНИТАЛДЫ ЭНДОМЕТРИОЗ, ЭНДОМЕТРИЯ ИМПЛАНТАЦИОНДЫ СЕЗГІШТІГІНІҢ ИММУНОГИСТОХИМИЯЛЫҚ ДИАГНОСТИКАСЫ

Аннотация. Экстрокорпоральді ұрықтандыруда (ЭКУ) имплантацияның болмауы – заманауи репродуктологияның негізгі проблемаларының бірі. Имплантация көп факторлы үрдіс болып табылады, оның көмегімен эндометрияның рецептивтілігін анықтау мүмкін болатын біріңғай өлшемнің болуын елестету қиын. Алайда, эндометрийның рецептивтілігінің жағдайының сенімді диагностикасының мүмкіндігін клиникалық маңыздылық жағынан алып қарағанда әсіре бағалау қиын. Эндометрияның биопсиясы бүгінгі таңда оның имплантациялық қабілетінің айтарлықтау төмендеуіне немесе жоғалуына алып келетін патологиялық жағдайын диагностикалауға мүмкіндік беретін ең кең тараған әдіс болып қала береді.

Ақауларды анықтау барысында артық эмоциялық жүктемені болдырмауға, лютеин фазасын қуаттауды болдырмауға және эмбриондарды кейінге ауыстыру үшін сақтай отырып, оларды перспективсіз ауыстырудан тыюға болатындықтан, имплантацияның басталуын болжау мүмкіндігі маңызды болып табылады. Сыртқы генитальді эндометриозы бар емделушілердегі эндометрияның имлантациялық сезгіштігінің ақауларын болжау және диагностикалау үшін имплантациялық терезенің түзілуіне қатысатын маңызды биологиялық молекулаларды (LIF, ER, PR, Integrin, TGF- β 1, VEGF) бағалай отырып, иммуногистохимиялық зерттеуді қолдану мүмкіндігін бағалау жүргізілді. Зерттеу нәтижесінде ЭЖҰ әдісімен емдеу соңын болжайтын алгоритмді жасау үшін қолданылған ақпараттық иммуногистохимиялық маркерлер анықталды. Жасалынған модельдің көмегімен емдеу нәтижесі жағымсыз топтарды болжауға болады, ол емдеу іс-шараларын жүргізу тәсілін дәлелдемемен жоспарлауға мүмкіндік береді және ЭЖҰ әдісімен емделу тиімділігінің көтерілуіне себеп болады.

Түйін сөздер: ЭЖҰ, эндотермияның имплантациялық сезгіштігі, рецептивтілік, «имплантация терезесі», LIF, VEGF, Integrin α V β 3, TGF β 1, ER, PR.

Ю. С. Крылова¹, В. О. Полякова¹, А. М. Гзгзян¹, В. Н. Локшин², И. М. Кветной¹

¹ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия,

²Международный центр клинической репродуктологии «PERSONA», Алматы, Казахстан

НАРУЖНЫЙ ГЕНИТАЛЬНЫЙ ЭНДОМЕТРИОЗ, ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ИМПЛАНТАЦИОННОЙ ВОСПРИИМЧИВОСТИ ЭНДОМЕТРИЯ

Аннотация. Отсутствие имплантации в циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) – одна из основных проблем современной репродуктологии. Имплантация является многофакторным процессом, трудно представить себе наличие единого критерия, с помощью которого возможно определить рецептивность эндометрия. Однако, возможность достоверной диагностики состояния рецептивности эндометрия трудно переоценить с точки зрения клинической значимости. Биопсия эндометрия на сегодняшний день остается наиболее распространенным методом, позволяющим диагностировать патологические состояния, приводящие к существенному снижению или утрате имплантационной способности эндометрия.

Важной представляется возможность прогнозировать наступление имплантации, так как при выявлении нарушений можно избежать лишней эмоциональной нагрузки, не проводить поддержку лютеиновой фазы и воздержаться от бесперспективного переноса эмбрионов, сохранив их для отсроченного переноса. Нами проведена оценка возможности использования иммуногистохимического исследования с оценкой ключевых биологических молекул участвующих в формировании имплантационного окна (LIF, ER, PR, Integrin, TGF- β 1, VEGF), для прогноза и диагностики нарушения имплантационной восприимчивости эндометрия, у пациенток с наружным генитальным эндометриозом. В результате исследований были верифицированы информативные иммуногистохимические маркеры, которые были использованы для создания алгоритма прогноза исхода лечения методом ЭКО. С помощью разработанной модели возможно прогнозирование группы с неблагоприятным исходом лечения, что позволяет обоснованно планировать тактику ведения лечебных мероприятий и способствует повышению эффективности лечения методами ЭКО.

Ключевые слова: ЭКО, имплантационная восприимчивость эндометрия, рецептивность, «окно имплантации», LIF, VEGF, Integrin α V β 3, TGF β 1, ER, PR.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 13 – 17

UDC 618.3:618.36

A. Khozhamuratova¹, G. Bapayeva², G. Akhmedianova¹, E. Ramazanova¹¹JSC "Astana Medical University", Kazakhstan,²CFB UMC National Research Center of Maternal and Child Health, Astana, Kazakhstan**EFFECTIVENESS OF DIFFERENT METHODS OF TERMINATION
IN MISSED ABORTION OF THE FIRST TRIMESTER**

Abstract. This article presents comparative results of using the prostaglandin analogue misoprostol by vaginal and oral ways and antiprogestagen mifepristone in combination with misoprostol for termination of missed abortion. It was found that the vaginal route of administration of misoprostol was more effective in comparison with other methods, and it had minimal side effects.

Keywords: missed abortion, misoprostol, mifepristone, termination of pregnancy.

Introduction. Missed abortion (MA) in the first trimester is characterized by delayed embryonic or fetal development by results of US blighted ovum (anembryonic gestation) or the embryo/fetus without cardiac activity [1]. The frequency of occurrence of this complication in the structure of reproductive loss is quite high (10-20%), and among the early reproductive losses is 45-88,6% [2]. Nowadays, a large percentage of these cases are diagnosed by routine ultrasound scanning in the first trimester of pregnancy.

Surgical evacuation remains the gold standard of medical care in missed abortion, being fast and very effective if performed by an experienced specialist. However, the relevant complications (trauma to the cervix, leading to cervical incompetence, severe pain, structural and functional inferiority of endometrium) dictate the search for alternative ways of case management [3].

In this regard, nowadays, primarily medical methods are used for the termination of pregnancy, which as shown by randomized trials [4] have advantages compared with traditional surgery. Researchers have attempted to compare the effectiveness of different routes of administration (oral and vaginal tract) of prostaglandin analogues; however, the obtained data is ambiguous [5].

Aim of the study: to compare the efficacy of the prostaglandin analogue misoprostol 200 mcg for various routes of administration and mifepristone antiprogestagen 200 mg in combination with a prostaglandin analogue misoprostol 200 mcg to terminate the missed abortion in the first trimester.

Material and methods. A randomized, prospective study of 94 pregnant women with a diagnosis of missed abortion up to 12 weeks, after obtaining informed consent was conducted. The study was conducted on the basis of City Hospital №2 in Astana and on the basis of the Department of Obstetrics and Gynecology №1 JSC "Astana Medical University" during 2015-2016. Inclusion criteria were: 1) 18-45 years old; 2) gestational age ≤12 weeks on last menstrual period; 3) established diagnosis of missed abortion according to ultrasound; 4) the cervix is closed with a vaginal examination; 5) hemoglobin ≥ 90 g/l; 6) the normal body temperature; 7) informed consent. Exclusion criteria: 1) excessive uterine bleeding; 2) unstable hemodynamics; 3) violation of coagulation (PTI ≤ 85%, fibrinogen <2.0 g/l); 4) the signs and symptoms of infection; 5) a history of extragenital pathology in which the use of prostaglandins is contraindicated, 6) active lactation period; 7) a multiple pregnancy.

By random sample, surveyed women were divided into 3 groups: Group A: 32 patients treated with 200 mcg misoprostol intravaginally into the posterior vaginal fornix every 3 hours up to six doses; Group B: 31 patients, treated with 200 mcg misoprostol orally every three hours up to six doses, group C: 31 patients who treated with 200 mg mifepristone and after 24 hours - 200 mcg of oral misoprostol, repeating every three hours up to six doses.

All patients were monitored and observed for vaginal bleeding and the process of expulsion of the ovum, noted side effects of the drug. Over the next 12-36 hours, following results were evaluated: complete miscarriage, incomplete miscarriage (echogram did not indicate an empty uterine cavity) or the absence of expulsion of products of conception, which subsequently required the use of a surgical abortion. Each woman was informed of the expulsion of the ovum and the possible symptoms. If the fertilized egg has been expelled, she was explored vaginally, and then there was conducted a transvaginal US. If the fertilized egg remained, then the administration of additional doses of misoprostol continued as long as there was a full expulsion of the ovum or patient took the maximum dose of misoprostol. If the patient's pregnancy was terminated earlier, additional doses were not administered.

Patients were observed for 6 hours after complete abortion, and then dismissed. They received prophylactic antibiotics for 3-5 days.

Control examination was conducted after 14 days; they were surveyed, conducted transvaginal ultrasound, pelvic examination. Bleeding was divided by duration – as the short (up to 5 days), medium (5-10 days) or long (over 10 days), by number – as severe, moderate or weak. During the conversation with the patient there were refined side effects or any additionally received treatment. Follow-up visit was appointed to the 6th week to determine the time necessary for the resumption of menstruation, other side effects (if experienced) and tolerability.

Results and their discussion. The average age of the examined patients ranged from 20 to 42 years, an average $30,75 \pm 1,03$ years. Comparative analysis by age group showed no statistically significant differences between groups. Most patients were multiparous (66.7% – in Group A, 56.7% – in group B, 76.7% – in group C). Previous history of abortion in 33.3% were in group A, 36.7% – in Group B and 23.3% – in Group C. Missed abortion history was 23.3% of the women in Group A, 30% in group B and 16.7% in group C. The average gestational age at the time of the study was: $73,7 \pm 2,2$ days in group A; 75.6 ± 2.7 days in Group B and 73.674 ± 1.268 days in Group C.

Majority of women found missed abortion with ultrasound when a random smearing dark brown discharge from the genital tract, when applied to a gynecologist at the place of residence or with ambulance to emergency clinic. In our study, the final performance indicator defined as complete evacuation of the uterine cavity without need for surgical intervention. Also there were considered transvaginal ultrasound data, according to it, the endometrial thickness should be no more than 15-17 mm, without hyperechoic inclusion.

The results of the study showed (Table 1), that misoprostol at two routes of administration, and the combined use of mifepristone and misoprostol is an effective non-surgical method, and has a highly effectiveness for vaginal administration of misoprostol. Application of misoprostol, PGE-1 analogue without antiprogesteragen also shows high performance. This once again confirms the hypothesis that antigestagens are not really necessary for the termination of missed abortion as progesterone level is usually low and therefore only the PGE-1 is required to initiate uterine contractions and expulsion of the ovum.

Table 1 – Clinical outcome in the three groups

Outcome	Groups		
	A	B	C
Complete miscarriage	30 (93,75%)	25 (80,6%)	26 (83,87%)
Incomplete miscarriage	2 (6,25%)	5 (16,1%)	5 (16,1%)
Pregnancy is not terminated	0	1 (3,22%)	0
Total	32 (100%)	31 (100%)	31 (100%)

At the same time, there has been the ineffectiveness of medical termination: two patients in the vaginal misoprostol group had incomplete miscarriage, and surgical intervention was required in both cases. In the oral group, 6 patients had treatment failure.

We have analyzed the number of doses of misoprostol which is necessary to complete an abortion in the two groups (Table 2).

Table 2 – Dose number of misoprostol, which was necessary for complete miscarriage in the three groups

Dose number	Groups		
	A	B	C
One	2 (6.25%)	0 (%)	6 (19.3%)
Two	7 (21.8 %)	3 (9.67%)	19(61.3%)
Three	16 (50%)	10 (32.25%)	6 (19.3%)
Four	7 (21.87%)	14 (45.1%)	0 %
Five	0%	3 (9,67%)	0%
Six	0%	1 (3,22%)	0%
Total	30	25	26

The results showed that 2 (6.25%) patients in Group A, 0% - in group B, and 6 (19.3%) patients in Group C full miscarriage has occurred after the first dose, while 7 patients (21.8%) in group A, 3 (9.67%) in group B, and 19 (61.3%) in group C complete miscarriage occurred after the second dose. After third dose, full miscarriage has occurred in 16 (50%) patients in Group A, 10 (32.25%) patients in group B, and 6 (19.3%) patients in group C, and after the fourth dose in 7 patients (21.87 %) in group A, 14 (45.1%) patients in group B there was a complete miscarriage.

Thus, administration of vaginal misoprostol and mifepristone combined with misoprostol was more effective than oral administration of misoprostol, because complete miscarriage in those groups happened after the third or fourth dose of misoprostol, i.e additional doses were not necessary.

Mean interval (in hours) of the first dose of misoprostol till complete miscarriage was 10.8 ± 3.4 hours in Group A; 13.2 ± 3.1 hours in group B; 5.2 ± 3.1 hours in Group C.

It is known [7], that the use of prostaglandin may be accompanied by various side effects. The results of our study have shown that a large percentage of side effects occurred in the oral and the combined group.

Table 3 – Side effects of the application of PGE-1 analogue misoprostol

Side effects	Groups			D1	D2	D3
	A	B	C			
Nausea/vomiting (requires treatment)	3 (9,4%)	21 (67,7%)	13 (41,9%)	<0,001	<0,05	<0,01
Headache	4(12,5%)	5(16,2%)	7(22,5%)	>0,05	>0,05	>0,05
Dizziness	2(6,25%)	5(16,2%)	11(35,5%)	>0,05	>0,05	3.047
Diarrhea	0 (0)	3(9,7%)	2 (6,25%)	>0,05	>0,05	>0,05
Cramping pain	7(21,9%)	16(51,6%)	17(54,8%)	<0,01	>0,05	2.85
Fever (requires treatment)	0 (0)	1 (3,22%)	0 (0)	0	0	0
Heavy bleeding	0 (0)	2 (6,25%)	2 (6,25%)	0	0	0
Hysteroecvorrhesis	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0	0
Hysterorrhesis	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0	0
Total	32	31	31			

D1 – difference between groups A and B; D2 – difference between groups A and C, D3 – difference between groups B and C.

Of all the most significant side effects were nausea, vomiting, severe cramping, diarrhea, heavy bleeding.

Thus, the occurrence of gastrointestinal side effects was higher in the oral group, which was easily stopped via antiemetic and antidiarrheal drugs. The most noticeable side effect connected with misoprostol was diarrhea, which is a natural reaction of the intestinal smooth muscle to increase the level of Prostaglandin, and it easily eliminated in several days despite continued treatment. In the oral misoprostol

group and the combined group of mifepristone with misoprostol, diarrhea was observed in 3 patients (10%) and 2 patients (6.6%), respectively. In the vaginal group, diarrhea was not observed. Hyperthermia was observed in one patient in the oral group, while in the other groups this symptom was not observed. All the groups felt dizziness, headache in small amounts from 6% to 36%. Severe cramping pain, requiring analgesics was greater in oral and combination group compared with the vaginal group (in the oral group and the combined group it was 51.6% and 54.8% vs. 21.9% in vaginal group). Also in this study, no patient had cervical rupture as a result of treatment. These results once again demonstrate the effectiveness of medical termination of missed abortion [5].

Heavy post-abortion bleeding that required surgical evacuation was observed in a few patients (in the oral group – 2 patients (6.6%), 2 patients in the combined group (6.6%), and vaginal group had no heavy bleeding), which increases the acceptability of medical treatment at missed abortion, which is suitable as a practical alternative to conventional surgical evacuation. The majority of patients (53.3% in the first group, 63.3% in the second group, 60% in the third group) had normal recovery of menstrual cycle in 30-45 days, and it emphasizes that the effect of misoprostol in the beginning of the first menstrual period after abortion does not depend on the route of administration.

Post-abortion bleeding in an average of all groups was observed according to the number of bleeding: moderate degree – in group A in 63.3% of patients, in group B in 60% of patients, in group C in 50% of patients, according to the duration of bleeding for 5-10 days: in group A in 56.6%, in group B – 33.3%, in group C – 60%. Resumption of menstrual time: most women had normal recovery time of 30 days and 30-45 days in group A (86.6%), in group B (79.9%), in Group C (83.3%).

The results of our study coincides with the findings of other researchers [5,6,8], which showed the effectiveness of the above methods separately, but unlike them, we performed a comparative analysis of particular application of prostaglandins, and their combined use with antiprogesteron.

Conclusion. Despite the different ways of administration of drugs, and the combined use of anti-progesteron (mifepristone) and misoprostol, performance indicators were high in all groups. At the same time, the method of vaginally administration of prostaglandins is more effective with minimum side effects.

REFERENCES

- [1] Radzinskiy V.E., Makletsova S.A., Aleev I.A., Rudneva O. D., Ryabinkina T.S. Nerazvivayushchayasya beremennost': Metodicheskie rekomendatsii MARS (Mezhdistsiplinarnoy assotsiatsii spetsialistov reproduktivnoy meditsiny). M.: Redaktsiya zhurnala Status Praesens, 2015. 48 p.
- [2] Shchegolev A.A., Dobrokhotova Yu.E. Nerazvivayushchayasya beremennost': trombofilicheskie i kliniko-immunologicheskie faktory // *Sovremennye aspekty terapii (Seriya "Biblioteka vracha-spetsialista")*. GEOTAR-Media, 2010. 144 p.
- [3] Dalton V.K., Harris L.H., Gold K.J., Kane-Low L., Schulkin J., Guire K., et al. Provider knowledge, attitudes, and treatment preferences for early pregnancy failure // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2010. N 202. P. 531-538.
- [4] Petersen S.G., Perkins A.R., Gibbons K.S., Bertolone J.I., Mahomed K. The medical management of missed miscarriage: outcomes from prospective, single-center. Australian cohort // *Medical Journal Australia*. 2013. N 199. P. 341-346.
- [5] Marwah S., Gupta S., Batra N.P., Bhasin V., Sarna V., Kaur N.A. Comparative Study to Evaluate the Efficacy of Vaginal vs Oral Prostaglandin E1 Analogue (Misoprostol) in Management of First Trimester Missed Abortion // *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2016. Vol. 5, N 10. P. 14-18. doi: 10.7860/JCDR/2016/18178.7891. Epub 2016 May 1.
- [6] Elami-Suzin M., Freeman M.D., Porat N., Rojansky N., Laufer N., Ben-Meir A. Mifepristone followed by misoprostol or oxytocin for second-trimester abortion: a randomized controlled trial // *Obstetrics and Gynecology*. 2013. Vol. 4, N 122. P. 815-820. doi: 10.1097/AOG.0b013e3182a2dcb7.
- [7] Abramchenko V.V., Guseva E.N. Medikamentoyny abort. Rukovodstvo dlya vrachey // *Izd. ELBI-Sankt-Peterburg*, 2005. 139 p.
- [8] Yashchuk A.G. Sravnitel'nyy analiz blizhayshikh iskhodov medikamentoznogo i khirurgicheskogo preryvaniya nerazvivayushcheyasya beremennosti v I trimestre // *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa*. 2014. Vyp. 14(1). P. 51-54.

А. Хожамуратова¹, Г. Бапаева², Г. Ахмедьянова¹, Э. Рамазанова¹

¹«Астана медицина университеті» АҚ, Қазақстан,

²«Ұлттық ана мен бала ғылыми орталығы», ҰҚ Бөлімшесі «УМС», Астана, Қазақстан

АЛҒАШҚЫ ТРИМЕСТРДЕГІ ДАМЫМАЙТЫН ЖҮКТІЛІК БАРЫСЫНДА ЖҮКТІЛІКТІ ТОҚТАТУДЫҢ ӘР ТҮРЛІ ӘДІСТЕРІНІҢ ТИІМДІЛІГІ

Аннотация. Мақалада простагландиннің аналогы - қынаптық және ауыздық жолдардың мизопростолы және мифепристон антипрогестагеннің простагландиннің басқа аналогы – мизопростолмен комбинациясын дамымайтын жүктілікті жою үшін қолдану тиімділігінің салыстырмалы нәтижелері келтірілген. Мизопростолды қынапты жолмен енгізу жанама әсерлері минималды ең тиімдірек әдіс болатындығы анықталған

Түйін сөздер: дамымайтын жүктілік, мизопростол, мифепристон, жүктілікті тоқтату.

А. Хожамуратова¹, Г. Бапаева², Г. Ахмедьянова¹, Э. Рамазанова¹

¹АО «Медицинский университет Астана», Казахстан,

²Филиал КФ УМС «Национальный Научный центр Материнства и Детства, Астана, Казахстан

ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ ПРИ НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ ПЕРВОГО ТРИМЕСТРА

Аннотация. Представлены сравнительные результаты эффективности применения аналога простагландина мизопростола вагинального и перорального путей, и антипрогестагена мифепристона в комбинации с аналогом простагландина мизопростолом для прерывания неразвивающейся беременности. Установлено, что вагинальный путь введения мизопростола является более эффективным методом, с минимальными побочными эффектами.

Ключевые слова: неразвивающаяся беременность, мизопростол, мифепристон, прерывание беременности.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 18 – 21

UDC 616.12-089:[616.121+616.126.424]

I. Ye. Sagatov^{1,2}, A. V. Kvashnin², U. Ye. Imammyrzaev², N. B. Danyarov², D. T. Nurlan¹

¹Kazakh Medical University of Continuous Education, Almaty, Kazakhstan,

²A. N. Syzganov National Scientific Surgery Center, Almaty, Kazakhstan

**THE DIRECT RESULTS OF THE RADICAL CORRECTION
OF VARIOUS FORMS
OF THE ATRIOVENTRICULAR SEPTAL DEFECT**

Abstract. The analysis of direct results of the surgical treatment of 23 patients with different forms of atrioventricular septal defect (AVSD) were submitted: partial form (12 patients), intermediate (transitional) form (8 patients) and complete form (3 patients). All patients underwent the radical correction of the congenital heart malformation, including one-patched, two-patched and «australian» methods. Complications in the early postoperative period developed in 11 (47,8%) patients, lethality was 8,7%.

Keywords: atrioventricular septal defect, radical correction, AV-blockage, bleeding.

Introduction. Atrioventricular septal defect (AVSD) is a complex congenital heart defect, occurring with a frequency of 4-5% in the structure of all congenital heart defects, or neonates at 2-4 per 10 000 births [1, 2, 8, 9]. AVSD is characterized by disorders of the atrioventricular valves in the form of creating a common atrioventricular ring, separating the atria and ventricles, as well as abnormalities of the leaflets and chordal-papillary apparatus. It is generally accepted the division of AVSD 4 anatomical forms: a partial or partial, transitional, intermediate and complete. In turn, the full form of AVSD has balanced and unbalanced subtypes. In full form of AVSD there is no fibrous portion, which separates normal mitral and tricuspid annulus fibrosus, and atrioventricular septal defect. According to Rastelli [11], the atrioventricular apparatus at full form of AVSD is divided into three types: A, B and C. The diagnosis is set with the left ventriculography, which distorts the outflow of the left ventricle on the type "goose neck", mitral regurgitation and discharge of blood through the VSD with the complete form of AVSD [4, 5].

The purpose of the research is to examine the results of radical correction of various forms of atrioventricular septal defect.

Material and Methods

23 patients who were hospitalized in the Department of Cardiac Surgery at A. N. Syzganov NSSC (KazMUCE clinical base) in the period from 2011 to 2016 were subjected to a retrospective analysis. The average age of the patients was $21,7 \pm 15,3$, the youngest of which was 4 months old, the oldest – 51 years old. Females dominated (65.2%) among the patients. The patients were divided into three groups depending on the AVSD form: with partial form (12 patients), intermediate (transition) form (8 patients) and with a balanced complete form (3 patients). All patients underwent radical defect correction. General characteristics of the patients before the operation are shown in Table 1.

Processing of data, including statistics, was carried out with the help of software applications for Windows (Excel, Access), as well as Statistica 5,5. Mean values were presented with standard deviation ($M \pm m$). Differences between mean values were considered significant for values of $p < 0,05$. Stratification of the risks associated with surgery, was performed with the help of Aristotle basic complexity score (ABC score) and Risk adjustment for congenital heart surgery – 1 (RACHS-1).

Table 1 – General characteristics of the patients before the operation

Characteristics	AVSD, partial form	AVSD, intermediate (transition) form	AVSD, balanced complete form	p		
	1	2	3	1-2	2-3	1-3
Number (%)	12 (52,2)	8 (34,8)	3 (13,0)	–	–	–
Average age (years)	27,3±15,5	22,4±11,0	2,0±2,6	0,397	0,047	0,028
Females	7	6	2	–	–	–
Males	5	2	1	–	–	–
ABC score (category of complexity)	6,2±4,0 (II)			-	-	-
RACHS-1 (category of complexity)	II	II-III	III	–	–	–
IC time (min)	144,0±61,8	120,8±19,1	119,0±9,9	0,577	0,204	0,957
Aortic cross-clamping time (min)	111,8±54,0	92,8±22,7	89,5±5,0	0,633	0,824	0,805

Results of the research

In the early postoperative morbidity the complex course was observed in 11 (47.8%) patients, 2 patients (8.7%) died. The cause of two deaths after radical correction of the complete form of AVSD was intractable acute heart failure which required high doses of inotropes. In the other 3 cases we could handle the symptoms of acute heart failure; all patients with stable hemodynamics were transferred to the profile department and later were dismissed.

The structure of the non-lethal and lethal complications is shown in Table 2, according to it, the greatest number of complications was observed in patients with partial and complete AVSD forms. Whereas in patients with intermediate (transitional) form of AVSD early postoperative period in most cases proceeded smoothly: postoperative complications in the form of a complete transverse blockade were observed in only one patient (12.5%).

Two (8.7%) repeated sternotomy due to drainage bleeding were made in the early postoperative period there. The source of bleeding in one female patient with complete AVSD form was the right ventricular wall at the site of a bound temporary electrode, in another patient with a partial form of AVSD the definition of the hemorrhage source was not possible.

In the early postoperative period, conduction disorders in the form of AV block of 3 grade occurred in 4 patients, which accounted for 17.4% of the total number of patients: in 3 patients (13.1%) – after radical correction of AVSD partial form, in 1 (4, 3%) – after radical correction of an intermediate form of AVSD. Subsequently, all patients underwent implantation of a permanent pacemaker.

Table 2 – The structure of the non-lethal and lethal complications in early postoperative period

Non-lethal and lethal complications	AVC, partial form, n=12		AVC, intermediate (transition) form, n=8		AVC, complete form, n=3	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%
Acute heart failure	3	25,0	–	–	2	66,7
Hemorrhage	1	8,3	–	–	1	33,3
AB-block of 3grade	3	25,0	1	12,5	–	–
Total	7	58,3	1	12,5	3	100,0

Hospital mortality in surgical treatment of AVSD was 8.7%. 2 children aged 4 and 6 months with complete balanced forms of AVSD died as a result of intractable acute heart failure, the first on the day of operation, and the second on the next day after surgery. Both patients underwent radical defect correction: one of them by one-flap method, the second by two-flap method. In addition to this, 4-month-old baby suffered from Down's syndrome, and at six-month girl's AVSD was combined with secondary pulmonary

high hypertension. Despite adequate surgical correction of the form of disease, it was not possible to provide in both cases a stable hemodynamic condition in the early postoperative period, which resulted in a fatal outcome.

Discussion. In our study, surgical correction of AVSD in most cases did not present any difficulties that might seriously impair the results of treatment. According to numerous studies, the majority of operated patients in the mid-term and long-term periods after radical correction of AVSD are at lower functional classes, in other words hardly have any significant problems with the physical and psychological health, which limit their activities of daily life [1, 2, 3, 8]. According Buratto E et al. (2016), 10-year survival after surgical correction of various forms of AVSD is 90%, 20-year survival rate is 83%, and freedom from reoperation at 10 and 20 years is about 66% [8].

However, according to some authors, the early and late possible complications after surgical correction of AVSD can be [1, 6, 7, 8, 9, 10, 12]:

- damage of the pathways with the occurrence of cardiac arrhythmias and conduction in the form of incomplete and full cross-section of the block;
- damage to the circumflex branch of the left coronary artery with the annuloplasty anterior-lateral commissure of the mitral valve;
- residual regurgitation in the atrioventricular valves;
- stenosis of the atrioventricular orifices;
- stenosis of the outflow of the left ventricle.

With explicit deficit of tissue flaps, prosthesis of valve should be preferable. In marked domination of one of the ventricles, two ventricles correction should be abandoned in favor of one ventricles Fontan correction [2, 3, 7].

The need for reoperation on the mitral valve after radical correction of the complete form of AVSD may be caused, firstly, by unreasonable extensive use of plastic reconstruction methods in severe initial pathology of the mitral valve component, and, secondly, by surgical errors in a poorly executed reconstruction of the mitral valve component [7].

The deficit of valvular tissue, relative hypoplasia of the right or left ventricular, abnormalities of fastening flaps, chords and papillary muscles, double-orifice mitral valve, one group of left ventricular papillary muscles are the independent risk factors for reconstructive correction of complete form of AVSD. A number of surgeons consider the reconstruction of affected valves as operation choice, others at total failure in common atrioventricular valve with additional anomalies, perform initial prosthesis [7].

Conclusion. Thus, AVSD is a congenital heart defect, which has different forms, which are connected with a process involving the atrial and ventricular septal and anatomical changes in the atrioventricular flap and subvalvular structures. In our study, the highest percentage of cases consisted of patients with partial and intermediate forms of AVSD (86.9%), which surgical correction in most cases did not present any problems. On the other hand, 2 (8.7%) deaths occurred in the immediate postoperative period in young patients with complete AVSD form. The cause of hospital death in both cases was intractable acute heart failure.

REFERENCES

- [1] Bokerija L.A., Gorbachevskij S.V. Atrioventrikuljarnyj kanal. Anatomija i osobennosti hirurgicheskoj korrekcii. M.: Izd-vo NCSSH im. A. N. Bakuleva RAMN, 2005.
- [2] Gorbatyh Ju.N. i soavt. Radikal'naja korrekcija otkrytogo atrioventrikuljarnogo kanala. Medicinskaja tehnologija. Novosibirsk, 2008. 33 p.
- [3] Sagatov I.E. Sravnitel'naja ocenka rezul'tatov razlichnyh metodov operacii Fontena v hirurgicheskom lechenii vrozhdennyh porokov serdca: Dis. d.m.n. Moskva, 2008. 250 p.
- [4] Sagatov I.E. Metody hirurgicheskogo lechenija slozhnyh vrozhdennyh porokov serdca. Almaty, 2014. 34 p.
- [5] Sagatov I.E. Operacionnyj risk i kachestvo zhizni u pacientov kardiohirurgicheskogo profilja. Almaty, 2015. 142 p.
- [6] Abarbanell G.L., Morrow G., Kelleman M.S., Kanter K.R., Border W.L., Sachdeva R. Echocardiographic Predictors of Left Ventricular Outflow Tract Obstruction following Repair of Atrioventricular Septal Defect: Congenit Heart Dis. 2016 May 12. doi: 10.1111/chd.12370.
- [7] Bokeria L.A., Gorbachevsky S.V., Makhachev O.A., Kim A.I., Rahmonov K.H., Fillipkina T.Y. Mitral valve replacement in complete atrioventricular septal defect: choice of the prosthesis and risk factors // 60-th ESCVS International congress. M.: 20-22 May, 2011. P. 80.

- [8] Buratto E., Ye X.T., Bullock A., Kelly A., d'Udekem Y., Brizard C.P., Konstantinov I.E. Long-term outcomes of reoperations following repair of partial atrioventricular septal defect // Eur J Cardiothorac Surg. 2016 Aug; 50(2): 293-297.
- [9] Devlin P.J., Backer C.L., Eltayeb O., Mongé M.C., Hauck A.L., Costello J.M. Repair of Partial Atrioventricular Septal Defect: Age and Outcomes // Ann Thorac Surg. 2016 Jul; 102(1): 170-177.
- [10] Moreno N., Almeida J., Amorim M.J. Atrioventricular septal defect in an adult patient // Rev Port Cardiol. 2016 Mar; 35(3): 181.
- [11] Rastelli G.C., Ongley P.A., Kirklin J.W. Surgical repair of the complete form persistent common atrioventricular canal // J Thorac Surg. 1968; 55(3): 299-307.
- [12] Sagatov I.Ye. Modeling of the operational risk in patients with congenital heart diseases // Cardiology. 2015; 131(Suppl 1): 29-30.

И. Е. Сағатов^{1,2}, А. В. Квашнин², У. Е. Имаммырзаев², Н. Б. Данияров², Д. Т. Нұрлан¹

¹Қазақ мемлекеттік медициналық үздіксіз білім беру университеті, Алматы, Қазақстан,
²А. Н. Сызғанов атындағы ұлттық ғылыми хирургия орталығы, Алматы, Қазақстан

ӘРТҮРЛІ АТРИОВЕНТРИКУЛЯРЛЫҚ ПЕРДЕ АҚАУЫНЫҢ РАДИКАЛДЫҚ ТҮЗЕТУДІҢ ЕРТЕ НӘТИЖЕЛЕРІ

Аннотация. Атриовентрикулярлық перде ақауының әртүрлі формасына шалдыққан 23 науқасты хирургиялық емдеудің ерте нәтижелерін талдау ұсынылған: оның ішінде 12 науқаста толық емес формасы, 8 науқаста аралық (өтпелі) формасы және 3 науқаста толық формасы болды. Барлық науқастарға бір төсемелі, екі төсемелі және «австралиялық» әдістерін қамтыған туа біткен ақауды радикалды түзету жүргізілді. 11 науқаста (47,8%) ерте ота кезіндегі асқынулар орын алды, өлім көрсеткіші 8,7 % құрады.

Түйін сөздер: атриовентрикулярлық перде ақауы, радикалды түзету, АВ-блокада, қан кету.

И. Е. Сағатов^{1,2}, А. В. Квашнин², У. Е. Имаммырзаев², Н. Б. Данияров², Д. Т. Нұрлан¹

¹Казахский медицинский университет непрерывного образования, Алматы, Казахстан,
²Национальный научный центр хирургии им. А. Н. Сызганова, Алматы, Казахстан

РАННИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАДИКАЛЬНОЙ КОРРЕКЦИИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ АТРИОВЕНТРИКУЛЯРНОГО СЕПТАЛЬНОГО ДЕФЕКТА

Аннотация. Представлен анализ непосредственных результатов хирургического лечения 23 пациентов с различными формами атриовентрикулярного септального дефекта: неполной (12 пациентов), промежуточной (переходной) (8 пациентов) и полной формами (3 пациентов). Всем пациентам выполнена радикальная коррекция порока, в том числе однозаплатным, двухзаплатным и «австралийской» методикам. Осложнения в раннем послеоперационном периоде возникли у 11 (47,8%) пациентов, летальность составила 8,7%.

Ключевые слова: атриовентрикулярный септальный дефект, радикальная коррекция, АВ-блокада, кровотечение.

Сведения об авторе:

Сағатов Инкар Ергалиевич – доцент кафедры сердечно-сосудистой и эндоваскулярной хирургии КазМУНО, главный научный сотрудник ННЦХ им. А. Н. Сызганова, доктор медицинских наук, e-mail: inkar_sagatov@rambler.ru

Sagatov Ye. Inkar – Assistant Professor of CardioVascular and EndoVascular Department of KazMUCE, Chief Researcher of NSCS named after A.N. Syzganov, Ph.D., M.D., e-mail: inkar_sagatov@rambler.ru

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 22 – 29

UDC 618

L. S. Kayupova, N. V. Kravtsova, L. S. Dzož, A. M. Kurmanova

Scientific Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: kls-5858@mail.ru

**IMMUNOLOGICAL CRITERIA
OF PLACENTAL INSUFFICIENCY**

Abstract. The studies established the immune system quantitative and functional parameters changes in III trimester of pregnant, women in childbirth, postpartums and newborns with placental insufficiency. The imbalance of lymphocytes subpopulations indicators, increase of early activation and functional cytotoxic activity of immune cells in the systemic and local level were revealed. These changes specify the immunoregulatory mechanisms violations in the mother-placenta-fetus system in case of placental insufficiency and necessity for appropriate correction.

Keywords: placental insufficiency, lymphocytes subpopulation profile, perforin.

A unique relationship between mother and fetus is established during pregnancy. During gestation process, the fetus develops its own immune competence, and the mother's organism with the help of utero-placental complex enhances the effect of adaptation programs that will eventually allow two alien organisms – maternal and fetal to coexist [1]. Participation of the mother's immune system in controlling the gestational process is doubtless, a woman's immune system undergoes significant changes at physiological pregnancy, which are based on the formation of gestational immunosuppression [2, 3].

The condition of the immune system is one of the important criteria of usefulness of functional homeostatic pregnancy mechanisms that ensure a dynamic balance in the mother-placenta-fetus [4]. Pregnancy is characterized by the appearance of fetal antigens that define a particular type of immune response, the population composition of immunocompetent cells and their functional activity. At each stage of gestation there is a certain quantitative level of populations and subpopulations of lymphocytes that reflects a consistent system adaptation to the severity of the antigenic load [5].

As a result of the development of immunological relationship between mother and fetus, the placenta becomes immunologically privileged tissue. Trophoblast also serves as an immunosorbent, connecting antibodies (immunoregulators) and setting the immune camouflage, which blocks efferent link of the immune response. By 10 weeks of pregnancy, the fetus becomes an immunological partner of the mother. This symbiotic relationship leads to the development of immunological imprinting in the mother's organism, which remains for a lifetime. After establishing the immunological symbiosis between mother and fetus, the system becomes extremely resistant to adverse immunologic effects. Hormonal and other events that are programmed at the end of pregnancy, lead to rupture of the immunological symbiosis [6].

The aim of the research is to study the changes in immunological parameters in pregnant, women in childbirth, postpartums and newborns with placental insufficiency.

Material and methods. In order to study the characteristics of homeostasis in the mother-placenta-fetus with placental insufficiency (PI) 2 groups were identified – the main and control groups. The control group consisted of 30 healthy women of childbearing age with physiological pregnancy at 38-41 weeks of pregnancy (III trimester), 30 women in childbirth, 30 postpartums and 30 newborns with Apgar scores of 8-9 points. The main group included women with pregnancies complicated placental insufficiency (III trimester – 30), 30 women in childbirth, 30 postpartums and newborns who underwent intrauterine

PI (30). The material of the research is the peripheral blood of women, as well as the umbilical cord blood of newborns.

Research of subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes of women, women in childbirth, postpartums and cord blood detected according to general lymphocytic gate SD45 + by method of direct membrane immunofluorescence on a flow cytometer BD FACS Calibur using a panel of monoclonal antibodies to the surface antigens of lymphocytes: to CD3+ - marker of mature T-lymphocytes, to CD3+, CD4+ - marker of helper-inductor T-cells, to CD3+, CD8+ - marker of suppressor-cytotoxic T-lymphocytes, to CD3+, CD16+ and CD3+, CD56+ - marker of natural killer cells CD16+ and CD56+ phenotypes, to CD19+ - marker of B-lymphocytes, to CD3+, HLA-DR+ - marker of activated T-lymphocytes, to CD3+, CD25+ - marker of α -chain IL-2, to CD3+, CD95+ - marker of apoptosis. IRI was determined by the ratio of CD4+/CD8+ cells, and the apoptosis index according to CD95+/CD25+. The localization of the activation markers CD25+ and CD95+ on the cells was performed by double phenotyping.

Pore-forming protein "perforin" in the cells was determined by permeabilization. We used a commercial reagent kits, labeled FITS (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD25, CD95, HLA-DR), and labeled PE (CD25, CD95) BD Biosciences (USA).

Results of the research and their discussion. The criterion for inclusion of pregnant women into the main group was exhibited clinical diagnosis of PI, confirmed by instrumental methods. In order to evaluate the clinical state of pregnant, there was developed a profile, which includes somatic, obstetric, gynecological history, information about gestation course. Also the state of the newborn at birth was taken into account.

Table 1 – Assessment of newborns on Apgar scale

Title	IFS	Assessment on Apgar scale		Birth weight, gr.
		for 1 min.	for 5 min.	
Control group (n=30)	0,84±0,05	7,8±0,17	9,0±0,52	3435,5±286,3
Main group with PI (n=30)	2,35±0,15*	6,7±0,52*	7,5±0,34*	3112,4±222,8
*p < 0,001 (related to a control).				

Postnatal adaptation period for all the children in the control group proceeded without peculiarities. The newborns with PI had a significant number of complications. 16.6% of them had a risk of intrauterine infection, malnutrition of I-II degree was observed in 6.6%, 36.6% of newborns had hypoxic genesis CNS, hemolytic disease of the newborn was 3.3%.

During examination of the subpopulation profile of lymphocytes of peripheral blood there was revealed that the immunological parameters in pregnant women with PI were significantly different from the control group (Table 2).

Table 2 – Subpopulation profile of peripheral blood lymphocytes in pregnant women with placental insufficiency (III trimester)

The title of subpopulation of peripheral blood lymphocytes (%)	Pregnancy groups	
	PI (n=30)	Control (n=30)
T-lymphocytes (CD3+ CD19-)	69,01 ± 0,91*	60,91 ± 0,46
T-helpers (CD4+ CD8-)	39,54 ± 0,40	40,01 ± 0,46
T-cytotoxic (CD8+CD4-)	26,02 ± 0,26	26,34 ± 0,063
NK cells (CD16+CD3+)	19,83 ± 0,49*	10,36 ± 0,19
T-killers (CD56+CD3+)	9,30 ± 0,28*	5,79 ± 0,030
B-lymphocytes (CD19+CD3-)	20,59 ± 0,02*	13,08 ± 0,49
T-activated (CD3+HLA-DR+)	15,42 ± 0,02*	10,76 ± 0,20
B-active. and NK (CD3+HLA-DR+)	22,63 ± 0,020*	12,04 ± 0,20
Early activation marker (CD25+CD3+)	0,45 ± 0,02*	8,0 ± 0,12
Apoptosis marker (CD95+CD3+)	1,29 ± 0,02*	7,21 ± 0,03
Apoptosis index (CD95+/CD25+)	3,02 ± 0,19*	0,90 ± 0,01
IRI (CD4+/CD8+)	1,52 ± 0,01	1,52 ± 0,30
*p < 0,05 related to a control.		

This included the significant increase in the number of mature T-(CD3+ CD19-), B-(CD19+ CD3-) lymphocytes, increase in the number of natural killer cells CD16+CD3+ and CD56+CD3+ phenotype, increase in the number of activated CD3+ HLA-DR+ and CD3-HLA-DR+ cells as an indicator of enhancing an immune response to foreign histocompatibility antigens of the second class ($p<0.05$).

At the same time, the decrease in the number of T-lymphocytes bearing a marker of early activation of CD25+ and apoptosis marker CD95+ compared to the control was recorded, which led to an increase in the index of apoptosis CD95+/CD25+ and indicated a violation of proliferation and apoptosis at PI in pregnant women ($p<0,05$). IRI, as well as the number of immunoregulatory inductor-helper (CD4+ CD8-) and cytotoxic (CD8+CD4-) lymphocytes remained almost at the same level with the control.

In the group of women in childbirth (Table 3) with PI, the changes in parameters of the immune system were presented in lower numbers of mature T-(CD3+CD19-), helper (CD4+CD8-) lymphocytes, increase in the number of natural killer cells CD16+CD3+ and CD56+CD3+ phenotypes, increase in the amount of B-cells of antibody producers (CD19+CD3-), CD8+CD4- cytotoxic lymphocytes, increase in the number of activated CD3+HLA-DR+ and CD3-HLA-DR+ cells, decrease in the level of T-lymphocytes carrying early activation markers of CD25+ and Fas-receptor CD95+, mediating apoptosis. The CD95+/CD25+ apoptosis index was lower. These indicators point out the imbalance of immunity in childbirth in the group of women with PI.

Table 3 – Subpopulation profile of peripheral blood lymphocytes in women in childbirth with placental insufficiency

The title of subpopulation of peripheral blood lymphocytes (%)	Pregnancy groups	
	FPI (n=30)	Control (n=30)
T-lymphocytes (CD3+CD19-)	56,84 ± 0,31*	65,3 ± 0,20
T-helpers (CD4+CD8-)	40,89 ± 0,23*	43,17 ± 0,24
T-cytotoxic (CD8+CD4-)	29,40 ± 0,5*	27,2 ± 0,40
NK cells (CD16+CD3+)	22,28 ± 0,51*	11,3 ± 0,02
T-killers (CD56+CD3+)	10,26 ± 0,33*	0,10 ± 0,01
B-lymphocytes (CD19+CD3-)	23,19 ± 0,31*	13,9 ± 0,31
T-activated (CD3+HLA-DR+)	14,5 ± 0,18*	11,38 ± 0,21
B-active. and NK (CD3-HLA-DR+)	22,83 ± 0,33*	13,01 ± 0,10
Early activation marker (CD25+CD3+)	0,80 ± 0,01*	7,74 ± 0,11
Apoptosis marker (CD95+CD3+)	0,90 ± 0,05*	7,51 ± 0,02
Apoptosis index (CD95+/CD25+)	0,83 ± 0,05*	0,97 ± 0,02
IRI (CD4+/CD8+)	1,39 ± 0,02	1,59 ± 0,015
* $p<0,05$ related to a control.		

In the group of pregnant with PI, examined 3-4 days after birth, in comparison with control data (Table 4) there was detected the reduction in the number of immunoregulatory CD4+CD8+ and CD8+CD4+ lymphocytes numbers, the decrease in the number of CD95+CD3+ cells and no changes in the number of mature CD3+CD19- lymphocytes in the peripheral blood. We tested the increasing number of natural killer cells of both phenotypes, B-cells of antibody producers and their activation according to the HLA-DR+ antigen, the increase in the number of activated CD25+CD3+ lymphocytes and apoptosis index. IRI was significantly lower than in the control group.

Thus, the research of subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes of women with PI surveyed during indicated periods (pregnant of III trimester, women in childbirth, postpartums) compared with similar data obtained in women with physiological pregnancy, childbirth and the postpartum period, revealed an imbalance of immune parameters due to the PI.

All groups surveyed for PI, have presented an increase in the number of natural killer cells of CD16+ and CD56+ phenotypes, carrying killing effect; increase in the number of B-cells of antibody producers (CD19+CD3-); increase in the number of T- and B-lymphocytes with HLA-DR+ antigen (pregnants, woman in childbirth) and only B- (postpartums); decrease in the number of cells bearing markers of early

Table 4 – Subpopulation profile of peripheral blood lymphocytes in postpartums with placental insufficiency

The title of subpopulation of peripheral blood lymphocytes (%)	Pregnancy groups	
	FPI (n=30)	Control (n=30)
T-lymphocytes (CD3+CD19-)	66,69 ± 0,66	67,10 ± 0,45
T-helpers (CD4+CD8-)	35,93 ± 0,25*	47,2 ± 1,25
T-cytotoxic (CD8+CD4-)	22,33 ± 0,27*	26,9 ± 1,21
NK cells (CD16+CD3+)	15,93 ± 0,05 *	12,0 ± 0,54
T-killers (CD56+CD3+)	6,67 ± 0,13*	4,13 ± 0,26
B-lymphocytes (CD19+CD3-)	19,02 ± 0,52*	8,3 ± 0,45
T-activated (CD3+HLA-DR+)	9,62 ± 0,13	9,04 ± 0,44
B-active. and NK (CD3-HLA-DR+)	18,72 ± 0,24*	10,3 ± 0,21
Early activation marker (CD25+CD3+)	0,66 ± 0,02*	0,097 ± 0,01
Apoptosis marker (CD95+CD3+)	0,77 ± 0,05*	5,14 ± 0,23
Apoptosis index (CD95+/CD25+)	1,09 ± 0,08*	0,71 ± 0,01
IRI (CD4+/CD8+)	1,62 ± 0,01*	1,75 ± 0,03
*p<0,05 related to a control.		

activation of CD25+ and apoptosis of CD95+ (pregnants, woman in childbirth) and CD95+ (postpartums), increase in the number of cells with CD25+ marker (postpartums); increase in the total number of mature T-lymphocytes (pregnants), decrease in their numbers (woman in childbirth), which does not change in the number (postpartums); no change in the number of immunoregulatory CD4+CD8+ T-lymphocytes in pregnant women, reducing their number in postpartums and multidirection results in the woman in childbirth group.

Also the main indicators of localization of activation markers CD25+, CD95+ on CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD56+ lymphocytes of the peripheral blood of pregnant women, women in childbirth, postpartums with PI were investigated. The localization of the activation marker CD25+ on CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD56+ lymphocytes in pregnant women with PI was significantly higher than in the control group of pregnant women. Localization on the cells of Fas receptor CD95+, mediating apoptosis was enhanced in CD3+, CD16+, CD56+ lymphocytes, indicating a willingness of mature T- and natural killer cells CD16+, CD56+ phenotypes to the death and decline on CD4+, CD8+ lymphocytes, which carry immunoregulatory function.

Comparative analysis between the data obtained in the study of the control and main group of cord blood is shown in Tables 5 and 6.

Analysis of lymphocyte subpopulation composition at PI in the maternal part of the umbilical cord blood enabled to establish a significant reduction in the number of mature CD3+CD19-, immunoregulatory CD4+CD8-, CD8+CD4- T-lymphocytes, CD19+CD3-, CD25+CD3+, with a simultaneous increase in the number of CD16+CD3+, CD56+CD3- lymphocytes. It was noted the absence of differences between the groups of CD3+HLA-DR+, CD3-HLA-DR+, CD95+CD3+ lymphocytes as compared to the control. The apoptotic index at PI was significantly higher.

In other words, there are deviations in the redistribution and migration of lymphocytes of maternal part cord blood, causing quantitative deficiency of mature T-, immunoregulatory, T-helpers and T-suppressor-cytotoxic lymphocytes, B-cells of antibody producers, as well as reducing the number of T-lymphocytes, carrying a marker of early activation of CD25+. Natural killers of CD16+ and CD56+ of phenotypes conversely, were higher than in the controls, and the number of activated T-, B-, NK- cells by HLA-DR markers revealed no significant differences. The fetal part of the umbilical cord blood at PI had change parameters on control different from those in the maternal part. There was a significant increase in the number of CD3+CD19-, CD4+CD8-, CD8+ CD4-, CD16+CD3+, CD56+CD3-, CD19+CD3-, increase in the number of activated T, B, and NK- cells by HLA-DR, reducing the number of CD25+CD3+ and CD95+CD3+ cells, as well as for IRI. The apoptosis index in comparison with the control was the same.

Table 5 – Subpopulation profile of cord blood lymphocytes at placental insufficiency

The title of subpopulation (%)	Cord blood			
	Maternal part		Fetal part	
	Control	PI	Control	PI
T-lymphocytes (CD3+CD19-)	64,26 ± 0,89	55,56 ± 0,82*	48,889 ± 0,06	51,51 ± 1,03*
T-helpers (CD4+CD8-)	37,98 ± 0,15	35,95 ± 0,54*	30,42 ± 0,07	34,99 ± 0,49*
T-cytotoxic (CD8+CD4-)	24,79 ± 0,05	19,71 ± 0,41*	18,2 ± 0,02	22,69 ± 0,22*
NK cells (CD16+CD3+)	10,21 ± 0,01	13,0 ± 0,28*	8,83 ± 0,03	14,0 ± 0,22*
T-killers (CD56+CD3+)	5,1 ± 0,12	5,53 ± 0,13*	3,71 ± 0,04	6,80 ± 0,36*
B-lymphocytes (CD19+CD3-)	15,05 ± 0,48	13,69 ± 0,40*	9,33 ± 0,08	15,04 ± 0,40*
T-activated (CD3+HLA-DR+)	10,45 ± 0,15	10,16 ± 0,42	5,71 ± 0,03	8,49 ± 0,37*
B-activated and NK (CD3+HLA-DR+)	13,99 ± 0,13	13,23 ± 0,50	10,67 ± 0,04	15,06 ± 0,58*
Early activation marker (CD25+CD3+)	2,41 ± 0,009	1,13 ± 0,09*	0,75 ± 0,01	0,54 ± 0,04*
Apoptosis marker (CD95+CD3+)	0,84 ± 0,007	0,81 ± 0,03	1,17 ± 0,09	0,93 ± 0,04*
Apoptosis index (CD95+/CD25+)	0,35 ± 0,004	1,35 ± 0,10*	1,56 ± 0,07	1,72 ± 0,37
IRI (CD4+/CD8+)	1,53 ± 0,003	1,85 ± 0,03*	1,67 ± 0,001	1,55 ± 0,02*
*p<0,05 related to a control.				

In the study of the functional properties of lymphocytes of maternal and fetal parts of the umbilical cord blood at placental insufficiency, changes of the same type were identified. Thus, in contrast to the control group indicators, the localization of CD25+ early activation marker responsible for the processes of cell proliferation, on CD3+CD19-, CD4+CD8-, CD8+CD4-, CD16+CD3+, CD56+CD3+ lymphocytes in maternal and fetal parts at placental insufficiency is increased, which indicates an increase in the proliferative activity of mature T-helper-inductor, suppressor-cytotoxic T-lymphocytes, as well as increasing the functions of natural killer lymphocytes at PI (p<0.05).

The localization of CD95+ marker, mediating apoptosis was significantly increased in the lymphocytes of both maternal and fetal parts of umbilical cord blood at PI compared with the control. This concerned the mature T-, suppressor-cytotoxic T-, and natural killer cells CD16+CD56+ phenotypes, indicating a readiness of these cells to die.

Table 6 – Localization of activation markers CD25+, CD95+ on lymphocytes of umbilical cord blood at placental insufficiency

The title of subpopulation (%)	Cord blood			
	Maternal part		Fetal part	
	Control	PI	Control	PI
CD3+ CD19-/CD25+	3,70 ± 0,04	10,0 ± 0,19*	6,43 ± 0,15	11,33 ± 0,58*
CD4+ CD8-/CD25+	3,55 ± 0,05	9,30 ± 0,09*	6,00 ± 0,20	7,90 ± 0,26*
CD8+ CD4-/CD25+	6,15 ± 0,17	11,84 ± 0,23*	7,22 ± 0,002	14,46 ± 0,54*
CD16+ CD3+/CD25+	0,91 ± 0,02	9,38 ± 0,35*	0,70 ± 0,04	9,62 ± 0,56*
CD56+ CD3+/CD25+	0,40 ± 0,05	9,57 ± 0,41*	0,65 ± 0,05	7,47 ± 0,39*
CD3+ CD19-/CD95+	1,55 ± 0,01	9,65 ± 0,27*	3,50 ± 0,07	7,43 ± 0,29*
CD4+ CD8-/CD95+	7,21 ± 0,26	11,63 ± 0,32*	8,95 ± 0,03	6,37 ± 0,39*
CD8+ CD4-/CD95+	5,31 ± 0,37	7,32 ± 0,27*	1,64 ± 0,04	10,05 ± 0,23*
CD16+ CD3+/CD95+	0,13 ± 0,003	6,22 ± 0,22*	0,15 ± 0,004	7,87 ± 0,59*
CD56+ CD3+/CD95+	0,02 ± 0,001	3,81 ± 0,16*	0,05 ± 0,001	6,39 ± 0,30*
*p < 0,05.				

The exceptions were CD4+CD8- helper-inductor T-lymphocytes which carry out a protective immune response, their apoptotic processes differ between fetal and maternal cells of umbilical cord blood. In the maternal part, the functions of helper-inductor T on the CD95+ markers were raised, and in the fetal part they were reduced. It is possible that this may be due to the decrease in activity of the functional activity of the pool of cells in maternal part of the umbilical cord control ($p < 0.05$). It was noted the increasing localization CD25+ on CD3+CD19-, CD8+CD4- in fetal part and reduced activation of molecules on CD4+CD8- and CD56+CD3+ lymphocytes as compared to the maternal part, indicating that the diversity of changes in the functional activity of the lymphocytes at PI and its contrast from similar monitoring data ($p < 0.05$). All parameters of the immune system, which are responsible for the activation of immune responses when at PI were intended to damage and rejection of the fetus. Identified changes can be regarded as criteria of FGR at PI.

The data obtained in the study of clinical material are presented in Tables 7 and 8. Analysis of the results revealed an increase in both total perforin number, and elevated levels of perforin production by individual cells (CD3+Perf+, CD8+Perf+, CD16+Perf+, CD56+Perf+), significantly higher than similar data identified in physiological pregnancy ($p < 0.05$).

Table 7 – The intracellular production of perforin by lymphocytes of the peripheral blood of pregnant women with PI

Title of perforin-positive subpopulation of peripheral blood lymphocytes (%)	Peripheral blood	
	PI	Control
CD3+ Perf+	10,57 ± 0,17*	3,78 ± 0,61
CD4+ Perf+	4,98 ± 0,13*	8,74 ± 0,82
CD8+ Perf+	13,34 ± 0,82*	5,76 ± 0,31
CD16+ Perf+	9,08 ± 0,08*	5,32 ± 0,84
CD56+ Perf+	9,85 ± 0,30*	3,28 ± 0,42
Total perforin number	47,82 ± 0,37*	26,88 ± 0,24
* $p < 0,05$.		

On the system-level at PI, indicators exceeded control data 1.77 times, 2.8, 2.32, 1.71, 3.0 times respectively. This indicates the fact that the level of production by immunocompetent cells of pore-forming proteins that have a cytotoxic effect on target cells increases in the peripheral blood of pregnant women at PI, it may be the basis of pathogenetic mechanisms of PI. The intracellular production of perforin by immunoregulatory CD4+Perf+ cells carrying a protective immune response at PI is different from similar control data by reduction 1.76 times ($p < 0.05$).

Table 8 – The intracellular production of perforin by lymphocytes of umbilical cord blood of newborns with PI

Title of perforin-positive subpopulation of peripheral blood lymphocytes (%)	Peripheral blood	
	PI	Control
CD3+ Perf+	12,0 ± 0,05*	9,11 ± 0,09
CD4+ Perf+	6,83 ± 0,20*	7,55 ± 0,06
CD8+ Perf+	6,29 ± 0,28*	7,95 ± 0,03
CD16+ Perf+	9,17 ± 0,16*	0,67 ± 0,04
CD56+ Perf+	8,9 ± 0,30*	0,99 ± 0,04
Total perforin number	43,19 ± 0,25*	24,6 ± 0,07
* $p < 0,05$.		

At the local level, in the fetal part of the umbilical cord blood of pregnant women with PI, the total perforin number was as high as in the peripheral blood compared to control data, respectively 1.75 times and at the level of the certain cells among CD3+Perf+- 1.32 times, CD16+Perf+ 13.68 times, CD56+Perf+ - 8.99 times ($p < 0.05$), indicating the cytotoxic effect of these cells. The intracellular production of perforin was carried out by mature T- and natural killer cells both phenotypes at the local level.

Immunoregulatory CD4+Rerf+, CD8+Perf+lymphocytes of cord blood at PI was differed from similar control data of reduced production of intracellular perforin ($p<0.05$). These data were less than 1.1 and 1.26 times. In the fetal part of the blood of the umbilical cord at PI, the potent cytotoxic effect on target cells was carried out predominantly by mature T- and natural killer lymphocytes of CD16+, CD56+ of phenotypes compared with the norm.

Conclusions.

1. It was found that the complication of pregnancy with PI violates the adaptation of woman organism, causing severe abnormalities of the immune system in pregnant women, women in childbirth and postpartum, which were evaluated for localization of activation markers of CD25+, CD95+ on CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD56+ lymphocytes. An increase in the early activation of lymphocytes at the system level (peripheral blood) in pregnant of III trimester, women in childbirth and postpartums with PI, as well as violation of the mechanisms of apoptosis (for CD95+), followed by local breakdowns of immunity. This is reflected in the change of functions of lymphocytes in newborns. The increase of activation (for CD25+), CD3+, CD4+, CD8+, CD16+ CD56+ immune cells, as well as readiness for death (for CD95+) among CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD56+ lymphocytes of fetal part of the umbilical cord blood was established.

2. At the local level, the unidirectional changes of cord blood lymphoid cell function were observed in the fetal and maternal parts except helper-inductor T-lymphocytes, which have different functions. Subpopulation profile of lymphocytes in the maternal part of cord blood was different from that in the fetal part by decrease in the number of mature T-, immunoregulatory, helper-inductor and cytotoxic T-lymphocytes, by decrease in number of antibody-producing cells, the lack of differences in relation to control activated T-, B- and NK-cells. The number of T-cells with a marker of early activation of CD25+ was equally reduced in both maternal and fetal parts of umbilical cord blood, but the number of natural killer cells CD16+ and CD56+ was equally high in comparison with the control, in both parts of umbilical cord blood.

3. Analysis of the results of the study enabled to reveal that a complication of pregnancy with PI causes profound disturbances in the immune system of women in relation to the functional cytotoxic activity of immune cells, assessed by intracellular production of pore-forming perforin proteins both in systemic and local levels. In contrast to the physiological pregnancy at PI, an increased intracellular synthesis of pore-forming perforin proteins is generated, it is defined by the increase of the total number perforin (peripheral and cord blood), increased intracellular production of perforin mature T-lymphocytes, natural killer cells of both phenotypes (peripheral and cord blood), and suppressor-cytotoxic CD8+ lymphocytes (peripheral blood), which carry the cytotoxic effect of the target cells.

REFERENCES

- [1] Suhii G.T., Vanko L.V. Immunology of pregnancy. 2003; 400.
- [2] Tetruashvili N.K. Immunology. 2008; 29: 124-129.
- [3] Sidelnikov V.M. Russian Gazette of obstetrics-gynecology. 2007; 2: 62-64.
- [4] Strizhakov A.N., Ignatko I.V. Questions of gynek., obstetrics. and perinat. 2006; 5: 33-41.
- [5] Mark E. Molitch, Lisa P. Purdy. Your Endocrine Source. 2002; 14: 268.
- [6] Rankouhi T.R., Sanderson J.T., van Holsteijn C. Toxicol. Sci. 2004; 81: 90-102.

Л. С. Каюпова, Н. В. Кравцова, Л. С. Дзоз, А. М. Курманова

Ғылыми Акушерлік, гинекология және перинатология орталығы, Алматы, Қазақстан

ПЛАЦЕНТАРЛЫ ЖЕТКІЛІКСІЗДІК ИММУНОЛОГИЯЛЫҚ КРИТЕРИЙЛЕРІ

Аннотация. Зерттеулер плацентарлы жеткіліксіздігі бар босану және жаңа туған нәрестелердің жүкті ІІІ триместр, жүкті әйелдер, әйелдер иммундық жүйенің сандық және функционалдық параметрлердің өзгеру сипаты белгіленеді. лимфоциттердің анықталған теңгерімсіздік көрсеткіштері суб, ерте активтендіру және жүйелі және жергілікті деңгейде иммундық жасушалардың функционалдық цитоуытты қызметінің артуы.

Бұл өзгерістер плацентарлы жеткіліксіздік және керекті түзету қажеттілігіне ана-плацента-ұрық иммундық механизмдерін бұзу көрсетуі.

Түйін сөздер: плацентарлы жеткіліксіздік, лимфоциттердің профиль, перфорин.

Л. С. Каюпова, Н. В. Кравцова, Л. С. Дзоз, А. М. Курманова

Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии МЗ и СР РК, Алматы, Казахстан

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Аннотация. В результате проведенных исследований установлен характер изменений количественных и функциональных параметров иммунной системы у беременных III триместра, рожениц, родильниц и новорожденных при плацентарной недостаточности. Выявлена разбалансировка показателей субпопуляционного состава лимфоцитов, увеличение ранней активации и функциональной цитотоксической активности иммунокомпетентных клеток на системном и локальном уровне. Полученные изменения указывают на нарушение иммунорегуляторных механизмов в системе мать-плацента-плод при плацентарной недостаточности и необходимости проведения соответствующей коррекции.

Ключевые слова: плацентарная недостаточность, субпопуляционный профиль лимфоцитов, перфорин.

Сведение об авторе

Каюпова Лаура Саясатовна – д. м. н., проф., РГП на ПХВ «НЦАГиП» МЗ и СР РК; kls-5858@mail.ru

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 30 – 33

UDC 619:616.98

A. D. Dauilbai, R. A. Abildaeva, G. S. Rysbayeva, A. A. Abubakirova, A. A. Ospanova

M. Auezov South Kazakhstan State University, Shymkent, Kazakhstan.

E-mail: rozita@mail.ru

**PRODUCTION AND EVALUATION
OF TOXOPLASMA ERYTHROCYTES DIAGNOSTICUMS**

Abstract. Reasons of the prevalence of toxoplasma depending on spread of them in animals' tissues and cells are given in this article. Studies of toxoplasma show that they cause huge economic damage in livestock. During the testing of the purity of the antigens for obtainment of antigenic ED of toxoplasma in RHGR there were used large spread of agents of infectious diseases, parasitic diseases and immune serum against the owner of the parasite (white mouse).

In order to test the sensitivity of Toxoplasma antigen erectile dysfunction there were used a series of blood serum obtained from various animals. As a result of all KGAR blood serum of animals have shown a positive result. Normal serum of the same animals on KGAR with Toxoplasma antigen with ED have all shown negative results.

During the test the purity of the obtained ED antigen Toxoplasma cell-bound immune serum were used against widespread in KGAR - infectious, invasive and parasitic diseases and parasites from the owner (white mice).

For comparative studies of antigenic ED of toxoplasma it was taken ED produced by standard antigens used in component binding reaction and RHGR was used.

Keywords: toxoplasma, invasive, infection, antigen, erythrocytes.

Toxoplasma fraction for refined by immunosorbents is used to receive toxoplasma antigenic erythrocyte diagnosticums (ED).

Approval of the antigen in red blood cells were used such chemical substances: tannin ("tan"), chromium chloride ("chch"), rīvol ("rive"), amidol ("amide") and aldehyde glyutar ("GLA").

Approval of red blood cells by antigen rivanol (Şamardīn Karalnik, 1978).

2.5% of the amount of red blood cells mixed with 1 dose of antigen, which is added to a solution of 1 dose 0.02% rivanol. After the mixture is thoroughly mixed for 120 minutes at 45⁰C to water bath. After that the red blood cells are triple rinsed off with 0.07% saline with gelatin.

0.5% of the diagnosticums is prepared by washed erythrocytes sediment. Approval of red blood cells by antigen- chromium chloride (Şamardīn Karalnik, 1978).

1 dose of 20% of the red blood cells is mixed with 5 dose antigen, 5 dose of 0.42% chromium chloride is added to a solution after thoroughly shaking the mixture is stayed for 5-6 minutes at 18-20⁰C. Then erythrocytes are flushed three times with 0.05% normal rabbit serum (NRS) saline.

0.5% diagnosticums is prepared by erythrocytes sediment.

Approval of red blood cells by antigen amidol (Kuzmin, Karalnik, 1985).

2 dose of 20% of red blood cells is mixed with 1 dose of antigen, 0.2 dose of 0,41-0,43% amidol solution is added. After the mixture is thoroughly shaken, erythrocytes are flushed three times with 0.05% normal rabbit serum (NRS) saline.

0.5% diagnosticums is prepared by erythrocytes sediment.

Approval of red blood cells by antigen glyutar aldehyde (Shamardin, Karalnik, 1981).

1 dose of 10% of red blood cells is mixed with 1 dose of antigen, 0.2 dose of 2.5% glyutar aldehyde is added. After the mixture is thoroughly beaten for 120 minutes at 54-55⁰C in water bath. Then erythrocytes are flushed with 0.05% normal rabbit serum (NRS) saline.

0.5% diagnosticums is prepared by erythrocytes sediment.

Approval of red blood cells by antigen tannin (Voyden, 1951).

1 dose of 0.05% erythrocytes is mixed with 1 dose of 5% tannin solution. Well-beaten red blood cells are stayed at 37⁰C for 15 minutes in water bath. After that the red blood cells are flushed with saline twice. Tannin-contained 1 dose of 5% erythrocytes is mixed with 1 dose of antigen. After the mixture is thoroughly shaken for 120 minutes at 45⁰C is kept in the water bath. Then erythrocytes are flushed with 0.05% normal rabbit serum (NRS) saline three time.

0.5% diagnosticums is prepared by erythrocytes sediment.

The determination of toxoplasma antigen optimal size.

During the approval of toxoplasma antigen with of red blood cells for ED-s production it is need to find the optimal size. To do this, several antigen solutions are prepared in 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, etc. The ED-s sensitivity is tested by approval of red blood cells with these solutions. Studies show that the minimum amount of antigen is used for ED-s obtained by rivanol (Table 1). During amidol, glyutar aldehydes, chromium chloride methods the antigen optimal size is taken from 1:2 solutions, tannin shows 1:4, and rivanol 1: 8.

Table 1 – The determination of toxoplasma antigen optimal size ED preparation

The use of substances	<i>Antigen solution</i>						
	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
Tannin	–	1:400	1:3200	1:800	1:200	–	–
Glyutar aldehyde	1:200	1:800	1:100	–	–	–	–
Chromium chloride	1:100	1:800	1:100	–	–	–	–
Amidol	–	1:800	1:200	–	–	–	–
Rivanol	–	1:400	1:800	1:1280	1:1600	1:400	–
"–" – undesirable reaction.							

During the studies of ED antigenic sensitivity of toxoplasma and self-features were used homologous toxoplasma blood serums and heterogeneous: beznoitic, sarkosporodic as well as widespread infection and invasion of aggressions against: tuberculosis, brucellosis, tripanosoma, echinococcus blood serum. In addition, to determine antigen absence in mixture of parasite antigen mass of white mouse (the owner of the parasite) was used the immune serum.

During study of ED antigenic sensitivity of toxoplasma and self-features was used reverse heamoglyutination reaction (RHGR) (Table 2).

During studies of EDs in RHGR by different methods of toxoplasma antigen showed the sensitivity is following ED (xp), ED (glu) and ED (amide) – in 1: 800, ED (tan) – 1: 3200, and ED (riv) – 1: 12800. ED antigenic sensitivity of toxoplasma by rivanol method was found to be 4-8 times more than the others. ED-s "xp", "glu" and "amide" methods show low quality.

Table 2 – Results of studies of ED antigenic sensitivity of toxoplasma and self-features by reverse heamoglyutination reaction (RHGR)

<i>Immune serum</i>	Erythrocyte diagnosticums				
	ED	ED-xp	ED-glu	ED-riv	ED-amide
Toxoplasmic	1:3200	1:800	1:800	1:12800	1:800
Benzoitic	–	1:50	1:50	–	1:50
Sarkosporodic	–	1:50	1:50	–	1:50
Tuberculosic	–	–	–	–	–
Brucellosic	–	–	–	–	–
tripanosomic	–	–	–	–	–
echinococcus	–	–	–	–	–
Against the owner of the parasite antigen	–	–	–	–	–
Normal serum	–	–	–	–	–

The accumulated results of the research methods of developing antigenic ED of toxoplasma among tested methods show that antigen approval by rivanol is effective. Sensitivity of toxoplasma and self-features was higher during using of rivanol method. At the same time, minimum size of toxoplasma antigen was obtained during using this method.

Thus the most effective method for antigenic ED of toxoplasma is approval toxoplasma antigen to formalin-docked red blood cells by rivanol using. Obtained antigenic ED of toxoplasma by this method shows higher self-features and sensitivity compare to other methods, and sensitivity was found to be 2-4 times more.

Further, to study epizootic and environmental properties of toxoplasma there was used rivanol method for scientific work to get erythrocyte diagnosticums. More than 100 thousand dosed antigenic ED of toxoplasma were developed by this method in parasitology laboratory and used in the production.

REFERENCES

- [1] Arhipov I.A., Zubov A.V., Abramov V.E., Tihanova N.V. Rasprostranenie gel'mintozov koshek v Rossii i ih terapija s primeneniem antigel'mintnogo lekarstvennogo sredstva Profender® proizvodstva firmy "Bajer" // *Materialy Moskovskogo mezhdunarodnogo veterinarnogo kongressa*. M., 2008. P. 35-37.
- [2] Arhipov I.A., Borzunov E.N., Shajkin V.I. Zooparazitozy, peredavaemye cheloveku ot sobak i koshek // *Materialy IX Moskovskogo mezhdunarodnogo veterinarnogo kongressa*. M., 2001. P. 230-231.
- [3] Arhipov I.A., Tihanova N.V., Kuz'michev V.V. Jepizootologija gel'mintozov koshek v urbanizirovannoj mestnosti // *Materialy IX Moskovskogo mezhdunarodnogo veterinarnogo kongressa*. M., 2003. P. 42-43.
- [4] Arhipov I.A. i dr. Rasprostranenie gel'mintozov sobak i koshek v Rossii i primenenie prazitela dlja bor'by s nimi // *Rossijskij veterinarnyj zhurnal*. M., 2005. N 2. P. 26-30.
- [5] Vedeneev S.A. Osnovnye parazitozy plotjadnyh v uslovijah Nizhnego Povolzh'ja: Avtoref. ... dokt. vet. nauk. M., 2005. 40 p.
- [6] Lavrova N.A. Patofiziologija i korrektnaja terapija gel'mintozov koshek i sobak // *Veterinarija*. M., 2005. P. 44-47.
- [7] Ataev A.M., Ahmetrabadanov H.A., Shirinov Sh.A. Gel'mintofauna sobak i koshek v g.Mahachkala // *Materialy dokladov nauchnoj konferencii «Teorija i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami (zoonozy)»*. M., 2002. Vyp. 3. P. 26-27.
- [8] Shibitov S.K. Ocenka raznyh metodov lechenija hronicheskogo opistorhoza koshek bil'tricidom v uslovijah kliniki // *Materialy dokladov nauchnoj konferencii «Teorija i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami (zoonozy)»*. M., 2007. Vyp. 8. P. 387-389.
- [9] Vasil'eva V.A., Nebajkina L.A., Krasovitova O.V. Cistoizosporoz koshek // *Materialy dokladov nauchnoj konferencii «Teorija i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami (zoonozy)»*. M., 2002. Vyp. 3. P. 79.
- [10] Danilova A.M. i Sidorkin V.A. Jepizootologija sarkoptoidozov plotjadnyh v g. Saratove // *Materialy dokladov nauchnoj konferencii «Teorija i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami»*. M., 2007. Vyp. 8. P. 102-104.
- [11] Peshkov R.A. Gel'mintofauna sobak i koshek v uslovijah g. Moskvy // *Materialy dokladov nauchnoj konferencii «Teorija i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami»*. M., 2007. Vyp. 8. P. 277-278.
- [12] Baker K.P. Parasites of cats // *Irish vet. J. Dublin*, 1977. Vol. 31, N 2. P. 141-147.
- [13] Soulsby E.J. Parasitic zoonosis, clinical and experimental studies. London, 1974. P. 383-390.
- [14] Prokopenkova I.A., Arhipov I.A. Analiz zarzhennosti sobak i koshek *Ctenocephalides felis* v uslovijah Moskvy // *Materialy dokladov nauchnoj konferencii «Teorija i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami»*. M., 2005. Vyp. 6. P. 292-293.
- [15] Sulajmanova G.M., Abdykerimov K.K. Teniidozy sobak i koshek v g.Bishkek // *Materialy dokladov nauchnoj konferencii «Teorija i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami»*. M., 2005. Vyp. 6. P. 343-344.
- [16] Smirnov G.G. *Materialy po gel'mintofaune koshek Srednej Azii // Gel'mintologicheskij sbornik, posvjashhenyj 40-letiju nauchnoj, pedagogicheskoj i organizacionno-obshhestvennoj dejatel'nosti akademika K. I. Skryabina*. M.; L.: Izd. AN SSSR, 1946. P. 245-246.
- [17] Shalmenov M.Sh., Kurakova Z.G. K voprosu o gel'mintofaune dikih plotjadnyh v Zapadno-Kazahstanskoj oblasti // *Materialy mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii «Sostojanie i perspektivy razvitija veterinarnoj nauki i praktiki» posvjashhennoj gosudarstvennoj programme «AUL»*. Almaty, 2003. P. 260-263.
- [18] Shalmenov M.Sh. Gel'minty sobak, koshek i ih jepizootologicheskoe zhanenie // *Razvitie narodnogo hozjajstva v Zapadnom Kazahstane: potencial, problemy i perspektivy, posvjashhennoj 40-letiju Zapadno-Kazahstanskogo agrarnotekhnicheskogo universiteta*. Ural'sk, 2003. P. 297-298.
- [19] Volichev A.N. Jepizootologija osnovnyh parazitozov plotjadnyh v uslovijah goroda Moskvy // *Trudy VIGIS*. M., 2003. T. 39. P. 55-84.
- [20] Esaulova N.V. Gel'mintozy sobak i koshek, opasnye dlja cheloveka i ih diagnostika // *Veterinarija*. M., 2000. N 6. P. 22-29.

А. Д. Дауылбай, Р. А. Абилдаева, Г. С. Рысбаева, А. А. Абубакирова, А. А. Оспанова

Южно-Казахстанский государственный университет им М. Ауэзова, Шымкент, Казахстан

ПРОИЗВОДСТВО И ОЦЕНКА ТОКСОПЛАЗМ ЭРИТРОЦИТАХ ДИАГНОСТИКУМЫ

Аннотация. Причины распространенности токсоплазм в зависимости от распространения их в животных тканях и клетках приводится в этой статье. Исследования показывают, что токсоплазмы они причиняют огромный экономический ущерб в животноводстве. Во время тестирования чистоты антигенов антигенной получением ЭД токсоплазмы в КГАР-использовали большое распространение возбудителей инфекционных заболеваний, паразитарных заболеваний и иммунной сыворотки против хозяина паразита (белая мышь). Для того, чтобы проверить антигенную чувствительность Токсоплазмы к эректильной дисфункции, были использованы серии сыворотки крови полученных от разных животных. По результатам КГАР все сыворотки крови животных показали положительный результат. Нормальная сыворотка этих же животных на КГАР при антигенной токсоплазме при ЭД все показали отрицательный результат.

Во время испытании чистоты полученных ЭД антигенной токсоплазмы были использованы иммунные сыворотки крови против широко распространенных в КГАР- возбудителей инфекционных, инвазивных и паразитарных заболеваний и от владельцев паразитов (белые мыши).

Для получения сравнительных исследований антигенной ЭД токсоплазмы был взят ЭД, полученный с помощью стандартных антигенов, используемых в реакции связывания компонентов и КГАР- КБР использовали.

Ключевые слова: токсоплазм, инвазивная, инфекция, антиген, эритроцитах.

А. Д. Дауылбай, Р. А. Абилдаева, Г. С. Рысбаева, А. А. Абубакирова, А. А. Оспанова

М. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан Мемлекеттік университеті, Шымкент, Қазақстан

ТОКСОПЛАЗМАНЫҢ ЭРИТРОЦИТТІ ДИАГНОСТИКУМЫН АЛУ ЖӘНЕ ӨНДІРІСТЕ БАҒАЛАУ

Аннотация. Мақалада токсоплазманың кең таралуы оның жануарлар ағзасындағы барлық ұлпалар мен жасушаларында кездесіп, өмір сүре алуында. Токсоплазманы зерттеу, оның мал шаруашылығына орасан зор экономикалық зиян келтіретінін анықтады. Токсоплазманың антигендік ЭД алу үшін пайдаланылған антигендер тазалығын тексеру барысында КГАР-на кең көлемде тараған инфекциялық, инвазиялық аурулар қозғыштарына және паразит иесіне (ақ тышқан) қарсы алынған иммунды қан сарысулары пайдаланылды.

Токсоплазманың антигендік ЭД сезімталдығы тексеру үшін токсоплазмалық қан сарысуының әртүрлі жануарлардан алынған сериялары пайдаланылған еді. КГАР нәтижесінде барлық жануарлар қан сарысуы оң көрсеткіш көрсетті. Осы жануарлардың қалыпты қан сарысулары КГАР-да токсоплазманың антигендік ЭД-мен түгел теріс көрсеткіш көрсетті.

Әрбір дайындалған эритроцитті диагностикум сериясының сезімталдық және өзіне тәндік қасиеттері КГАР қою арқылы тексерілдігі және токсоплазманың антигендік ЭД алу үшін пайдаланылған антигендер тазалығын тексеру барысында КГАР-на кең көлемде тараған инфекциялық, инвазиялық аурулар қозғыштарына және паразит иесіне (ақ тышқан) қарсы алынған иммунды қан сарысулары пайдаланылды.

Токсоплазманың антигендік ЭД салыстырмалы тексеру мақсатында компонентті байлау реакциясына қолданылатын стандартты антигенмен жасалынған ЭД алынды және КГАР мен қатар КБР қойылатыны туралын айтылған.

Тірек сөздер: токсоплазма, инвазиялық, жұқпалы, антиген, эритроцит.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 34 – 43

G. S. Mukiyanova¹, A. Zh. Akbassova¹, Maria J. Pozo², R. T. Omarov¹

¹L. N. Gumilyov Eurasian National University, Astana, Kazakhstan,

²Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Granada, Spain.

E-mail: gmukiyanova@gmail.com, a.j.alua@gmail.com, mjpozo@eez.csic.es, romarov@gmail.com

Tomato bushy stunt virus (TBSV) ENCODED CAPSID PROTEIN P41 TRIGGERS RESISTANCE IN *Solanum lycopersicum*

Abstract. Efficient infection of *Nicotiana benthamiana* plants with wild type *Tomato bushy stunt virus (TBSV)* is influenced by expression of protein P19, which is a potent RNAi suppressor. The capsid protein (CP) P41 is required for virion formation and facilitates long distance movement of the virus. Along with RNAi suppression, P19 protein is involved in the development of severe disease symptoms in *N. benthamiana* and elicitation of Hypersensitive Response (HR) in tobacco. Our results show that wild type TBSV infection of *Solanum lycopersicum* (cv. Money maker) triggers resistance to the virus. Despite detectable accumulation levels of P19 protein in leaf and root tissues, the infection was not accompanied with obvious disease symptoms. Contrastingly, inoculation with TBSV mutant, lacking capsid protein P41 demonstrated susceptibility to TBSV. Moreover, Chl-FI analysis of plants infected with virus exhibited significant changes in metabolism. Our data suggests that in response to CP expression tomato plants have evolved defense mechanisms to resist viral infection.

Key words: *Tomato bushy stunt virus*, capsid protein, virions, resistance, *Solanum lycopersicum*.

УДК 578

Г. С. Мукиянова¹, А. Ж. Акбасова¹, М. Х. Позо², Р. Т. Омаров¹

¹Евразийский национальный университет им. Л. Н. Гумилева, Астана, Казахстан,

²Испанский национальный исследовательский центр, Гранада, Испания.

КАПСИДНЫЙ БЕЛОК P41 ВИРУСА *Tomato bushy stunt virus (TBSV)* АКТИВИРУЕТ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ У РАСТЕНИЙ ВИДА *Solanum lycopersicum*

Аннотация. Кодированный вирусом *Tomato bushy stunt virus (TBSV)*, белок P19 является мощным супрессором РНК интерференции и играет важную роль при инфекции растений *Nicotiana benthamiana*, которая характеризуется ярко выраженными симптомами заболевания и системным коллапсом. Кроме того, белок P19 является элиситором гиперчувствительного ответа у *Nicotiana tabacum*. Капсидный белок вируса P41 формирует вирионы и способствует развитию системной инфекции. Полученные нами данные показали, что при инфекции диким типом TBSV у растений вида *Solanum lycopersicum* (сорт Money maker) активируется резистентный ответ. Несмотря на системную аккумуляцию белка супрессора P19 в листьях и корнях, у растений не проявляются видимые симптомы заболевания. Однако, анализ Chlorophyll Fluorescence Imaging system (Chl-FI) показал, что в инфицированных вирусом растениях происходят значительные изменения метаболизма. Более того, инфекция растений мутантом TBSV по капсидному белку приводит к системному некрозу гибели растений. Полученные данные указывают на то, что у томатов выработаны защитные механизмы в ответ на экспрессию капсидного белка P41 вируса TBSV.

Ключевые слова: *Tomato bushy stunt virus (TBSV)*, капсидный белок, вирион, *Solanum lycopersicum*, резистентность, РНК-интерференция.

Введение. Устойчивость растений к вирусам обусловлена различными уровнями природного и индуцированного иммунитета высших растений, такие как гиперчувствительный ответ (ГО), системная приобретенная устойчивость (СПУ) и РНК-интерференция.

Гиперчувствительный ответ ассоциирован с программированной клеточной смертью отдельных клеток для локализации инфекции. Данный процесс сопровождается накоплением активных форм кислорода в местах проникновения вируса и аккумуляцией некоторых фитогормонов [1, 2]. Индукция СПУ инициализируется путем распознавания специфичных патогенов и распространения сигналов по всему организму для повышения системной устойчивости растений к последующей инфекции. Известно, что салициловая кислота (СК) является ключевой сигнальной молекулой для активации как ГО, так и механизма системной приобретенной устойчивости (СПУ) [3, 4].

РНК интерференция является регулятором экспрессии генов у эукариот, а также функционирует как защитный механизм против вирусов в растениях [5, 6]. Механизм действия РНК интерференции состоит из нескольких консервативных этапов. Первый этап, образование дуплексов коротких интерферирующих РНК молекул (киРНК) при действии ферментов эндонуклеазы DICER, которые имеют активность РНК-азы типа III. Dicer комплекс генерирует дуплексы двуцепочечных киРНК длиной от 20 до 30 нт, но в основном киРНК длиной 21 нт [7-13]. На следующем этапе киРНК в расплетенном одноцепочном виде встраиваются в эффекторный белковый комплекс, именуемый RISC (RNA induced silencing complex), тем самым запускается активация RISC. Активированный RISC, связанный с киРНК функционирует, как сканер, для распознавания комплементарных целевых одноцепочечных РНК молекул в цитоплазме, с последующей ферментативной деградацией либо блокированием трансляции [14-16]. Однако, вирусы растений выработали способность блокировать защитный механизм с помощью специализированных белков супрессоров [17].

Tomato bushy stunt virus представитель рода *Tombusvirus*, семейства *Tombusviridae* [18]. Данный вирус относится к ряду вредоносных фитопатогенных вирусов [19] и является удобной модельной системой для изучения взаимодействий между растениями и вирусами [20].

Геномная структура TBSV представлена в виде линейной одноцепочечной РНК молекулы, длиной 4778 нт. В геномной РНК расположено 5 открытых рамок считывания (англ. Open reading frame, ORF), с которых начинается трансляция пяти основных белков вируса (рисунок 1) [20]. Рентгенструктурный анализ выявил изометрическую структуру вирионов вируса, внутри которых, упаковывается геномная РНК. Вирионы вируса диаметром 30 нм, формируются из одинаковых 180 субъединиц капсидного белка р41 [21, 22].

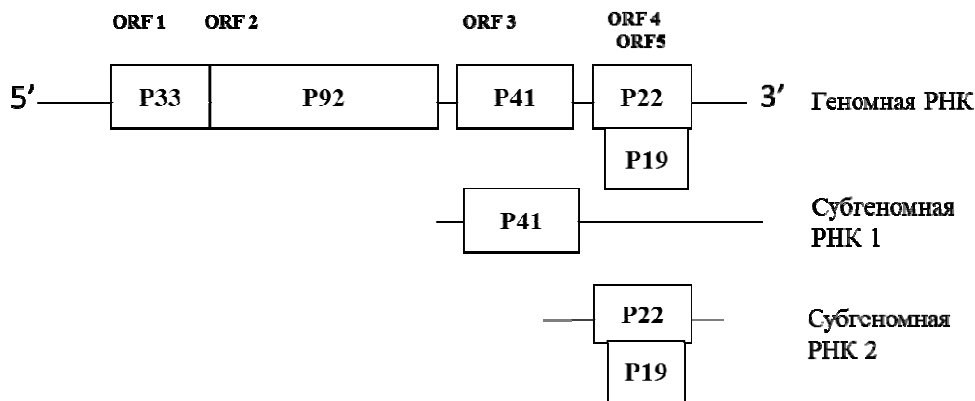


Рисунок 1 – Линейная структура генома TBSV дикого типа.

Прямоугольники указывают очередность расположения генов TBSV с соответствующими названиями белков

Со стороны 5' конца генома вируса расположены ORF1 и ORF2, старт кодоны белков P33 и P92, которые обеспечивают экспрессию фермента РНК-зависимой РНК-полимеразы, то есть репликационного белка вируса [23]. ORF3 кодирует капсидный белок, молекулярной массой 41 кДа, который экспрессируется с субгеномной РНК1 [24]. В 3' OH-терминальной части генома расположены гены, кодирующие белки P22 и P19. Старт кодон P19 белка расположен внутри кодирующей последовательности P22 [24]. Белок р22 необходим для транслокации вируса из клетки в

клетку [25]. Основная функция белка P19 заключена в супрессии РНК-интерференции растений путем связывания коротких молекул РНК (ки РНК) [26-28].

Функции вирусных белков заключаются не только в обеспечении важных процессов в жизненном цикле вируса, такие как репликация, сборка вирусных частиц, транслокация, но и в участии в процессах подавления иммунитета растений. Целью данной работы является изучение влияния экспрессии белков TBSV на активацию защитных механизмов растений.

Материалы и методы

В экспериментах использованы растения, *Solanum lycopersicum* сорта Money Maker и его трансгенный NahG мутант, который несет бактериальный ген NahG (Salicylate hydroxylase). У NahG мутантов томата не аккумулируется эндогенная салициловая кислота [29, 30]. В качестве инфекционного материала был использован вирус дикого типа TBSV WT и его мутант по капсидному белку TBSV-ΔP41.

In vitro транскрипция и инокуляция растений. Вирусные РНК-транскрипты были получены *in vitro* транскрипцией по методу описаному в работе [27]. На 50 мкл реакционной смеси было использовано 10 мкл буферной смеси, 10 мкл 10 мМ раствора рибонуклеотидов, 2 мкл фермента T7 РНК полимеразы и матричной линейризованной кДНК вируса в концентрации 1–2 мкг. Реакционная смесь инкубировалась при 37С° в течение 2 часов. Для инокуляции растений *in vitro* синтезированные транскрипты были разведены буфером для инокуляции (10 мМ фосфатный буфер, рН 6.8) в пропорции 1/5. Инокуляция проводилась методом механического растирания листовых поверхностей растений.

ПААГ электрофорез с натрий додецилсульфатом и иммуноблоттинг. Аккумуляция вирусных белков было определена методом иммуноблоттинга по описано в работе Р. Омарова [27, 31]. Образцы из контрольных и инфицированных растений были гомогенизированы в ступке с добавлением экстракционного буфера (200 мМ Трис, рН 7.4 и 10 мМ ЭДТА) в пропорции 100 мг образца на 300 мкл буфера, затем дважды центрифугированы при 10 тыс. оборотов, полученная жидкая фаза в объеме 50 мкл был перенесена в чистую пробирку, соединена с буфером для денатурации (1:3) и инкубирована при температуре 95 С° в течении 2-5 минут. Денатурированные образцы были разделены в полиакриламидном геле при напряжении 90В в концентрирующем и 120 В в разделяющем геле в камере для вертикального геля электрофореза (Mini protean TS, BioRad). Перенос белков на нитроцеллюлозную мембрану проводился при постоянной силе тока 250 Ма в течении 2 часов в камере для трансфера Mini Trans-Blot cell, Bio Rad. Эффективность переноса подтверждалась инкубированием в 5% растворе Ponceau S (Sigma). Для блокирования мембраны использовано сухое молоко растворенное в буфере 1xTBST (Трис, натрий хлор, рН 7.4) с добавлением Твин 20. Для определения вирусного белка P19 были использованы кроличьи антитела против P19 белка в разведении 1:3000, детекция и визуализация проводилась с вторичными антителами, конъюгированные с щелочной фосфатазой (Sigma). В качестве субстрата для щелочной фосфатазы был использован готовый раствор NBT-BCIP (Sigma).

Метод ChL-F. Фотосинтетические параметры были определены с помощью аппарата Chl-F imaging, Open FluorCam FC 800-O (PSI, Чехия) флуорометр которого, контролируется программой FluorCam7 (PSI). Система Chl-FI, использованная в данной работе, полностью компьютеризирована. Принцип работы направлен на активацию, визуализацию и анализ хлорофильной флюоресценции. Метод состоит в том, что растения загружались в камеру, оснащенную излучающей активные лучи лампой и фотокамерой (B&W CCD camera), которая визуализирует флюоресценцию. Измерения проводились на 3,7,14 и 21 день после инокуляции по описанию [32].

Результаты и обсуждение

Инфекция TBSV в растениях *N. benthamiana* сопровождается появлением ярко выраженных симптомов заболевания в виде мозаичности, сморщенности и некроза апикальных листьев. После двух недель инфекции растения подвергаются полному отмиранию надземной части. Это связано с тем, что в инфицированных растениях подавлен механизм антивирусной РНК интерференции, так как вирусный белок супрессор P19 связывает киРНК, тем самым блокируя активацию RISC

комплекса [27, 31]. Было доказано, что в растениях *N. benthamiana* инфицированных TBSV индуцируется образование RISC. Защитный рибонуклеазный комплекс приводит к специфической деградации РНК вируса и выздоровлению растений [33].

В наших экспериментах с *Solanum lycopersicum* сорта Money maker визуальная оценка симптомов вирусной инфекции не выявила значимых проявлений заболевания. В отличие от *N. Benthamiana*, на десятый день после инокуляции томаты продолжали свой рост и развитие без видимых системных симптомов (рисунок 2). После инокуляции вирусными транскриптами на поверхности листьев томатов проявлялись локальные, обесцвеченные участки (рисунок 3). Мутантные линии NahG также демонстрировали локальные симптомы резистентности.



Рисунок 2 – Симптомы инфекции на листьях томатов сорта Money maker на 10 дни

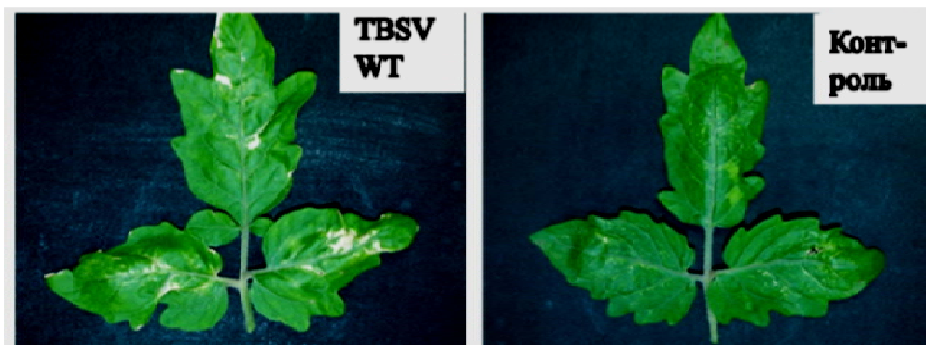


Рисунок 3 – Симптомы инфекции на листьях томатов сорта Money maker на 10 дни.
Справа – здоровое растение, слева – инфицированное TBSV WT

Иммунодетекция вирусного супрессора Р19 на 14 дни показала аккумуляцию белка Р19 листьях томатов. Более того, белок Р19 был также обнаружен в корнях растений. Однако его аккумуляция была значительно меньше по сравнению с листьями (рисунок 4).

Как известно, при вирусной инфекции в растениях происходят локальные изменения в метаболизме, в листьях наблюдается неоднородная ассимиляция CO_2 , накопление крахмала и вторичных метаболитов, нарушение флуоресценции хлорофиллов [32, 34].

Для того, чтобы оценить влияние вирусной инфекции на процессы метаболизма томатов, не смотря на отсутствие видимых симптомов, была использована технология Chlorophyll Fluorescence Imaging system (Chl-FI). Данная технология позволяет анализировать степень изменения метаболизма в инфицированных растениях [35, 36].

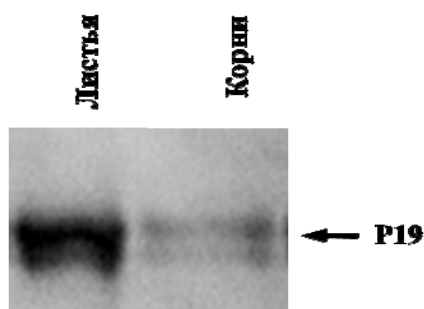


Рисунок 4 – Иммуноблоттинг P19 белка в TBSV инфицированных томатах Money maker на 14 дни

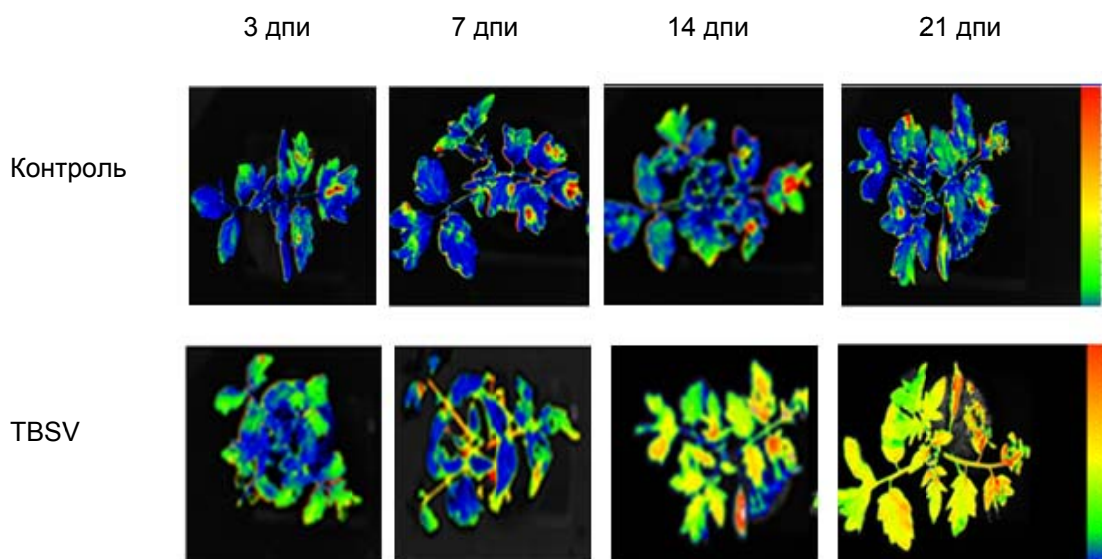


Рисунок 4 – Chl-FI исследования проведенные на томатах сорта Money maker. Верхняя панель – здоровые растения, нижняя панель – инфицированные TBSV WT томаты

Полученные нами данные показали, что листья здоровых растений флуоресцируют интенсивным синим цветом, это свидетельствует о достаточном количестве хлорофиллов. Такая тенденция сохранялась на протяжении всего эксперимента с 3 по 21 день после инокуляции. Заметные слабые участки красного цвета указывают на присутствие вторичных метаболитов, что является естественным для здоровых растений. Однако, в инфицированных растениях было зафиксировано интенсивное желто-красное свечение на 14 и 21 дни (рисунок 4). Эти данные показывают, что в растениях при инфекции вирусом происходят заметные изменения в метаболизме, такие как нарушения фотосинтеза и накопление вторичных метаболитов.

Для изучения возможного влияния капсидного белка P41 на активацию защитных механизмов растения были инокулированы транскриптами мутанта вируса TBSV-ΔP41, дефектные в экспрессии капсидного белка P41 (рисунок 5).

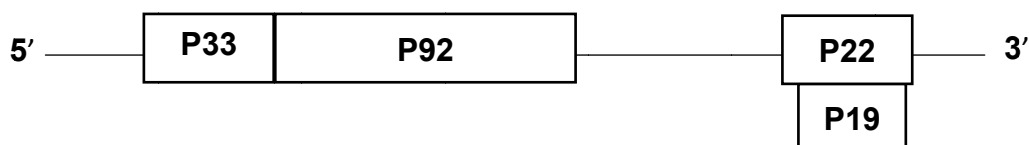


Рисунок 5 – Схема организации геномат мутанта TBSV-ΔP41

Изначально, при инфекции мутантом TBSV-ΔP41 у томатов развивался локальный некроз, начинающийся с краевых участков листьев. Такие симптомы были характерны для инфицированных томатов сорта Money maker и мутантной линии NahG (рисунок 6).

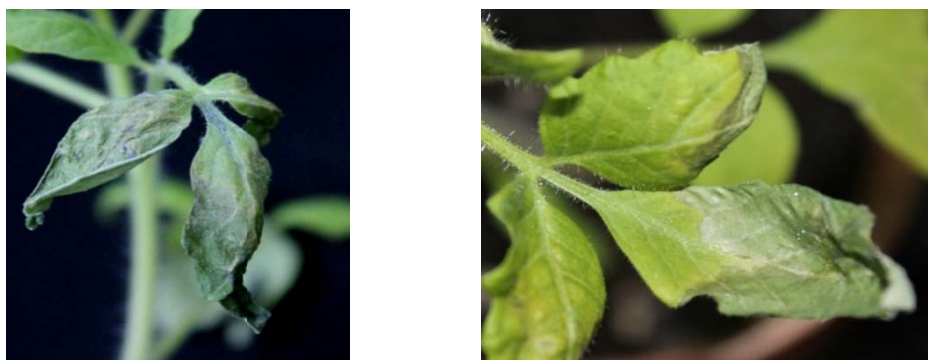


Рисунок 6 – Локальный некроз листьев томатов 5 день после инокуляции.
Слева – сорт Money maker, справа – мутант NahG

Более того, на 8–10 день после инокуляции инфекция приводила к системному некрозу томатов (рисунок 7), как и при инфекции растений *N. benthamiana* диким типом вируса.



Рисунок 7 – Системный некроз растений томатов сорта Money maker на 10 день после инокуляции

Проявление локального и системного некроза происходило также у трансгенного мутанта NahG. Данный мутант был использован для того, чтобы изучить возможное влияние салициловой кислоты на развитие устойчивости томатов. Полученные данные указывают на то, что проявление симптомов заболевания не зависит от накопления салициловой кислоты. Исследования по изучению взаимодействий между растениями и патогенами показали, что активация защитных механизмов, контролируемых салициловой кислотой не всегда связана с развитием симптомов заболевания и уровнем аккумуляции патогена [30, 37].

Вирусы используют кодируемые ими белки в процессах подавления защитных механизмов растений. Например, у вируса желтой лихорадки (*Yellow fever virus*) капсидный белок связывает двуцепочечные РНК и служит супрессором РНК интерференции [38]. При инфекции *N. Benthamiana* капсидный белок р41 TBSV способствует системному распространению вируса по растению [39]. У вируса TBSV белок P19 является элиситором гиперчувствительного ответа у представителей рода *Nicotiana*, такие как *N. tabacum*, *N. sylvestris*, *N. bonariensis* [40, 41]. В растениях *Capsicum annuum* белок P19 необходим для системной инфекции [41]. Однако, основная его функция связана с супрессией РНК интерференции [28].

Полученные нами данные показали, что при инфекции вирусом дикого типа, который кодирует капсидный белок Р41 и белок супрессор 19 не было проявления ярко выраженных симптомов вирусного заболевания. Однако были выявлены значительные изменения в метаболизме растений. Более того, инфекция мутантом вируса по капсидному белку приводила к системному некрозу и гибели растений. Использование мутанта томатов по салициловой кислоте NahG не выявило возможную взаимосвязь между устойчивостью томатов к TBSV с СК-зависимыми защитными путями. Таким образом, было определено, что устойчивость томатов обусловлена экспрессией капсидного белка Р41 вируса. Вероятно, что у томатов выработан механизм устойчивости к TBSV, который основан на первичном распознавании капсидного белка Р41 в качестве элиситора резистентности.

Финансирование. Работа выполнена в рамках проекта по грантовому финансированию: 5344/ГФ4 «Участие вирусных супрессоров РНК-интерференции в активации “окислительного взрыва” в растениях при вирусной инфекции» и по бюджетной программе 217 «Развитие науки» по проекту «Разработка биотехнологии создания трансгенных линий растений с использованием направленного подавления РНК-интерференции супрессорным белком вируса».

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Lee W.S., Fu S.F., Li Z., Murphy A.M., Dobson E.A., Garland L., Chaluvadi S. R., Lewsey M.G., Nelson R.S., Carr J.P. Salicylic acid treatment and expression of an RNA-dependent RNA polymerase 1 transgene inhibit lethal symptoms and meristem invasion during tobacco mosaic virus infection in *Nicotiana benthamiana* // *BMC Plant Biol.* – 2016. – Т. 16, № 1. – С. 15.
- [2] Yergaliyev T.M., Nurbekova Z., Mukiyanova G., Akbassova A., Sutula M., Zhangazin S., Bari A., Tleukulova Z., Shamekova M., Masalimov Z.K., Omarov R.T. The involvement of ROS producing aldehyde oxidase in plant response to Tombusvirus infection // *Plant Physiol Biochem.* – 2016. – Т. 109. – С. 36-44.
- [3] Alazem M., Lin N.S. Roles of plant hormones in the regulation of host-virus interactions // *Mol Plant Pathol.* – 2015. – Т. 16, № 5. – С. 529-40.
- [4] Carr J.P., Lewsey M.G., Palukaitis P. Signaling in induced resistance // *Adv Virus Res.* – 2010. – Т. 76. – С. 57-121.
- [5] Baulcombe D. RNA silencing in plants // *Nature.* – 2004. – Т. 431, № 7006. – С. 356-63.
- [6] Li F., Ding S.W. Virus counterdefense: diverse strategies for evading the RNA-silencing immunity // *Annu Rev Microbiol.* – 2006. – Т. 60. – С. 503-31.
- [7] Bernstein E., Caudy A.A., Hammond S.M., Hannon G.J. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference // *Nature.* – 2001. – Т. 409, № 6818. – С. 363-366.
- [8] Ding S.W., Lu R. Virus-derived siRNAs and piRNAs in immunity and pathogenesis // *Curr Opin Virol.* – 2011. – Т. 1, № 6. – С. 533-44.
- [9] Maillard P.V., Ciaudo C., Marchais A., Li Y., Jay F., Ding S.W., Voinnet O. Antiviral RNA interference in mammalian cells // *Science.* – 2013. – Т. 342, № 6155. – С. 235-8.
- [10] Matranga C., Zamore P.D. Plant RNA interference in vitro // *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* – 2004. – Т. 69. – С. 403-8.
- [11] McCaffrey A.P., Meuse L., Pham T.T., Conklin D.S., Hannon G.J., Kay M.A. RNA interference in adult mice // *Nature.* – 2002. – Т. 418, № 6893. – С. 38-9.
- [12] Omarov R. T., Bersimbai R. I. Biochemical mechanisms of suppression of RNA interference by plant viruses // *Biochemistry-Moscow.* – 2010. – Т. 75, № 8. – С. 965-970.
- [13] Tang G., Zamore P.D. Biochemical dissection of RNA silencing in plants // *Methods Mol Biol.* – 2004. – Т. 257. – С. 223-44.
- [14] Herr A.J., Baulcombe D.C. RNA silencing pathways in plants // *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* – 2004. – Т. 69. – С. 363-70.
- [15] Meister G., Landthaler M., Patkaniowska A., Dorsett Y., Teng G., Tuschl T. Human Argonaute2 mediates RNA cleavage targeted by miRNAs and siRNAs // *Mol Cell.* – 2004. – Т. 15, № 2. – С. 185-97.
- [16] Zamore P.D., Tuschl T., Sharp P.A., Bartel D.P. RNAi: double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals // *Cell.* – 2000. – Т. 101, № 1. – С. 25-33.
- [17] Omarov R.T., Bersimbai R.I. Biochemical mechanisms of suppression of RNA interference by plant viruses // *Biochemistry (Mosc).* – 2010. – Т. 75, № 8. – С. 965-70.
- [18] *Virus Taxonomy* / Под ред. Andrew M.Q. King M. J. A., Eric B. Carstens, Elliot J. Lefkowitz. – 9 изд. – USA: Elsevier Inc., 2012.
- [19] Scholthof K.B., Adkins S., Czosnek H., Palukaitis P., Jacquot E., Hohn T., Hohn B., Saunders K., Candresse T., Ahlquist P., Hemenway C., Foster G. D. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology // *Mol Plant Pathol.* – 2011. – Т. 12, № 9. – С. 938-54.
- [20] Yamamura Y., Scholthof H.B. Tomato bushy stunt virus: a resilient model system to study virus-plant interactions // *Mol Plant Pathol.* – 2005. – Т. 6, № 5. – С. 491-502.
- [21] Harrison S.C., Olson A.J., Schutt C.E., Winkler F.K., Bricogne G. Tomato bushy stunt virus at 2.9 Å resolution // *Nature.* – 1978. – Т. 276, № 5686. – С. 368-73.

- [22] Olson A.J., Bricogne G., Harrison S.C. Structure of tomato bushy stunt virus IV. The virus particle at 2.9 Å resolution // *J Mol Biol.* – 1983. – Т. 171, № 1. – С. 61-93.
- [23] Scholthof K. B., Scholthof H.B., Jackson A.O. The tomato bushy stunt virus replicase proteins are coordinately expressed and membrane associated // *Virology.* – 1995. – Т. 208, № 1. – С. 365-9.
- [24] Hearne P.Q. K. D.A., Hillman B.I., Morris T.J. The complete genome structure and synthesis of infectious RNA from clones of tomato bushy stunt virus. // *Virology.* – 1990. – Т. 177, № 1. – С. 141-51.
- [25] Scholthof H.B., Scholthof K.B., Kikkert M., Jackson A.O. Tomato bushy stunt virus spread is regulated by two nested genes that function in cell-to-cell movement and host-dependent systemic invasion // *Virology.* – 1995. – Т. 213, № 2. – С. 425-38.
- [26] Baulcombe D.C., Molnar A. Crystal structure of p19 - a universal suppressor of RNA silencing // *Trends in Biochemical Sciences.* – 2004. – Т. 29, № 6. – С. 279-281.
- [27] Omarov R., Sparks K., Smith L., Zindovic J., Scholthof H.B. Biological relevance of a stable biochemical interaction between the tombusvirus-encoded P19 and short interfering RNAs // *J Virol.* – 2006. – Т. 80, № 6. – С. 3000-8.
- [28] Scholthof H.B. The Tombusvirus-encoded P19: from irrelevance to elegance // *Nat Rev Microbiol.* – 2006. – Т. 4, № 5. – С. 405-11.
- [29] Gaffney T., Friedrich L., Vernooij B., Negrotto D., Nye G., Uknes S., Ward E., Kessmann H., Ryals J. Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance // *Science.* – 1993. – Т. 261, № 5122. – С. 754-6.
- [30] López-Gresa M.P., Lisón P., Yenush L., Conejero V., Rodrigo I., Bellés J.M. Salicylic Acid Is Involved in the Basal Resistance of Tomato Plants to Citrus Exocortis Viroid and Tomato Spotted Wilt Virus // *PLoS ONE.* – 2016. – Т. 11, № 11. – С. e0166938.
- [31] Omarov R.T., Ciomperlik J.J., Scholthof H.B. RNAi-associated ssRNA-specific ribonucleases in Tombusvirus P19 mutant-infected plants and evidence for a discrete siRNA-containing effector complex // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2007. – Т. 104, № 5. – С. 1714-9.
- [32] Perez-Bueno M.L., Ciscato M., VandeVen M., Garcia-Luque I., Valcke R., Baron M. Imaging viral infection: studies on *Nicotiana benthamiana* plants infected with the pepper mild mottle tobamovirus // *Photosynth Res.* – 2006. – Т. 90, № 2. – С. 111-23.
- [33] Omarov R.T., Ciomperlik J., Scholthof H.B. An in vitro reprogrammable antiviral RISC with size-preferential ribonuclease activity // *Virology.* – 2016. – Т. 490. – С. 41-8.
- [34] Perez-Bueno M.L., Pineda M., Cabeza F.M., Baron M. Multicolor Fluorescence Imaging as a Candidate for Disease Detection in Plant Phenotyping // *Front Plant Sci.* – 2016. – Т. 7. – С. 1790.
- [35] Baker N.R., Rosenqvist E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities // *J Exp Bot.* – 2004. – Т. 55, № 403. – С. 1607-21.
- [36] Balachandran S., Osmond C.B., Daley P.F. Diagnosis of the Earliest Strain-Specific Interactions between Tobacco Mosaic Virus and Chloroplasts of Tobacco Leaves in Vivo by Means of Chlorophyll Fluorescence Imaging // *Plant Physiol.* – 1994. – Т. 104, № 3. – С. 1059-1065.
- [37] Block A., Schmelz E., O'Donnell P.J., Jones J.B., Klee H.J. Systemic Acquired Tolerance to Virulent Bacterial Pathogens in Tomato // *Plant Physiology.* – 2005. – Т. 138, № 3. – С. 1481-1490.
- [38] Samuel G.H., Wiley M.R., Badawi A., Adelman Z.N., Myles K.M. Yellow fever virus capsid protein is a potent suppressor of RNA silencing that binds double-stranded RNA // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2016. – Т. 113, № 48. – С. 13863-13868.
- [39] Qu F., Morris T.J. Efficient infection of *Nicotiana benthamiana* by Tomato bushy stunt virus is facilitated by the coat protein and maintained by p19 through suppression of gene silencing // *Mol Plant Microbe Interact.* – 2002. – Т. 15, № 3. – С. 193-202.
- [40] Angel C.A., Schoelz J.E. A survey of resistance to Tomato bushy stunt virus in the genus *Nicotiana* reveals that the hypersensitive response is triggered by one of three different viral proteins // *Mol Plant Microbe Interact.* – 2013. – Т. 26, № 2. – С. 240-8.
- [41] Scholthof H.B., Scholthof K.B., Jackson A.O. Identification of tomato bushy stunt virus host-specific symptom determinants by expression of individual genes from a potato virus X vector // *Plant Cell.* – 1995. – Т. 7, № 8. – С. 1157-72.

REFERENCES

- [1] Lee W.S., Fu S.F., Li Z., Murphy A.M., Dobson E.A., Garland L., Chaluvadi S. R., Lewsey M.G., Nelson R.S., Carr J.P. Salicylic acid treatment and expression of an RNA-dependent RNA polymerase 1 transgene inhibit lethal symptoms and meristem invasion during tobacco mosaic virus infection in *Nicotiana benthamiana* // *BMC Plant Biol.* 2016. Vol. 16, N 1. P. 15.
- [2] Yergaliyev T.M., Nurbekova Z., Mukiyanova G., Akbassova A., Sutula M., Zhagazin S., Bari A., Tleukulova Z., Shamekova M., Masalimov Z.K., Omarov R.T. The involvement of ROS producing aldehyde oxidase in plant response to Tombusvirus infection // *Plant Physiol Biochem.* 2016. Vol. 109. P. 36-44.
- [3] Alazem M., Lin N.S. Roles of plant hormones in the regulation of host-virus interactions // *Mol Plant Pathol.* 2015. Vol. 16, N 5. P. 529-40.
- [4] Carr J.P., Lewsey M.G., Palukaitis P. Signaling in induced resistance // *Adv Virus Res.* 2010. Vol. 76. P. 57-121.
- [5] Baulcombe D. RNA silencing in plants // *Nature.* 2004. Vol. 431, N 7006. P. 356-63.
- [6] Li F., Ding S.W. Virus counterdefense: diverse strategies for evading the RNA-silencing immunity // *Annu Rev Microbiol.* 2006. Vol. 60. P. 503-31.
- [7] Bernstein E., Caudy A.A., Hammond S.M., Hannon G.J. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference // *Nature.* 2001. Vol. 409, N 6818. P. 363-366.

- [8] Ding S.W., Lu R. Virus-derived siRNAs and piRNAs in immunity and pathogenesis // *Curr Opin Virol.* 2011. Vol. 1, N 6. P. 533-44.
- [9] Maillard P.V., Ciaudo C., Marchais A., Li Y., Jay F., Ding S.W., Voinnet O. Antiviral RNA interference in mammalian cells // *Science.* 2013. Vol. 342, N 6155. P. 235-8.
- [10] Matranga C., Zamore P.D. Plant RNA interference in vitro // *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2004. Vol. 69. P. 403-8.
- [11] McCaffrey A.P., Meuse L., Pham T.T., Conklin D.S., Hannon G.J., Kay M.A. RNA interference in adult mice // *Nature.* 2002. Vol. 418, N 6893. P. 38-9.
- [12] Omarov R. T., Bersimbai R. I. Biochemical mechanisms of suppression of RNA interference by plant viruses // *Biochemistry-Moscow.* 2010. Vol. 75, N 8. P. 965-970.
- [13] Tang G., Zamore P.D. Biochemical dissection of RNA silencing in plants // *Methods Mol Biol.* 2004. Vol. 257. P. 223-44.
- [14] Herr A.J., Baulcombe D.C. RNA silencing pathways in plants // *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2004. Vol. 69. P. 363-70.
- [15] Meister G., Landthaler M., Patkaniowska A., Dorsett Y., Teng G., Tuschl T. Human Argonaute2 mediates RNA cleavage targeted by miRNAs and siRNAs // *Mol Cell.* 2004. Vol. 15, N 2. P. 185-97.
- [16] Zamore P.D., Tuschl T., Sharp P.A., Bartel D.P. RNAi: double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals // *Cell.* 2000. Vol. 101, N 1. P. 25-33.
- [17] Omarov R.T., Bersimbai R.I. Biochemical mechanisms of suppression of RNA interference by plant viruses // *Biochemistry (Mosc).* 2010. Vol. 75, N 8. P. 965-70.
- [18] *Virus Taxonomy / Под ред. Andrew M.Q. King M. J. A., Eric B. Carstens, Elliot J. Lefkowitz.* Vyp. 9. USA: Elsevier Inc., 2012.
- [19] Scholthof K.B., Adkins S., Czosnek H., Palukaitis P., Jacquot E., Hohn T., Hohn B., Saunders K., Candresse T., Ahlquist P., Hemenway C., Foster G. D. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology // *Mol Plant Pathol.* 2011. Vol. 12, N 9. P. 938-54.
- [20] Yamamura Y., Scholthof H.B. Tomato bushy stunt virus: a resilient model system to study virus-plant interactions // *Mol Plant Pathol.* 2005. Vol. 6, N 5. P. 491-502.
- [21] Harrison S.C., Olson A.J., Schutt C.E., Winkler F.K., Bricogne G. Tomato bushy stunt virus at 2.9 Å resolution // *Nature.* 1978. Vol. 276, N 5686. P. 368-73.
- [22] Olson A.J., Bricogne G., Harrison S.C. Structure of tomato bushy stunt virus IV. The virus particle at 2.9 Å resolution // *J Mol Biol.* 1983. Vol. 171, N 1. P. 61-93.
- [23] Scholthof K. B., Scholthof H.B., Jackson A.O. The tomato bushy stunt virus replicase proteins are coordinately expressed and membrane associated // *Virology.* 1995. Vol. 208, N 1. P. 365-9.
- [24] Hearne P.Q. K. D.A., Hillman B.I., Morris T.J. The complete genome structure and synthesis of infectious RNA from clones of tomato bushy stunt virus. // *Virology.* 1990. Vol. 177, N 1. P. 141-51.
- [25] Scholthof H.B., Scholthof K.B., Kikkert M., Jackson A.O. Tomato bushy stunt virus spread is regulated by two nested genes that function in cell-to-cell movement and host-dependent systemic invasion // *Virology.* 1995. Vol. 213, N 2. P. 425-38.
- [26] Baulcombe D.C., Molnar A. Crystal structure of p19 - a universal suppressor of RNA silencing // *Trends in Biochemical Sciences.* 2004. Vol. 29, N 6. P. 279-281.
- [27] Omarov R., Sparks K., Smith L., Zindovic J., Scholthof H.B. Biological relevance of a stable biochemical interaction between the tombusvirus-encoded P19 and short interfering RNAs // *J Virol.* 2006. Vol. 80, N 6. P. 3000-8.
- [28] Scholthof H.B. The Tombusvirus-encoded P19: from irrelevance to elegance // *Nat Rev Microbiol.* 2006. Vol. 4, N 5. P. 405-11.
- [29] Gaffney T., Friedrich L., Vernooij B., Negrotto D., Nye G., Uknes S., Ward E., Kessmann H., Ryals J. Requirement of salicylic Acid for the induction of systemic acquired resistance // *Science.* 1993. Vol. 261, N 5122. P. 754-6.
- [30] López-Gresa M.P., Lisón P., Yenush L., Conejero V., Rodrigo I., Bellés J.M. Salicylic Acid Is Involved in the Basal Resistance of Tomato Plants to Citrus Exocortis Viroid and Tomato Spotted Wilt Virus // *PLoS ONE.* 2016. Vol. 11, N 11. P. e0166938.
- [31] Omarov R.T., Ciomperlik J.J., Scholthof H.B. RNAi-associated ssRNA-specific ribonucleases in Tombusvirus P19 mutant-infected plants and evidence for a discrete siRNA-containing effector complex // *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007. Vol. 104, N 5. P. 1714-9.
- [32] Perez-Bueno M.L., Ciscato M., VandeVen M., Garcia-Luque I., Valcke R., Baron M. Imaging viral infection: studies on *Nicotiana benthamiana* plants infected with the pepper mild mottle tobamovirus // *Photosynth Res.* 2006. Vol. 90, N 2. P. 111-23.
- [33] Omarov R.T., Ciomperlik J., Scholthof H.B. An in vitro reprogrammable antiviral RISC with size-preferential ribonuclease activity // *Virology.* 2016. Vol. 490. P. 41-8.
- [34] Perez-Bueno M.L., Pineda M., Cabeza F.M., Baron M. Multicolor Fluorescence Imaging as a Candidate for Disease Detection in Plant Phenotyping // *Front Plant Sci.* 2016. Vol. 7. P. 1790.
- [35] Baker N.R., Rosenqvist E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities // *J Exp Bot.* 2004. Vol. 55, N 403. P. 1607-21.
- [36] Balachandran S., Osmond C.B., Daley P.F. Diagnosis of the Earliest Strain-Specific Interactions between Tobacco Mosaic Virus and Chloroplasts of Tobacco Leaves in Vivo by Means of Chlorophyll Fluorescence Imaging // *Plant Physiol.* 1994. Vol. 104, N 3. P. 1059-1065.
- [37] Block A., Schmelz E., O'Donnell P.J., Jones J.B., Klee H.J. Systemic Acquired Tolerance to Virulent Bacterial Pathogens in Tomato // *Plant Physiology.* 2005. Vol. 138, N 3. P. 1481-1490.
- [38] Samuel G.H., Wiley M.R., Badawi A., Adelman Z.N., Myles K.M. Yellow fever virus capsid protein is a potent suppressor of RNA silencing that binds double-stranded RNA // *Proc Natl Acad Sci USA.* 2016. Vol. 113, N 48. P. 13863-13868.

[39] Qu F., Morris T.J. Efficient infection of *Nicotiana benthamiana* by Tomato bushy stunt virus is facilitated by the coat protein and maintained by p19 through suppression of gene silencing // *Mol Plant Microbe Interact.* 2002. Vol. 15, N 3. P. 193-202.

[40] Angel C.A., Schoelz J.E. A survey of resistance to Tomato bushy stunt virus in the genus *Nicotiana* reveals that the hypersensitive response is triggered by one of three different viral proteins // *Mol Plant Microbe Interact.* 2013. Vol. 26, N 2. P. 240-8.

[41] Scholthof H.B., Scholthof K.B., Jackson A.O. Identification of tomato bushy stunt virus host-specific symptom determinants by expression of individual genes from a potato virus X vector // *Plant Cell.* 1995. Vol. 7, N 8. P. 1157-72.

Г. С. Мукиянова¹, А. Ж. Акбасова¹, М. Х. Позо², Р. Т. Омаров¹

¹Л. Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Астана, Қазақстан,

²Испаниялық ұлттық зерттеу институты, Гранада, Испания

***Solanum lycopersicum* ӨСІМДІГІНДЕ РЕЗИСТЕНТТІЛІК ЖАУАПТЫҢ
Tomato bushy stunt virus (TBSV) ВИРУСЫНЫҢ P41 КАПСИДТІК АҚУЫЗЫМЕН БЕЛСЕНДІРІЛУІ**

Аннотация. *Tomato bushy stunt virus* (TBSV) вирусымен кодталатын P19 ақуызы РНҚ интерференцияның қуатты супрессоры болып табылады және *Nicotiana benthamiana* өсімдіктерінің вируспен жұқтырылуында маңызды рөл атқарады. P19 ақуызының экспрессиясы вируспен зақымдануы айқын көрініс береді де, өсімдіктің толық коллапсына әкеліп соқтырады. Сонымен қатар супрессорлық P19 ақуызы *Nicotiana tabacum* өсімдігінде гиперсезімталдық реакциясын белсендіруге жауапты. Вирустың P41 капсидтік ақуызы вирион құрылымын қалыптастырып, өсімдік бойымен таралауын қамтамасыз етеді. Алынған зерттеу нәтижелері TBSV вирусының жабайы типінің инфекциясы *Solanum lycopersicum* (Money maker сұрыбы) қызанақ өсімдігінде вирусқа қарсы төзімділік жауабын тудыратынын анықтады. Өсімдіктің тамыр және жапырақ ұлпасында P19 ақуызының жинақталуына қарамастан вируспен зақымдалудың сыртқы көрінісі нашар байқалды. Алайда, Chlorophyll Fluorescence Imaging system (Chl-FI) сараптамасы вируспен зақымдалған өсімдіктерде жасушаішілік метаболизмінің өзгеруін анықтады. Ал вирустың капсидтік ақуызы экспрессияланбайтын мутантпен инфекция тудырғанда, қызанақ өсімдіктері жоғары сезімталдық көрсетіп, жүйелік некрозға ұшырады. Зерттеу нәтижелері қызанақтың Money maker сұрыбында TBSV вирусына қарсы қорғаныс механизмдері вирустық капсидтік ақуыз P41-ді тану арқылы белсендірілетінін көрсетеді.

Тірек сөздер: *Tomato bushy stunt virus* (TBSV), вирус, капсидтік ақуыз, вирион, *Solanum lycopersicum*, резистенттілік, РНҚ-интерференция.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 44 – 52

Yu. S. Krylova¹, V. O. Polyakova¹, A. M. Gzgzyan¹, V. N. Lokshin², I. M. Kvetnoy¹

¹FSBSI “The Research institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D. O. Ott”,
Saint Petersburg, Russia,

²«PERSONA» the International Centre of Clinical Reproduction, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: vyacheslavn19@rambler.ru

**ENDOMETRIOSIS GENITALIS EXTERNA,
IMMUNOHISTOCHEMICAL DIAGNOSIS
OF ENDOMETRIUM IMPLANTATION RECEPTIVITY**

Abstract. The lack of implantation in cycles of in vitro fertilization (IVF) is one of the main problems of modern reproductive medicine. Implantation is a multifactorial process, it is difficult to imagine the existence of a single criterion, with which it is possible to determine the receptivity of the endometrium. However, the possibility of accurate diagnosis of the state of endometrium receptivity cannot be overestimated in terms of clinical relevance. Endometrial biopsy today remains the most common method to diagnose pathological conditions that lead to a significant reduction or loss of the ability of endometrial implantation.

Important one is the ability to predict the onset of implantation, since the detection of violations make it possible to avoid unnecessary emotional stress, not to carry out the support of the luteal phase and the hopeless refrain from embryo transfer, preserving them for the delayed transfer. We evaluated the possibility of using the immunohistochemical study with the assessment of key biological molecules involved in the formation of implantation window (LIF, ER, PR, Integrin, TGF- β 1, VEGF), for prognosis and diagnosis of disorders of the endometrium implantation receptivity in patients with external genital endometriosis. As a result of studies there have been verified informative immunohistochemical markers that have been used to create the IVF treatment outcome prediction algorithm. With the help of the developed model it is possible to predict the group with poor outcome of treatment that can reasonably plan the tactics of treatment measures and enhances the effectiveness of IVF treatment.

Key words: IVF, endometrium implantation receptivity, receptivity, "implantation window", LIF, VEGF, Integrin α V β 3, TGF β 1, ER, PR.

Ю. С. Крылова¹, В. О. Полякова¹, А. М. Гзгзян¹, В. Н. Локшин², И. М. Кветной¹

¹ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия,

²Международный центр клинической репродуктологии «PERSONA», Алматы, Казахстан

**НАРУЖНЫЙ ГЕНИТАЛЬНЫЙ ЭНДОМЕТРИОЗ,
ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА
ИМПЛАНТАЦИОННОЙ ВОСПРИИМЧИВОСТИ ЭНДОМЕТРИЯ**

Аннотация. Отсутствие имплантации в циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) – одна из основных проблем современной репродуктологии. Имплантация является многофакторным процессом, трудно представить себе наличие единого критерия, с помощью которого возможно определить рецептивность эндометрия. Однако, возможность достоверной диагностики состояния рецептивности эндометрия трудно переоценить с точки зрения клинической значимости. Биопсия эндометрия на сегодняшний день остается наиболее распространенным методом, позволяющим диагностировать патологические состояния, приводящие к существенному снижению или утрате имплантационной способности эндометрия.

Важной представляется возможность прогнозировать наступление имплантации, так как при выявлении нарушений можно избежать лишней эмоциональной нагрузки, не проводить поддержку лютеиновой фазы и воздержаться от бесперспективного переноса эмбрионов, сохранив их для отсроченного переноса. Нами проведена оценка возможности использования иммуногистохимического исследования с оценкой ключевых биологических молекул участвующих в формировании имплантационного окна (LIF, ER, PR, Integrin, TGF- β 1, VEGF), для прогноза и диагностики нарушения имплантационной восприимчивости эндометрия, у пациенток с наружным генитальным эндометриозом. В результате исследований были верифицированы информативные иммуногистохимические маркеры, которые были использованы для создания алгоритма прогноза исхода лечения методом ЭКО. С помощью разработанной модели возможно прогнозирование группы с неблагоприятным исходом лечения, что позволяет обоснованно планировать тактику ведения лечебных мероприятий и способствует повышению эффективности лечения методами ЭКО.

Ключевые слова: ЭКО, имплантационная восприимчивость эндометрия, рецептивность, «окно имплантации», LIF, VEGF, Integrin α V β 3, TGF β 1, ER, PR.

Бесплодный брак – важная медицинская, социальная и экономическая проблема. По данным ВОЗ его частота составляет 10–15% и не имеет тенденции к снижению. Недостаточная эффективность методов восстановления естественной фертильности человека стимулировала развитие новых вспомогательных репродуктивных технологий, в частности экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), результативность которого колеблется от 28,5 до 32,5 % [1]. Оптимизация эффективности ЭКО напрямую связана с решением ключевой проблемы репродуктологии – идентификации периода рецептивности (имплантационной восприимчивости эндометрия) для определения функциональной готовности эндометрия к имплантации бластоцисты [2]. Имплантационная восприимчивость эндометрия – комплекс структурно-функциональных характеристик эндометрия с четкими временными константами, которые определяют способность эндометрия обеспечить имплантацию эмбриона. Реализация рецептивности эндометрия осуществляется посредством генетических и молекулярных превращений, которые приводят к экспрессии большого количества биологически активных молекул, таких как цитокины, факторы роста, молекулы адгезии и др. Традиционно оценку рецептивности эндометрия проводят с помощью биопсии, позволяющей выявить недостаточность лютеиновой фазы [3]. Тем не менее, данный метод не позволяет получить полной информации о рецептивности эндометрия. Так, исследователи признают, что при гистологической визуализации невозможно выявить функциональные подпороговые нарушения имплантационной восприимчивости. Определение иммуногистохимическим методом сигнальных молекул обеспечивающих имплантационную способность эндометрия дает возможность для оценки функциональной готовности эндометрия к имплантации.

Нарушение функциональной активности эндометрия возможно и при нормальном морфологическом состоянии, что проявляется изменением баланса регуляторных молекул, обеспечивающих восприимчивость эндометрия. Основываясь на выявлении нарушений рецептивности возможно назначение комплексной терапии женщинам с сохраненным овуляторным циклом, способствующей трофическим и метаболическим процессам в эндометрии.

Целью исследования явилась верификация наиболее специфичных и значимых иммуногистохимических маркеров рецептивности эндометрия для разработки алгоритма прогноза исхода лечения методом ЭКО при наружном генитальном эндометриозе I-II степени.

Материал и методы: материал исследования составили 95 случаев биопсии эндометрия женщин, проходивших лечение методом ЭКО с последующим переносом эмбриона в полость матки, на базе ФГБНУ «НИИ АГиР имени Д. О. Отта». Для исследования были сформированы следующие группы. В I группу вошло 25 женщины с НГЭ I-II степени и положительным исходом программы лечения (эхографически подтвержденная беременность), II группу составили 30 женщин с НГЭ I-II степени, у которых беременность не наступила. В III группу, группу контроля, вошло 40 женщин, проходивших лечение в связи с мужским фактором бесплодия, и положительным исходом программы. В исследование были включены женщины с бесплодием в возрасте от 24 до 35 лет, уровень фолликулостимулирующего гормона в крови, определенный на 3–5 день менструального цикла (д.м.ц) у всех обследованных женщин не превышал 11 МЕ/л, при ультразвуковом исследовании на 3–5 д.м.ц определялось от 7 до 12 антральных фолликулов в максимальном эхографическом срезе яичников. Всем женщинам проводился стандартный протокол ЭКО или

ЭКО с интрацитоплазматической инъекцией сперматозоидов (ИКСИ) с применением антагонистов гонадотропина-рилизинг гормона. Для поддержки лютеиновой фазы цикла применялся микронизированный прогестерон. Проводили перенос только морфологически качественных эмбрионов на четвертые или пятые сутки культивирования. Средняя доза рекомбинантных гонадотропинов, количество полученных ооцитов и перенесённых эмбрионов не отличались в исследуемых клинических группах. Диагностика беременности проводилась путем определения хорионического гонадотропина человека в крови на 14 день после переноса эмбрионов в полость матки и ультразвуковым методом на 21 день. Формируя группы исследования мы максимально стандартизировали все показатели, так что бы единственной переменной в исследовании была имплантационная восприимчивость эндометрия.

Биопсию эндометрия выполняли в период предполагаемого окна имплантации на 7-9 день после овуляции в цикле, предшествующем циклу ЭКО, с помощью аспирационной кюретки Pipelle de Cornier ("Jiangsu Suyun Medical Materials Co., Ltd.). Овуляция подтверждалась ультразвуковым методом и путем определения пика лютеинизирующего гормона в моче. Полученные образцы эндометрия обрабатывали по стандартной методике с получением парафиновых блоков. Гистологическое исследование проводилось в соответствии с критериями, предложенными Mazur и Kurman [5], на основании которых были отобраны образцы, содержащие эндометрий средней стадии фазы секреции без признаков воспалительного процесса и фиброза. В сомнительных случаях, использовали дополнительную окраску по методу Ван-Гизона а для выявления хронического воспаления, иммуногистохимическим методом определяли субпопуляции лейкоцитов CD20, CD138.

Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) проводилось на депарафинизированных и дегидратированных срезах толщиной 4–6 мкм с использованием авидин-биотинового иммунопероксидазного метода. Определяли уровни экспрессии: лейкемия ингибирующего фактора (LIF) (Anti-LIF, Abcam (ab135629), 1:100); сосудистого эндотелиального фактора роста типа А (VEGF-A) (Anti-VEGF-A, Abcam (ab28775), 1:50); трансформирующего фактора роста бета 1 (TGF-β1) (Anti-TGF-β1, Novocastra, 1:40); рецепторов к эстрогену, тип альфа (ER) (Anti-ER, DAKO (1D5), 1: 35); рецепторов к прогестерону, тип А (PR) (Anti-PR, DAKO (636), 1: 35); интегрин альфа пять бета три (Integrin αVβ3) (Anti- Integrin αVβ3, Abcam (ab7166), 1:250).

Для количественной оценки иммуногистохимической реакции получали изображения с использованием камеры Nikon DXM 1200 и программного обеспечения «ACT-1», версия 2.12, фиксацию изображения производили на увеличении x40. Для оценки результатов иммуногистохимического окрашивания проводили морфометрическое исследование микрофотографий с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений Морфология 5.2. (ВидеоТест, Россия). В каждом случае анализировали весь материал, исключая поля зрения, содержащие дефекты окрашивания и артефакты.

Результаты реакций с антигенами, имеющими ядерную локализацию (ER, PR), оценивали по системе подсчета «histochemical score» (HS). Максимальное значение HS 300 баллов.

Интенсивность реакций с антигенами, локализованными в цитоплазме и на мембранах клеток (LIF, VEGF-A, Integrin αVβ3, TGF-b1) оценивали по двум показателям – относительной площади экспрессии и оптической плотности. Относительную площадь экспрессии рассчитывали как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками к общей площади клеток в поле зрения и выражали в процентах. Оптическую плотность экспрессии выявленных продуктов измеряли в условных единицах. Первый показатель отражает экспрессию исследуемого маркера в клеточной популяции, и второй – в отдельных клетках. Оценка иммуногистохимической реакции проводилась в двух гистологических структурах эндометрия – строме и железах.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием стандартного пакета «Microsoft Excel» и пакета прикладных программ «Statistica for Windows» версия 6.0, StatSoft Inc. (США) с использованием методов параметрической и непараметрической статистики.

Описательная статистика включала подсчет среднего значения (M), стандартной ошибки среднего (m). Оценка межгрупповых различий значений признаков проводилась с использованием t-критерия Стьюдента и рангового U-критерия Манна-Уитни. Статистически значимыми считались отличия при $p < 0,05$ (95 %-уровень значимости) и $p < 0,01$ (99 %-уровень значимости).

Прогнозирование исходов ЭКО осуществлялось с помощью дискриминантного анализа и построения деревьев классификации. В список потенциальных предикторов вошли переменные (с предварительно определенной сопряженностью с наступлением беременности), имеющие уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты. Состояние рецепторного аппарата эндометрия в условиях ВРТ исключительно важно. Это обуславливает выбор схемы стимуляции, а также может указывать на недостаточность восприимчивости даже к сильным гормональным стимулам. Подготовка эндометрия к nidации blastocysts невозможна без воздействия на него эстрадиола и прогестерона путем взаимодействия с соответствующими стероидными рецепторами.

Полученные результаты по экспрессии рецепторов ER и PR в исследуемых группах, представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Экспрессия рецепторов эстрогена и прогестерона в стромальном и железистом компоненте эндометрия в исследуемых группах, баллы

Группа	ER строма	ER железы	PR строма	PR железы
I	45,2±4,9	70,3±7,6	150,7±16,4	84,5±9,2
II	92,2±10,0*, **	75,2 ±8,2**	100,0±10,9*, **	73,2±8,0**
III	75,5±8,2	47,4±5,2	167,7±18,2	95,4±10,3

*Отличия в сравниваемых группах по исходу достоверны при $p < 0,05$.
**Отличия в сравниваемых группах с контролем достоверны при $p < 0,05$.

Полученные данные по экспрессии ER в стромальном и железистом компонентах демонстрируют увеличение показателей в подгруппе с отрицательным исходом ($p < 0,005$), однако более низкие уровни ER в группе положительного исхода так же несколько отличаются от контроля.

Экспрессия PR была на высоком уровне как в группе НГЭ и положительного исхода так и в контроле и находилась в пределах нормального «окна имплантации». А в подгруппе с отрицательным исходом отмечается достоверное снижение уровня PR как в стромальном, так и в железистом компоненте.

Экспрессия LIF отмечалась преимущественно в железах и люминальном эпителии, экспрессия в стромальном компоненте выявлялась у женщин с подтвержденным гистологически и иммуногистохимически хроническим воспалением в эндометрии, поэтому, данные женщины были исключены из исследования.

Во время фаз аппозиции и адгезии blastocysts LIF является промежуточным звеном во взаимодействии между материнскими децидуальными лейкоцитами и внедряющимся трофобластом [6].

Полученные результаты по экспрессии LIF в исследуемых группах представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Экспрессия LIF в железистом компоненте эндометрия в исследуемых группах

Фактор	Относительная площадь экспрессии (ОТП), %		Оптическая плотность (ОП), у.е	
	«-» исход	«+» исход	«-» исход	«+» исход
Контроль	—	27,7±1,3	—	0,230±0,13
НГЭ	8,3±1,6*, **	14,5±1,6	0,176±0,04*, **	0,228±0,06

*Отличия в сравниваемых группах по исходу достоверны при $p < 0,05$.
**Отличия в сравниваемых группах с контролем достоверны при $p < 0,05$.

Рассматривая полученные результаты, мы наблюдали максимальные значения экспрессии LIF в контрольной группе. В группах женщин с НГЭ значения снижены относительно контроля и колеблются в пределах 14-10 % в подгруппах с положительным исходом и демонстрируют резкое снижение как относительной площади ниже 10 % так и оптической плотности ниже 0,200 у.е. в подгруппах с отрицательным исходом.

Интегрин $\alpha V\beta 3$ участвует в начальном прикреплении бластоцисты и регулирует межклеточные взаимодействия. Его экспрессия наблюдается как в стромальном, так и в железистом компоненте эндометрия [6]. Результаты экспрессии интегрин $\alpha V\beta 3$ в эндометрии женщин исследуемых группах представлены в таблицах 3 и 4.

Таблица 3 – Экспрессия интегрин $\alpha V\beta 3$ в стромальном компоненте эндометрия в исследуемых группах

Фактор	Относительная площадь экспрессии (ОТП), %		Оптическая плотность (ОП), у.е	
	«-» исход	«+» исход	«-» исход	«+» исход
Контроль	–	5,5±0,4	–	0,159±0,029
НГЭ	2,2±0,8**	2,4±0,7	0,076±0,03*,**	0,170±0,039

*Отличия в сравниваемых группах по исходу достоверны при $p<0,05$.
**Отличия в сравниваемых группах с контролем достоверны при $p<0,05$.

В группе женщин с наружным генитальным эндометриозом показатели экспрессии интегрин $\alpha V\beta 3$ по площади и оптической плотности были наименьшими по сравнению с контролем. При сопоставлении подгрупп между собой различий не выявлено ($p>0,05$).

Таблица 4 – Экспрессия интегрин $\alpha V\beta 3$ в железистом компоненте эндометрия в исследуемых группах

Фактор	Относительная площадь экспрессии (ОТП), %		Оптическая плотность (ОП), у.е	
	«-» исход	«+» исход	«-» исход	«+» исход
Контроль	–	14,1±2,0	–	0,289±0,018
НГЭ	6,8±0,6*,**	8,4±0,8	0,186±0,014*,**	0,244±0,026

*Отличия в сравниваемых группах по исходу достоверны при $p<0,05$.
**Отличия в сравниваемых группах с контролем достоверны при $p<0,05$.

Полученные данные демонстрируют прямую связь показателей экспрессии интегрин $\alpha V\beta 3$ с положительным исходом. В подгруппах женщин с наступившей беременностью показатели площади варьировались от 8 до 14 % в то время как в подгруппах с отрицательным исходом составила 6,8 %. Величина оптической плотности так же была максимальна высокая в группе контроля а минимальна в группе НГЭ и отрицательным исходом программы.

Сосудистый эндотелиальный фактор роста является важнейшим регулятором ангиогенеза, митогеном для эндотелиальных клеток сосудов. Экспрессия VEGF-A отмечалась только в стромальном компоненте эндометрия и отсутствовала в поверхностном и железистом эпителии. Результаты экспрессии VEGF-A в эндометрии женщин исследуемых групп представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Экспрессия VEGF-A в стромальном компоненте эндометрия

Фактор	Относительная площадь экспрессии (ОТП), %		Оптическая плотность (ОП), у.е	
	«-» исход	«+» исход	«-» исход	«+» исход
Контроль	–	8,7±1,9	–	0,201±0,07
НГЭ	11,2±1,8**	10,1±1,9	0,182±0,007*	0,230±0,04

*Отличия в сравниваемых группах по исходу достоверны при $p<0,05$.
**Отличия в сравниваемых группах с контролем достоверны при $p<0,05$.

Экспрессия VEGF-A в строме эндометрия у женщин с наружным генитальным эндометриозом достоверно не отличалась по площади внутри группы, однако оптическая плотность в подгруппе с положительным исходом выше, чем с отрицательным. В сравнении с контролем у женщин с НГЭ показатели экспрессии VEGF в строме выше в два раза по площади экспрессии ($p<0,05$).

TGF β 1 является представителем факторов роста, его экспрессия выявляется во всех структурах эндометрия: строме, железистом компоненте и люминальном эпителии. Экспрессия в железистом компоненте превышает экспрессию в строме. Результаты экспрессии TGF β 1 в эндометрии женщин исследуемых групп представлены в таблицах 6 и 7.

Таблица 6 – Экспрессия TGFβ1 в стромальном компоненте эндометрия

Фактор	Относительная площадь экспрессии (ОТП), %		Оптическая плотность (ОП), у.е	
	«-» исход	«+» исход	«-» исход	«+» исход
Контроль	–	4,4±0,8	–	0,240±0,017
НГЭ	2,1±0,3*,**	4,4±1,0	0,230±0,019*,**	0,208±0,005

*Отличия в сравниваемых группах по исходу достоверны при p<0,05.
**Отличия в сравниваемых группах с контролем достоверны при p<0,05.

При сравнении подгрупп между собой достоверно более высокие показатели относительной площади в группе с положительным исходом, а показатели оптической плотности в подгруппе с отрицательным. При сравнении с контрольной группой подгруппа с отрицательным исходом имеет более низкие значения относительной площади (p<0,05), а между подгруппами с положительным исходом различий не выявлено.

Таблица 7 – Экспрессия TGFβ1 в железистом компоненте эндометрия

Фактор	Относительная площадь экспрессии (ОТП), %		Оптическая плотность (ОП), у.е	
	«-» исход	«+» исход	«-» исход	«+» исход
Контроль	–	11,8±1,4	–	0,198±0,013
НГЭ	10,9±1,9	11,7±1,8	0,203±0,012	0,205±0,010

*Отличия в сравниваемых группах по исходу достоверны при p<0,05.
**Отличия в сравниваемых группах с контролем достоверны при p<0,05.

При сравнении подгрупп между собой и контрольной достоверных различий выявлено не было.

Следующим этапом нашей работы была оценка информативности иммуногистохимических маркеров для прогнозирования исхода экстракорпорального оплодотворения в группе женщин с наружным генитальным эндометриозом. Для этого мы использовали метод дискриминантного анализа, который показал, что наиболее информативны при прогнозе исхода цикла ЭКО в группе женщин с наружным генитальным эндометриозом: относительная площадь экспрессии LIF; относительная площадь экспрессии и оптическая плотность интегрин αVβ3 в железистом и стромальном компоненте эндометрия а так же относительная площадь экспрессии фактора роста TGFβ1 и VEGF-A в стромальном компоненте эндометрия.

Использование пошаговой процедуры включения переменных на основе статистики Уилкса позволило рассчитать дискриминантные функции:

$$P = 0,04 \cdot A + 126,0 \cdot B + 3,7 \cdot C - 23,5 \quad (6)$$

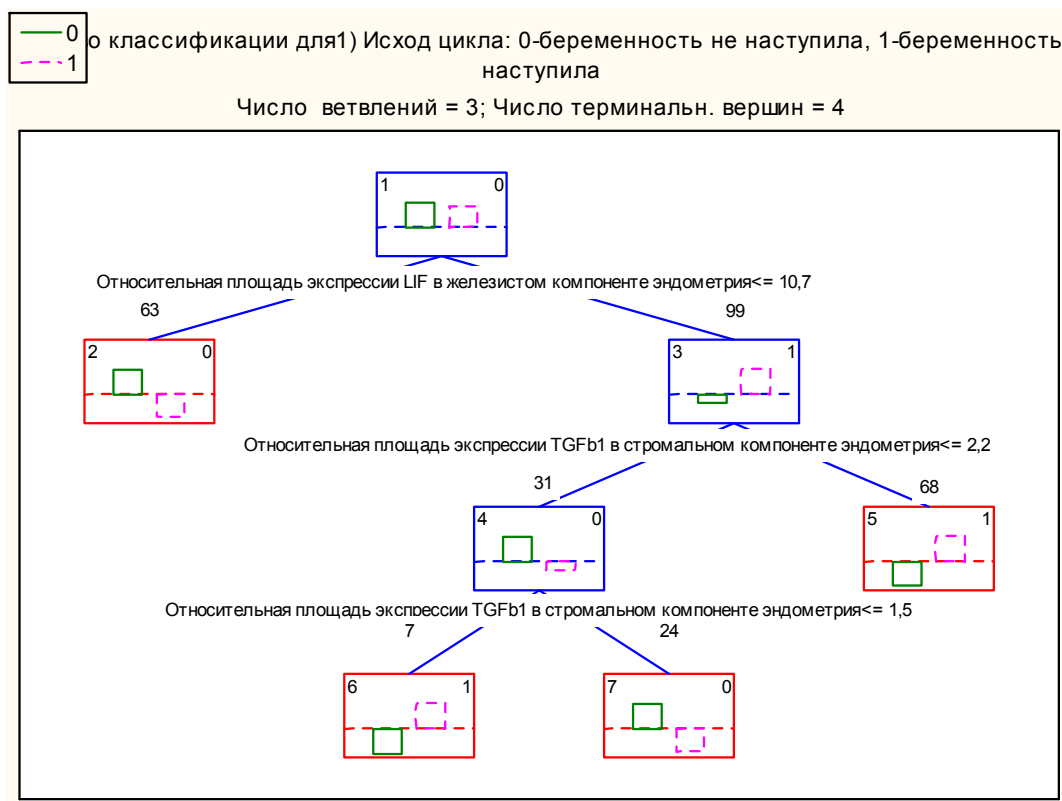
$$O = 0,09 \cdot A + 83,9 \cdot B + 1,9 \cdot C - 13,4, \quad (7)$$

где P – дискриминантная функция положительного исхода ЭКО; O – дискриминантная функция отрицательного исхода ЭКО; A – экспрессия PR в железистом компоненте эндометрия; B – оптическая плотность экспрессии LIF в железистом компоненте эндометрия; C – относительная площадь экспрессии TGFβ1 в стромальном компоненте эндометрия

Все входящие в дискриминантные функции переменные достоверно отличаются от нуля. Испытание полученной модели на группе проверки выявило 89,1 % правильной дискриминации. Кросс-проверка на группе обучения показала несколько меньшие, но также высокие результаты: 88,8 % правильных ответов.

Алгоритм прогнозирования исходов экстракорпорального оплодотворения по данным экспрессии иммуногистохимических маркеров разрабатывали с помощью деревьев классификации – метода, позволяющего соотносить объекты к тому или иному классу в зависимости от соответствующих значений одной или нескольких независимых (предикторных) переменных. Построение дерева классификации позволило на основе решающих правил классифицировать объекты. Выбор

наилучшего дерева был проведен на основе наименьшей цены (доли неправильно классифицированных наблюдений). Был выбран прогноз с наименьшим процентом неправильных классификаций (рисунок). Анализ дерева классификации показал, что наиболее информативные показатели при прогнозировании исхода ЭКО: относительная площадь экспрессии TGFβ1 в стромальном компоненте эндометрия (ранг-100), относительная площадь экспрессии LIF в железистом компоненте эндометрия (ранг-84) и оптическая плотность экспрессии LIF в железистом компоненте эндометрия (ранг-71).



Дерево классификации принятия решения.

Примечание. Прямоугольниками обозначены узлы решения. В прямоугольниках слева указан номер узла, справа к какому классу (группе) он относится. Над узлами обозначены количество наблюдений, приходящихся на этот узел, под ним – условие разделения по ветвям.

Условия разделения обследованных следующее: если значение переменной, соответствует или равно условию, указанному под узлом решения, то выбирается левая ветвь, в противном случае – правая. Таким образом, мы смещаемся по ветвям до конечного узла, который указывает нам на ожидаемый прогноз лечения методом ЭКО.

Обсуждение результатов. Отсутствие имплантации в циклах ЭКО – одна из основных проблем современной репродуктологии. Имплантация является многофакторным процессом, трудно представить себе наличие единого критерия, с помощью которого возможно определить рецептивность эндометрия. Однако, возможность достоверной диагностики состояния рецептивности эндометрия трудно переоценить с точки зрения клинической значимости. Биопсия эндометрия на сегодняшний день остается наиболее распространенным методом, позволяющим диагностировать патологические состояния, приводящие к существенному снижению или утрате имплантационной способности эндометрия.

Важной представляется возможность прогнозировать наступление имплантации, так как при выявлении нарушений можно избежать лишней эмоциональной нагрузки, не проводить поддержку лютеиновой фазы и воздержатся от бесперспективного переноса эмбрионов и сохранить их для отсроченного переноса.

Ткань эндометрия полученная в период «окна имплантации» в естественном цикле, способна отражать рецептивность эндометрия и во время цикла, несмотря на негативное влияние стимуляции овуляции. Рецептивность эндометрия находится почти на одном и том же уровне, от цикла к циклу, что обеспечивается постоянством геномного профиля [7]. Поэтому использование иммуногистохимического метода исследования эндометрия в период подготовки к лечению методами ВРТ является обоснованным.

В результате проведенных исследований нами верифицированы наиболее специфичные и значимые маркеры рецептивности эндометрия, TGF β 1 и LIF которые были использованы для разработки алгоритма прогноза исхода лечения методом ЭКО при наружном генитальном эндометриозе I-II степени.

С помощью разработанной модели возможно прогнозирование группы с неблагоприятным исходом лечения, что позволяет принимать научно-обоснованные решения, направленные на улучшение эффективности проводимых лечебных мероприятий.

На основании разработанной модели предложен следующий алгоритм прогноза возникновения неблагоприятного исхода:

1. При планировании лечения методами ЭКО необходимо проведение биопсии эндометрия и гистологического исследования.

2. На втором этапе в случае не выявления явных причин препятствующих формированию рецептивности эндометрия (гиперпластические процессы, воспалительные изменения) проводят комплексную оценку функционального состояния эндометрия с применением иммуногистохимического метода.

3. На третьем этапе соотносят каждого обследованного к группам «положительный исход» и «отрицательный исход» используя алгоритм прогнозирования.

Заключение. Становится все более очевидным, что одного идеального биомаркера для оценки рецептивности эндометрия не существует, так как сложность патогенеза любого заболевания, ведущего к бесплодию и физиологические особенности каждой пациентки не могут быть идентифицированы по одному биомаркеру.

Расширение фундаментальных исследований по изучению молекулярно-клеточных механизмов имплантации позволит расширить понимание механизмов лежащих в основе формирования имплантации и может явиться основой для разработки лекарственных средств для селективного воздействия на эндометрий с нарушенной рецептивностью. Необходимо проведение крупных исследований на больших когортах женщин с нормальной и нарушенной фертильностью, что позволит определить диапазон нормы экспрессии различных молекул, стандартизировать методы и даст возможность в перспективе использовать их для предиктивной диагностики и коррекции рецептивности.

REFERENCES

- [1] Kupka M.S., Ferraretti A.P., de Mouzon J., et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2014; 29: 2099-113.
- [2] Edwards R.G. Human implantation: the last barrier in assisted reproduction technologies? *Reprod Biomed Online* 2006; 13: 887-904.
- [3] Devroey C., Bourgain N.S., Macklon, et al. Reproductive biology and IVF: ovarian stimulation and endometrial receptivity. *Trends Endocrinol Metab* 2004; 15: 84-90.
- [4] Simon A., Laufer N. Repeated implantation failure: clinical approach. *Fertil Steril* 2012; 97: 1039-43.
- [5] Mazur M., Kurman R.J. *Diagnosis of endometrial biopsies and curettings: a practical approach*. New York: Springer, 2005.
- [6] Boomsma C.M., Kavelaars A., Eijkemans M.J., et al. Endometrial secretion analysis identifies a cytokine profile predictive of pregnancy in IVF. *Hum Reprod* 2009; 24: 1427-35.
- [7] Ruiz-Alonso M., Blesa D., Di'az-Gimeno P., et al. The endometrial receptivity array for diagnosis and personalized embryo transfer as a treatment for patients with repeated implantation failure. *Fertil Steril* 2013; 100: 818-24.

Ю. С. Крылова¹, В. О. Полякова¹, А. М. Гзгзян¹, В. Н. Локшин², И. М. Кветной¹

¹ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия,

²Международный центр клинической репродуктологии «PERSONA», Алматы, Казахстан

НАРУЖНЫЙ ГЕНИТАЛЬНЫЙ ЭНДОМЕТРИОЗ, ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ИМПЛАНТАЦИОННОЙ ВОСПРИИМЧИВОСТИ ЭНДОМЕТРИЯ

Аннотация. Отсутствие имплантации в циклах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) – одна из основных проблем современной репродуктологии. Имплантация является многофакторным процессом, трудно представить себе наличие единого критерия, с помощью которого возможно определить рецептивность эндометрия. Однако, возможность достоверной диагностики состояния рецептивности эндометрия трудно переоценить с точки зрения клинической значимости. Биопсия эндометрия на сегодняшний день остается наиболее распространенным методом, позволяющим диагностировать патологические состояния, приводящие к существенному снижению или утрате имплантационной способности эндометрия.

Важной представляется возможность прогнозировать наступление имплантации, так как при выявлении нарушений можно избежать лишней эмоциональной нагрузки, не проводить поддержку лютеиновой фазы и воздержаться от бесперспективного переноса эмбрионов, сохранив их для отсроченного переноса. Нами проведена оценка возможности использования иммуногистохимического исследования с оценкой ключевых биологических молекул участвующих в формировании имплантационного окна (LIF, ER, PR, Integrin, TGF- β 1, VEGF), для прогноза и диагностики нарушения имплантационной восприимчивости эндометрия, у пациенток с наружным генитальным эндометриозом. В результате исследований были верифицированы информативные иммуногистохимические маркеры, которые были использованы для создания алгоритма прогноза исхода лечения методом ЭКО. С помощью разработанной модели возможно прогнозирование группы с неблагоприятным исходом лечения, что позволяет обоснованно планировать тактику ведения лечебных мероприятий и способствует повышению эффективности лечения методами ЭКО.

Ключевые слова: ЭКО, имплантационная восприимчивость эндометрия, рецептивность, «окно имплантации», LIF, VEGF, Integrin α V β 3, TGF β 1, ER, PR.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 53 – 57

A. Khozhamuratova¹, G. Bapayeva², G. Akhmedianova¹, E. Ramazanova¹¹JSC "Astana Medical University", Kazakhstan,²CFB UMC National Research Center of Maternal and Child Health, Astana, Kazakhstan**EFFECTIVENESS OF DIFFERENT METHODS OF TERMINATION
IN MISSED ABORTION OF THE FIRST TRIMESTER**

Abstract. This article presents comparative results of using the prostaglandin analogue misoprostol by vaginal and oral ways and antiprogesterone mifepristone in combination with misoprostol for termination of missed abortion. It was found that the vaginal route of administration of misoprostol was more effective in comparison with other methods, and it had minimal side effects.

Keywords: missed abortion, misoprostol, mifepristone, termination of pregnancy.

УДК 618.3:618.36

А. Хожамуратова¹, Г. Бапаева², Г. Ахмедьянова¹, Э. Рамазанова¹¹АО «Медицинский университет Астана», Казахстан,²Филиал КФ УМС «Национальный Научный центр Материнства и Детства, Астана, Казахстан**ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ
ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ ПРИ НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ
БЕРЕМЕННОСТИ ПЕРВОГО ТРИМЕСТРА**

Аннотация. Представлены сравнительные результаты эффективности применения аналога простагландина мизопростола вагинального и перорального путей, и антипрогестерона мифепристона в комбинации с аналогом простагландина мизопростолом для прерывания неразвивающейся беременности. Установлено, что вагинальный путь введения мизопростола является более эффективным методом, с минимальными побочными эффектами.

Ключевые слова: неразвивающаяся беременность, мизопростол, мифепристон, прерывание беременности.

Введение. Неразвивающаяся беременность (НБ) в первом триместре характеризуется задержкой эмбрионального или фетального развития по результатам УЗИ пустое плодное яйцо (анэмбриония) или эмбрион/плод без сердечной деятельности [1]. Частота встречаемости данной патологии в структуре репродуктивных потерь достаточно высока (10-20%) и среди ранних репродуктивных потерь составляет 45-88,6% [2]. Большой процент этих случаев в настоящее время диагностируется при рутинном ультразвуковом сканировании в первом триместре беременности.

Хирургическая эвакуация остается золотым стандартом медицинской помощи при неразвивающейся беременности, будучи быстрым и весьма эффективным, если выполняется опытным специалистом в соответствующей обстановке. Однако, связанные с этим осложнения (травмирование шейки матки, приводящее к истмикоцервикальной недостаточности, выраженный болевой синдром, структурная и функциональная неполноценность эндометрия) диктует поиск альтернативных приемлемых путей ведения таких пациенток [3].

В связи с этим, для прерывания беременности в настоящее время используются преимущественно медикаментозные методы, которые как показали рандомизированные исследования [4]

имеют преимущество по сравнению с традиционным хирургическим вмешательством. Исследователями делались попытки сравнить эффективность различных путей введения (пероральных и вагинальных путей) аналогов простагландинов, однако данные, полученные ими, неоднозначны [5].

Цель исследования. Сравнить эффективность применения аналога простагландина 200 мкг мизопростолу при различных путях введения и антипрогестагена мифепристона 200 мкг в комбинации с аналогом простагландина мизопростолом 200 мкг для прерывания неразвивающейся беременности в первом триместре

Материал и методы. Проведено рандомизированное, проспективное исследование 94 беременных женщин с диагнозом неразвивающейся беременности до 12 недель, после получения информированного согласия. Исследование проводилось на базе Городской Больницы №2 г. Астаны и на базе кафедры акушерства и гинекологии №1 АО «Медицинский Университет Астана» в период 2015–2016 гг. Критериями включения в исследование были: 1) возраст 18-45 лет; 2) срок гестации ≤ 12 недель по последней менструации; 3) установленный диагноз неразвивающейся беременности на УЗИ; 4) шейка матки, закрытая при вагинальном исследовании; 5) гемоглобин ≥ 90 г/л; 6) нормальная температура тела; 7) информированное согласие. Критерии исключения: 1) чрезмерные маточные кровотечения; 2) нестабильная гемодинамика; 3) нарушение коагуляции (ПТИ $\leq 85\%$, фибриноген < 2.0 г/л); 4) признаки и симптомы инфекции; 5) наличие в анамнезе экстрагенитальной патологии, при которой противопоказано применение простагландинов, 6) активный период лактации; 7) многоплодная беременность

Путем случайной выборки обследованные женщины были разделены на 3 группы: группа А: 32 пациентки, которым вводили 200 мкг мизопростолу интравагинально в задний свод влагалища каждые 3 часа максимально до шести доз; группа Б: 31 пациентка, получавшая 200 мкг мизопростолу перорально каждые три часа не более шести доз, группа В: 31 пациентка, которые получали 200 мг мифепристона и через 24 часов – 200 мкг перорального мизопростолу, повторяя каждые три часа не более шести доз.

Всем пациенткам проводился мониторинг жизненно важных показателей, наблюдали за влагалищным кровотечением и за процессом изгнания плодного яйца, отмечали побочные эффекты препарата. В течение следующих 12-36 часов оценивались результаты как: полный выкидыш, неполный выкидыш (эхограмма не соответствовала пустой полости матки) или отсутствие изгнания продуктов зачатия, в последующем потребовавшее применения хирургического аборта. Каждая женщина была информирована об изгнании плодного яйца и возможных симптомах. Если плодное яйцо было изгнано, она осматривалась вагинально и затем проводилось трансвагинальное УЗИ. Если плодное яйцо оставалось, то продолжалось введение дополнительных доз мизопростолу до тех пор, пока не произошло полное изгнание плодного яйца или не получена максимальная доза мизопростолу. Если у пациентки беременность прерывалась раньше, то дополнительные дозы не назначались.

Пациенток наблюдали в течение 6 часов после полного выкидыша, а затем отпускали домой. Они получали антибиотики с профилактической целью в течение 3-5 дней.

Контрольный осмотр проводился через 14 дней после выписки, им проводился опрос, трансвагинальное УЗИ, гинекологический осмотр. Кровотечение делили по продолжительности – как короткое (до 5 дней), среднее (5-10 дней) или длительное (свыше 10 дней), по количеству – как тяжелые, умеренные или слабые. В ходе беседы с пациенткой уточнялись побочные эффекты или любое дополнительно принятое лечение. Последующий визит назначался на 6-ю неделю, чтобы определить время, необходимое для возобновления менструации, каких-либо других побочных эффектов (если испытывала) и переносимости лечения.

Результаты и их обсуждение. Средний возраст обследованных пациенток варьировал от 20 до 42 лет, составив в среднем $30,75 \pm 1,03$ лет. Сравнительный анализ по возрастным категориям не выявил статистически значимых различий между группами. Большинство пациенток были повторнородящими (66,7% - в группе А, 56,7% - в группе Б, 76,7% - в группе В). Предыдущие аборты в анамнезе были у 33,3% женщин - в группе А, у 36,7% - в группе Б и 23,3% - в группе В. Замершая беременность в анамнезе была у 23,3% женщин в группе А, у 30% в группе Б и 16,7% в группе В. Средний срок гестации составил на момент исследования: $73,7 \pm 2,2$ дней в группе А; $75,6 \pm 2,7$ дней в группе Б и $73,674 \pm 1,268$ дней в группе В.

Большинство женщин обнаруживали неразвивающуюся беременность при случайном УЗИ при появлении мажущих темно-коричневых выделении из половых путей, когда обращались к гинекологу по месту проживания либо при доставлении бригадой скорой помощи в urgentную клинику. В нашем исследовании окончательный показатель эффективности определяли в качестве полного опорожнения полости матки без необходимости хирургического вмешательства. Также учитывались данные трансвагинального УЗИ, согласно которых толщина эндометрия должна быть не более 15-17 мм, без гиперэхогенных включений.

Результаты исследования показали (таблица 1), что показывают, что мизопроустол при двух путях введения и комбинированное применение мифепристона с мизопроустолом являются эффективным нехирургическим методом, и обладает более высокой эффективностью при вагинальном пути введения мизопростола. Применение аналога ПГЕ1 мизопростола без антипрогестагена показывает также высокую эффективность. Это еще раз подтверждает гипотезу о том, что антигестагены не являются действительно необходимыми для прекращения неразвивающейся беременности, так как уровень прогестерона, как правило, низкий, и поэтому только ПГЕ1 обязаны инициировать сокращение матки и изгнание плодного яйца.

Таблица 1 – Клинический исход в сравниваемых группах

Исход	группы		
	А	Б	В
Полный выкидыш	30 (93,75%)	25 (80,6%)	26 (83,87%)
Неполный выкидыш	2 (6,25%)	5 (16,1%)	5 (16,1%)
Беременность не прервалась	0	1 (3,22%)	0
Всего	32 (100%)	31 (100%)	31 (100%)

В тоже время, имело место неэффективность медикаментозного прерывания: у двух пациенток в вагинальной группе мизопростола был неполный выкидыш, и в обоих случаях потребовалось хирургическое вмешательство. В пероральной группе у 6 пациенток было неэффективное лечение.

Нами было проанализировано количество доз мизопростола, необходимого для полного выкидыша в сравниваемых группах (таблица 2).

Таблица 2 – Количество доз мизопростола, потребовавшихся для полного выкидыша в сравниваемых группах

Количество доз	Группы		
	А	Б	В
Один	2 (6.25%)	0 (%)	6 (19.3%)
Два	7 (21.8 %)	3 (9.67%)	19(61.3%)
Три	16 (50%)	10 (32.25%)	6 (19.3%)
Четыре	7 (21.87%)	14 (45.1%)	0 %
Пять	0%	3 (9,67%)	0%
Шесть	0%	1 (3,22%)	0%
Всего	30	25	26

Результаты исследования показали, что у 2 (6,25%) пациенток в группе А, 0% - в группе Б, и у 6 (19,3%) пациенток в группе В полный выкидыш произошел после первой дозы, в то время как у 7 пациенток (21,8%) группы А, у 3 (9,67%) в группе Б, и у 19 (61,3%) полный выкидыш произошел после второй дозы. После третьей дозы полный выкидыш произошел у 16 (50%) пациенток в группе А, у 10 (32,25%) в группе Б, и у 6 (19,3%), а после четвертой дозы у 7 пациенток (21,87%) в группе А, у 14(45,1%) пациенток в группе Б произошел полный выкидыш.

Таким образом, введение вагинального мизопростола и комбинированное применение мифепристона с мизопроустолом было более эффективным, чем пероральное введение мизопростола, так как полный выкидыш в тех группах произошел после третьей-четвертой дозы мизопростола, т.е. дополнительные дозы не потребовались.

Средний интервал (в часах) от введения первой дозы мизопростола до полного выкидыша составила $10,8 \pm 3,4$ часов в группе А; $13,2 \pm 3,1$ часа в группе Б; $5,2 \pm 3,1$ часа – в группе В.

Известно [7], что применение простагландинов может сопровождаться различными побочными эффектами. Результаты нашего исследования показали, что большой процент побочных эффектов имели место в пероральной и комбинированной группе.

Таблица 3 – Побочные эффекты при применении аналога ПГЕ1 мизопростола

Побочные эффекты	Группы			P1	P2	P3
	А	Б	В			
Тошнота/рвота (требующее лечение)	3 (9,4%)	21 (67,7%)	13 (41,9%)	<0,001	<0,05	<0,01
Головная боль	4(12,5%)	5(16,2%)	7(22,5%)	>0,05	>0,05	>0,05
Головокружение	2(6,25%)	5(16,2%)	11(35,5%)	>0,05	>0,05	3.047
Диарея	0 (0)	3(9,7%)	2 6,25%)	>0,05	>0,05	>0,05
спастические боли	7(21,9%)	16(51,6%)	17(54,8%)	<0,01	>0,05	2.85
Лихорадка (требующее лечение)	0 (0)	1 (3,22%)	0 (0)	0	0	0
Сильное кровотечение	0 (0)	2 (6,25%)	2 (6,25%)	0	0	0
Разрыв шейки матки	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0	0
Разрыв матки	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0	0
Всего	32	31	31			

P1 – различия между группой А и Б; P2 – различия между группой А и В; P3 – различия между группой Б и В.

Из всех наиболее значимых побочных эффектов были тошнота, рвота, сильные спастические боли, диарея, чрезмерное кровотечение.

Так, частота желудочно-кишечных побочных эффектов была выше в пероральной группе, которые легко купировались с помощью противорвотных и противодиарейных препаратов. Наиболее заметным побочным эффектом, связанным с мизопростолом была диарея, которая является естественной реакцией гладких мышц кишечника к увеличению уровня Простагландина, и это, как правило, легко устранялось в течении нескольких дней несмотря на продолжающееся лечение. В пероральной группе мизопростола и комбинированной группе мифепристон с мизопростолом, диарея отмечалась у 3 пациенток (10%) и 2 пациенток (6,6%) соответственно. В вагинальной группе диареи не отмечалось. Гипертермия наблюдалась у одной пациентки в пероральной группе, в то время как в других группах данный симптом не отмечался. Головокружение, головная боль во всех группах встречалась в незначительном количестве от 6 до 36%. Сильные спастические боли, требующие анальгетиков были больше в пероральной и комбинированной группе в сравнении с вагинальной группой (в пероральной и комбинированной группе 51,6 и 54,8% против вагинальной группы 21,9%). Также в нашем исследовании, ни у одной пациентки не было разрыва шейки матки в результате лечения. Эти выводы еще раз доказывают об эффективности медикаментозного прерывания неразвивающейся беременности [5].

Тяжелые послеабортные кровотечения, которым потребовалось хирургическая эвакуация наблюдалась у немногих пациенток (в пероральной группе – у 2 пациенток (6.6%) и в комбинированной группе у 2 пациенток (6.6%), а вагинальной группе сильного кровотечения не отмечалось), что увеличивает приемлемость медикаментозного лечения при неразвивающейся беременности, которая подходит в качестве практической альтернативы обычной хирургической эвакуации. У большинства пациенток (53.3% в первой группе, 63.3% во второй группе, 60% в третьей группе) было нормальное восстановление менструального цикла в течении 30-45 дней, и это подчеркивает, что влияние мизопростола на начало первой менструации после аборта не зависит от пути введения.

Послеабортные кровотечения: в среднем во всех сравниваемых группах отмечались по количеству кровотечения: умеренная степень – в группе А у 63.3% пациентов, в группе Б – у 60%, в группе В – у 50%, по продолжительности кровотечения 5-10 дней в группе А – у 56.6%, в группе Б – у 33.3%, в группе В – у 60%. Время возобновления менструации: у большинства женщин было нормальное время восстановления до 30 дней и 30-45 дней в группе А (86.6%), в группе Б (79.9%), в группе В (83.3%).

Результаты наших исследований перекликаются с данными других исследователей [5, 6, 8], которые показали эффективность вышеуказанных методов в отдельности, однако в отличие от них нами проведен сравнительный анализ как отдельного применения простагландинов, так и их комбинированного применения с антипрогестероном.

Выводы. Несмотря на разные пути введения препаратов и при комбинированном применении антипрогестерона (мифепристона) с мизопроустолом показатели эффективности были во всех группах высокие. В то же время, вагинальный путь введения простагландинов является более эффективным, с минимальными побочными эффектами.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Неразвивающаяся беременность. Методические рекомендации МАРС (Междисциплинарной ассоциации специалистов репродуктивной медицины) / Авт.-сост. В. Е. Радзинский и др. – М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2015. – 48 с.
- [2] Щеголев А.А., Доброхотова Ю.Э. Неразвивающаяся беременность: тромбофилические и клинико-иммунологические факторы. Современные аспекты терапии. – Серия "Библиотека врача-специалиста". – ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 144 с.
- [3] Dalton V.K., Harris L.H., Gold K.J., Kane-Low L., Schulkin J., Guire K., et al. Provider knowledge, attitudes, and treatment preferences for early pregnancy failure // AJOG. – 2010; 202: 531. – e1-8.
- [4] Petersen S.G., Perkins A.R., Gibbons K.S., Bertolone J.I., Mahomed K. The medical management of missed miscarriage: outcomes from prospective, single-center, Australian cohort // MJA. – 2013; 199: 341-46.
- [5] A Comparative Study to Evaluate the Efficacy of Vaginal vs Oral Prostaglandin E1 Analogue (Misoprostol) in Management of First Trimester Missed Abortion // J Clin Diagn Res. – 2016 May; 10(5):QC14-8. – doi: 10.7860/JCDR/2016/18178.7891. Epub 2016 May 1.
- [6] Mifepristone followed by misoprostol or oxytocin for second-trimester abortion: a randomized controlled trial // Obstet Gynecol. – 2013 Oct; 122(4): 815-20. – doi: 10.1097/AOG.0b013e3182a2dcb7.
- [7] Абрамченко В.В., Гусева Е.Н. Медикаментозный аборт. Руководство для врачей. – Изд. ЭЛБИ-СПБ, 2005. – 139 с.
- [8] Яшук А.Г. Сравнительный анализ ближайших исходов медикаментозного и хирургического прерывания неразвивающейся беременности в I триместре // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2014; 14(1): 51-54.

REFERENCES

- [1] Radzinskiy V.E., Makletsova S.A., Aleev I.A., Rudneva O. D., Ryabinkina T.S. Nerazvivayushchayasya beremennost': Metodicheskie rekomendatsii MARS (Mezhdistitsiplinarnoy assotsiatsii spetsialistov reproduktivnoy meditsiny). M.: Redaktsiya zhurnala Status Praesens, 2015. 48 p.
- [2] Shchegolev A.A., Dobrokhotova Yu.E. Nerazvivayushchayasya beremennost': trombofilicheskie i kliniko-immunologicheskie faktory // Sovremennyye aspekty terapii (Seriya "Biblioteka vracha-spetsialista"). GEOTAR-Media, 2010. 144 p.
- [3] Dalton V.K., Harris L.H., Gold K.J., Kane-Low L., Schulkin J., Guire K., et al. Provider knowledge, attitudes, and treatment preferences for early pregnancy failure // American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2010. N 202. P. 531-538.
- [4] Petersen S.G., Perkins A.R., Gibbons K.S., Bertolone J.I., Mahomed K. The medical management of missed miscarriage: outcomes from prospective, single-center. Australian cohort // Medical Journal Australia. 2013. N 199. P. 341-346.
- [5] Marwah S., Gupta S., Batra N.P., Bhasin V., Sarna V., Kaur N.A. Comparative Study to Evaluate the Efficacy of Vaginal vs Oral Prostaglandin E1 Analogue (Misoprostol) in Management of First Trimester Missed Abortion // Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2016. Vol. 5, N 10. P. 14-18. doi: 10.7860/JCDR/2016/18178.7891. Epub 2016 May 1.
- [6] Elami-Suzin M., Freeman M.D., Porat N., Rojansky N., Laufer N., Ben-Meir A. Mifepristone followed by misoprostol or oxytocin for second-trimester abortion: a randomized controlled trial // Obstetrics and Gynecology. 2013. Vol. 4, N 122. P. 815-820. doi: 10.1097/AOG.0b013e3182a2dcb7.
- [7] Abramchenko V.V., Guseva E.N. Medikamentoyny abort. Rukovodstvo dlya vrachey // Izd. ELBI-Sankt-Peterburg, 2005. 139 p.
- [8] Yashchuk A.G. Sravnitel'nyy analiz blizhayshikh iskhodov medikamentoznogo i khirurgicheskogo preryvaniya nerazvivayushcheyasya beremennosti v I trimestre // Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa. 2014. Vyp. 14(1). P. 51-54.

А. Хожамуратова¹, Г. Бапаева², Г. Ахмедьянова¹, Э. Рамазанова¹

¹«Астана медицина университеті» АҚ, Қазақстан,

²«Ұлттық ана мен бала ғылыми орталығы», ҰҚ Бөлімшесі «УМС», Астана, Қазақстан

АЛҒАШҚЫ ТРИМЕСТРДЕГІ ДАМЫМАЙТЫН ЖҮКТІЛІК БАРЫСЫНДА ЖҮКТІЛІКТІ ТОҚТАТУДЫҢ ӘР ТҮРЛІ ӘДІСТЕРІНІҢ ТИІМДІЛІГІ

Аннотация. Мақалада простагландиннің аналогы – қынаптық және ауыздық жолдардың мизопроустолы және мифепристон антипрогестагеннің простагландиннің басқа аналогы – мизопроустолмен комбинациясын дамымайтын жүктілікті жою үшін қолдану тиімділігінің салыстырмалы нәтижелері келтірілген. Мизопроустолды қынапты жолмен енгізу жанама әсерлері минимальды ең тиімдірек әдіс болатындығы анықталған

Түйін сөздер: дамымайтын жүктілік, мизопроустол, мифепристон, жүктілікті тоқтату.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 58 – 62

I. Ye. Sagatov^{1,2}, A. V. Kvashnin², U. Ye. Imammyrzaev², N. B. Danyarov², D. T. Nurlan¹

¹Kazakh Medical University of Continuous Education, Almaty, Kazakhstan,

²A. N. Syzganov National Scientific Surgery Center, Almaty, Kazakhstan

**THE DIRECT RESULTS OF THE RADICAL CORRECTION
OF VARIOUS FORMS
OF THE ATRIOVENTRICULAR SEPTAL DEFECT**

Abstract. The analysis of direct results of the surgical treatment of 23 patients with different forms of atrioventricular septal defect (AVSD) were submitted: partial form (12 patients), intermediate (transitional) form (8 patients) and complete form (3 patients). All patients underwent the radical correction of the congenital heart malformation, including one-patched, two-patched and «australian» methods. Complications in the early postoperational period developed in 11 (47,8%) patients, lethality was 8,7%.

Keywords: atrioventricular septal defect, radical correction, AV-blockage, bleeding.

УДК 616.12-089:[616.121+616.126.424]

И. Е. Сагатов^{1,2}, А. В. Квашнин², У. Е. Имаммырзаев²,
Н. Б. Данияров², Д. Т. Нурлан¹

¹Казахский медицинский университет непрерывного образования, Алматы, Казахстан,

²Национальный научный центр хирургии им. А. Н. Сызганова, Алматы, Казахстан

**РАННИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАДИКАЛЬНОЙ КОРРЕКЦИИ РАЗЛИЧНЫХ
ФОРМ АТРИОВЕНТРИКУЛЯРНОГО СЕПТАЛЬНОГО ДЕФЕКТА**

Аннотация. Представлен анализ непосредственных результатов хирургического лечения 23 пациентов с различными формами атриовентрикулярного септального дефекта: неполной (12 пациентов), промежуточной (переходной) (8 пациентов) и полной формами (3 пациентов). Всем пациентам выполнена радикальная коррекция порока, в том числе однозаплатным, двухзаплатным и «австралийской» методикам. Осложнения в раннем послеоперационном периоде возникли у 11 (47,8%) пациентов, летальность составила 8,7%.

Ключевые слова: атриовентрикулярный септальный дефект, радикальная коррекция, АВ-блокада, кровотечение.

Введение. Атриовентрикулярный септальный дефект (АВСД) – это сложный врожденный порок сердца, встречающийся с частотой 4-5% в структуре всех врожденных пороков сердца, либо у 2-4 новорожденных на 10 000 родов [1, 2, 8, 9]. АВСД характеризуется патологией развития атриовентрикулярных клапанов в виде формирования общего атриовентрикулярного кольца, разделяющего предсердия и желудочки, а также аномалиями развития створок и хордально-папиллярного аппарата. Общепринятым является подразделение АВСД на 4 анатомические формы: неполная или частичная, переходная, промежуточная и полная. В свою очередь полная форма АВСД имеет сбалансированный и несбалансированные подтипы. При полной форме АВСД отсутствует фиброзный участок, разделяющий в норме митральное и трикуспидальное фиброзные кольца, и дефект атриовентрикулярной перегородки. По данным Rastelli [11], предсердно-желудочковый аппарат при полной форме АВСД подразделяется на три типа: А, В и С. Диагноз

выставляется при помощи левой вентрикулографии, на которой имеет место быть деформация путей оттока из левого желудочка по типу «гусиной шеи», митральная регургитация и сброс крови через ДМЖП при полной форме АВСД [4, 5].

Цель исследования – изучить непосредственные результаты радикальной коррекции различных форм атриовентрикулярного септального дефекта.

Материал и методы. Ретроспективному анализу подвергнуты 23 пациента, которые находились на стационарном лечении в отделении кардиохирургии ННЦХ им. А. Н. Сызганова (клиническая база КазМУНО) в период с 2011 по 2016 год. Средний возраст пациентов составил $21,7 \pm 15,3$ лет, самому младшему из них было 4 месяцев, самому старшему – 51 год. Среди пациентов преобладали лица женского пола (65,2%). Все пациенты были распределены на три группы в зависимости от формы АВСД: с неполной формой (12 пациентов), промежуточной (переходной) формой (8 пациентов) и с полной сбалансированной формой (3 пациента). Всем пациентам выполнена радикальная коррекция порока. Общая характеристика пациентов до операции представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Общая характеристика пациентов до операции

Характеристика	АВСД, неполная форма	АВСД, промежуточная (переходная) форма	АВСД, полная сбалансированная форма	p		
	1	2	3	1-2	2-3	1-3
Число (абс, %)	12 (52,2)	8 (34,8)	3 (13,0)	–	–	–
Средний возраст (лет)	$27,3 \pm 15,5$	$22,4 \pm 11,0$	$2,0 \pm 2,6$	0,397	0,047	0,028
Женский пол	7	6	2	–	–	–
Мужской пол	5	2	1	–	–	–
ABC score (баллы, категория сложности)	6,2 \pm 4,0 (II)			–	–	–
RACHS-1 (категория сложности)	II	II-III	III	–	–	–
Время ИК (мин)	$144,0 \pm 61,8$	$120,8 \pm 19,1$	$119,0 \pm 9,9$	0,577	0,204	0,957
Время пережатия аорты (мин)	$111,8 \pm 54,0$	$92,8 \pm 22,7$	$89,5 \pm 5,0$	0,633	0,824	0,805

Обработка данных, в том числе статистическая, осуществлялась при помощи прикладных программ для Windows (Excel, Access), а также Statistica 5.5. Средние величины представлены со стандартным отклонением ($M \pm m$). Различия между средними величинами считались достоверными при значениях $p < 0,05$. Стратификация рисков, связанных с хирургическим вмешательством, производилась при помощи Aristotle basic complexity score (ABC score) и Risk adjustment for congenital heart surgery – 1 (RACHS-1).

Результаты исследования

В раннем послеоперационном периоде осложненное течение наблюдалось у 11 (47,8%) пациентов, из которых 2 (8,7%) погибли. Причиной двух летальных исходов после радикальной коррекции полной формы АВСД явилась некупирующаяся острая сердечная недостаточность, потребовавшая высоких доз инотропных препаратов. В остальных 3 случаях с проявлениями острой сердечной недостаточности удалось справиться, все пациенты со стабильной гемодинамикой были переведены в профильное отделение и в дальнейшем выписаны.

Структура нелетальных и летальных осложнений представлена в таблице 2, согласно которой наибольшее число осложнений отмечены у пациентов с неполной и полной формами АВСД. Тогда как у пациентов с промежуточной (переходной) формой АВСД ранний послеоперационный период в большинстве случаев протекал достаточно гладко: осложненный послеоперационный период в виде полной поперечной блокады отмечен только у одного пациента (12,5%).

В раннем послеоперационном периоде выполнены 2 (8,7%) повторные стернотомии в связи с кровотечением по дренажам. У одной пациентки с полной формой АВСД источником кровоте-

чения явилась стенка правого желудочка в месте подшитого временного электрода, у другого пациента с неполной формой АВСД источник явного геморрагия установить не представилось возможным.

В раннем послеоперационном периоде нарушения проводимости в виде АВ-блокады 3 степени возникли у 4 пациентов, что составило 17,4% от общего числа пациентов: у 3 (13,1%) – после радикальной коррекции неполной формы АВСД, у 1 (4,3%) – после радикальной коррекции промежуточной формы АВСД. Впоследствии всем пациентам была выполнена имплантация постоянного ЭКС.

Таблица 2 – Структура нелетальных и летальных осложнений раннего послеоперационного периода

Нелетальные и летальные осложнения	АВК, неполная форма, n=12		АВК, промежуточная (переходная) форма, n=8		АВК, полная форма, n=3	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Острая сердечная недостаточность	3	25,0	–	–	2	66,7
Кровотечение	1	8,3	–	–	1	33,3
АВ-блокада 3ст	3	25,0	1	12,5	–	–
Всего	7	58,3	1	12,5	3	100,0

Госпитальная летальность при хирургическом лечении АВСД составила 8,7%. 2 ребенка в возрасте 4-х и 6-и месяцев с полными сбалансированными формами АВСД погибли вследствие некупирующейся острой сердечной недостаточности: один – в день операции, другой – на следующие сутки после операции. Обоим пациентам была выполнена радикальная коррекция порока: одному из них – однозаплатным методом, другому – двухзаплатным методом. Дополнительно ко всему, 4-х месячный ребенок страдал синдромом Дауна, а у полугодовалой девочки АВСД сочетался со вторичной легочной гипертензией высокой степени. Несмотря на адекватную хирургическую коррекцию данной формы порока, в обоих случаях стабильное гемодинамическое состояние в раннем послеоперационном периоде обеспечить не удалось, что повлекло за собой фатальный исход.

Обсуждение

В наших наблюдениях хирургическая коррекция АВСД в большинстве случаев не представляла каких-либо сложностей, которые могли бы серьезно ухудшить результаты лечения. Согласно многочисленным исследованиям, большинство прооперированных пациентов в среднеотдаленные и отдаленные сроки после радикальной коррекции АВСД находятся в более низких функциональных классах, то есть практически не имеют каких-либо существенных проблем с физическим и психологическим здоровьем, ограничивающих их повседневную жизнедеятельность [1, 2, 3, 8]. Согласно данным Buratto E и соавт. (2016), 10-летняя выживаемость после хирургической коррекции различных форм АВСД составляет 90%, 20-летняя выживаемость – 83%, а свобода от реоперации в 10 и 20-летний период составляет около 66% [8].

Однако по данным некоторых авторов, ранними и поздними возможными осложнениями после хирургической коррекции АВСД могут быть [1, 6-10, 12]:

- повреждение проводящих путей с возникновением нарушений ритма сердца и проводимости в виде неполной и полной поперечной блокады;
- повреждение огибающей ветви левой коронарной артерии при аннулопластике передне-латеральной комиссуры митрального клапана;
- остаточная регургитация на атриовентрикулярных клапанах;
- стенозирование атриовентрикулярных отверстий;
- стенозирование пути оттока из левого желудочка.

При явном дефиците тканей створок следует предпочесть протезирование клапана пластическому вмешательству. При выраженном доминировании одного из желудочков следует отказаться от двухжелудочковой коррекции в пользу одножелудочковой по Фонтену [2, 3, 7].

Необходимость повторных операций на митральном клапане после радикальной коррекции полной формы АВСД может быть обусловлена, во-первых, необоснованно широким применением пластических методов реконструкции при тяжелой исходной патологии митрального компонента клапана, и, во-вторых, хирургическими ошибками в виде неадекватно выполненной реконструкции митрального компонента клапана [7].

В качестве независимых факторов риска реконструктивной коррекции полной формы АВСД служат дефицит створчатой ткани, относительная гипоплазия правого или левого желудочка, аномалии крепления створок, хорд и папиллярных мышц, двойное отверстие митрального клапана, одна группа папиллярных мышц левого желудочка. При этом ряд хирургов операцией выбора считают реконструкцию пораженных клапанов, другие же при тотальной недостаточности общего атриоventрикулярного клапана, сочетающейся с его дополнительными аномалиями, выполняют первичное протезирование [7].

Заключение. Таким образом, АВСД – это врожденный порок сердца, имеющий различные формы, которые связаны с вовлечением в процесс межпредсердной и межжелудочковой перегородок, а также тяжестью анатомических изменений в атриоventрикулярных створках и подклапанной структурах. В наших наблюдениях наибольший процент случаев составили пациенты с неполной и промежуточной формами АВСД (86,9%), хирургическая коррекция которых в большинстве случаев не представляла каких-либо сложностей. Напротив, 2 (8,7%) летальных исхода возникли в ближайшем послеоперационном периоде у пациентов раннего возраста с полной формой АВСД. Причиной госпитальной летальности в обоих случаях явилась некупирующаяся острая сердечная недостаточность.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Бокерия Л.А., Горбачевский С.В. Атриоventрикулярный канал. Анатомия и особенности хирургической коррекции. – М.: Изд-во НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН, 2005.
- [2] Горбатов Ю.Н. и соавт. Радикальная коррекция открытого атриоventрикулярного канала. Медицинская технология. – Новосибирск, 2008. – 33 с.
- [3] Сагатов И.Е. Сравнительная оценка результатов различных методов операции Фонтена в хирургическом лечении врожденных пороков сердца: Дис. ... д. м. н. – М., 2008. – 250 с.
- [4] Сагатов И.Е. Методы хирургического лечения сложных врожденных пороков сердца. Алматы, 2014. – 34 с.
- [5] Сагатов И.Е. Операционный риск и качество жизни у пациентов кардиохирургического профиля. – Алматы, 2015. 142 с.
- [6] Abarbanell G.L., Morrow G., Kelleman M.S., Kanter K.R., Border W.L., Sachdeva R. Echocardiographic Predictors of Left Ventricular Outflow Tract Obstruction following Repair of Atrioventricular Septal Defect. *Congenit Heart Dis.* – 2016 May 12. – doi: 10.1111/chd.12370.
- [7] Bokeria L.A., Gorbachevsky S.V., Makhachev O.A., Kim A.I., Rahmonov K.H., Fillipkina T.Y.. Mitral valve replacement in complete atrioventricular septal defect: choice of the prosthesis and risk factors. 60-th ESCVS International congress. – Moscow, 20-22 May, 2011. – P. 80.
- [8] Buratto E., Ye X.T., Bullock A., Kelly A., d'Udekem Y., Brizard C.P., Konstantinov I.E. Long-term outcomes of reoperations following repair of partial atrioventricular septal defect // *Eur J Cardiothorac Surg.* – 2016 Aug; 50(2): 293-297.
- [9] Devlin P.J., Backer C.L., Eltayeb O., Mongé M.C., Hauck A.L., Costello J.M. Repair of Partial Atrioventricular Septal Defect: Age and Outcomes // *Ann Thorac Surg.* – 2016 Jul; 102(1): 170-177.
- [10] Moreno N., Almeida J., Amorim M.J. Atrioventricular septal defect in an adult patient // *Rev Port Cardiol.* – 2016 Mar; 35(3): 181.
- [11] Rastelli G.C., Ongley P.A., Kirklin J.W. Surgical repair of the complete form persistent common atrioventricular canal // *J Thorac Surg.* – 1968; 55(3): 299-307.
- [12] Sagatov I.Ye. Modeling of the operational risk in patients with congenital heart diseases // *Cardiology.* – 2015; 131(Suppl 1): 29-30.

REFERENCES

- [1] Bokerija L.A., Gorbachevskij S.V. Atrioventrikuljarnyj kanal. Anatomija i osobennosti hirurgicheskoy korrekcii. M.: Izd-vo NCSSH im. A. N. Bakuleva RAMN, 2005.
- [2] Gorbatyh Ju.N. i soavt. Radikal'naja korrekciija otkrytogo atrioventrikuljarnogo kanala. Medicinskaja tehnologija. Novosibirsk, 2008. 33 p.
- [3] Sagatov I.E. Sravnitel'naja ocenka rezul'tatov razlichnyh metodov operacii Fontena v hirurgicheskom lechenii vrozhdennyh porokov serdca: Dis. d.m.n. Moskva, 2008. 250 p.
- [4] Sagatov I.E. Metody hirurgicheskogo lechenija slozhnyh vrozhdennyh porokov serdca. Almaty, 2014. 34 p.
- [5] Sagatov I.E. Operacionnyj risk i kachestvo zhizni u pacientov kardiohirurgicheskogo profilja. Almaty, 2015. 142 p.

[6] Abarbanell G.L., Morrow G., Kelleman M.S., Kanter K.R., Border W.L., Sachdeva R. Echocardiographic Predictors of Left Ventricular Outflow Tract Obstruction following Repair of Atrioventricular Septal Defect: *Congenit Heart Dis.* 2016 May 12. doi: 10.1111/chd.12370.

[7] Bokeria L.A., Gorbachevsky S.V., Makhachev O.A., Kim A.I., Rahmonov K.H., Fillipkina T.Y. Mitral valve replacement in complete atrioventricular septal defect: choice of the prosthesis and risk factors // 60-th ESCVS International congress. M.: 20-22 May, 2011. P. 80.

[8] Buratto E., Ye X.T., Bullock A., Kelly A., d'Udekem Y., Brizard C.P., Konstantinov I.E. Long-term outcomes of reoperations following repair of partial atrioventricular septal defect // *Eur J Cardiothorac Surg.* 2016 Aug; 50(2): 293-297.

[9] Devlin P.J., Backer C.L., Eltayeb O., Mongé M.C., Hauck A.L., Costello J.M. Repair of Partial Atrioventricular Septal Defect: Age and Outcomes // *Ann Thorac Surg.* 2016 Jul; 102(1): 170-177.

[10] Moreno N., Almeida J., Amorim M.J. Atrioventricular septal defect in an adult patient // *Rev Port Cardiol.* 2016 Mar; 35(3): 181.

[11] Rastelli G.C., Ongley P.A., Kirklin J.W. Surgical repair of the complete form persistent common atrioventricular canal // *J Thorac Surg.* 1968; 55(3): 299-307.

[12] Sagatov I.Ye. Modeling of the operational risk in patients with congenital heart diseases // *Cardiology.* 2015; 131(Suppl 1): 29-30.

І. Е. Сағатов^{1,2}, А. В. Квашнин², У. Е. Имаммырзаев², Н. Б. Данияров², Д. Т. Нұрлан¹

¹Қазақ мемлекеттік медициналық үздіксіз білім беру университеті, Алматы, Қазақстан,

²А. Н. Сызғанов атындағы ұлттық ғылыми хирургия орталығы, Алматы, Қазақстан

ӘРТҮРЛІ АТРИОВЕНТРИКУЛЯРЛЫҚ ПЕРДЕ АҚАУЫНЫҢ РАДИКАЛДЫҚ ТҮЗЕТУДІҢ ЕРТЕ НӘТИЖЕЛЕРІ

Аннотация. Атриовентрикулярлық перде ақауының әртүрлі формасына шалдыққан 23 науқасты хирургиялық емдеудің ерте нәтижелерін талдау ұсынылған: оның ішінде 12 науқаста толық емес формасы, 8 науқаста аралық (өтпелі) формасы және 3 науқаста толық формасы болды. Барлық науқастарға бір төсемелі, екі төсемелі және «австралиялық» әдістерін қамтыған туа біткен ақауды радикалды түзету жүргізілді. 11 науқаста (47,8%) ерте ота кезіндегі асқынулар орын алды, өлім көрсеткіші 8,7 % құрады.

Түйін сөздер: атриовентрикулярлық перде ақауы, радикалды түзету, АВ-блокада, қан кету.

Сведения об авторе:

Сағатов Инкар Ергалиевич – доцент кафедры сердечно-сосудистой и эндоваскулярной хирургии КазМУНО, главный научный сотрудник ННЦХ им. А. Н. Сызганова, доктор медицинских наук, e-mail: inkar_sagatov@rambler.ru

Sagatov Ye. Inkar – Assistant Professor of CardioVascular and EndoVascular Department of KazMUCE, Chief Researcher of NSCS named after A.N. Syzganov, Ph.D., M.D., e-mail: inkar_sagatov@rambler.ru

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 63 – 70

L. S. Kayupova, N. V. Kravtsova, L. S. Dzo, A. M. Kurmanova

Scientific Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: kls-5858@mail.ru

**IMMUNOLOGICAL CRITERIA
OF PLACENTAL INSUFFICIENCY**

Abstract. The studies established the immune system quantitative and functional parameters changes in III trimester of pregnant, women in childbirth, postpartums and newborns with placental insufficiency. The imbalance of lymphocytes subpopulations indicators, increase of early activation and functional cytotoxic activity of immune cells in the systemic and local level were revealed. These changes specify the immunoregulatory mechanisms violations in the mother-placenta-fetus system in case of placental insufficiency and necessity for appropriate correction.

Keywords: placental insufficiency, lymphocytes subpopulation profile, perforin.

УДК 618

Л. С. Каюпова, Н. В. Кравцова, Л. С. Дзоз, А. М. Курманова

Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии МЗ и СР РК, Алматы, Казахстан

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ
ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

Аннотация. В результате проведенных исследований установлен характер изменений количественных и функциональных параметров иммунной системы у беременных III триместра, рожениц, родильниц и новорожденных при плацентарной недостаточности. Выявлена разбалансировка показателей субпопуляционного состава лимфоцитов, увеличение ранней активации и функциональной цитотоксической активности иммунокомпетентных клеток на системном и локальном уровне. Полученные изменения указывают на нарушение иммунорегуляторных механизмов в системе мать-плацента-плод при плацентарной недостаточности и необходимости проведения соответствующей коррекции.

Ключевые слова: плацентарная недостаточность, субпопуляционный профиль лимфоцитов, перфорин.

При беременности складываются своеобразные взаимоотношения организмов матери и плода. В течении гестационного процесса плод развивает собственную иммунологическую компетентность, а материнский организм при помощи маточно-плацентарного комплекса усиливает влияние программ адаптации, что в конечном итоге позволяет сосуществовать двум чужеродным организмам – материнскому и плодovому [1]. Участие иммунной системы матери в контроле гестационного процесса бесспорно, при физиологической беременности иммунная система женщины претерпевает значительные изменения, в основе которых лежит формирование гестационной иммуносупрессии [2, 3].

Состояние иммунной системы является одним из важных критериев полноценности функциональных гомеостатических механизмов беременной, обеспечивающих динамическое равновесие в системе мать-плацента-плод [4]. Беременность характеризуется появлением плодовых антигенов, которые определяют тот или иной тип иммунного ответа, популяционный состав

иммунокомпетентных клеток и их функциональную активность. На каждом этапе гестации имеется определенный количественный уровень популяций и субпопуляций лимфоцитов, отражающий последовательную системную адаптацию к выраженности антигенной нагрузки [5].

В результате развития иммунологических взаимоотношений между матерью и плодом плацента становится иммунологически привилегированной тканью. Трофобласт выступает также в роли иммуносорбента, связывая антитела, являющиеся иммунорегуляторами, и устанавливая иммунный камуфляж, блокирующий эфферентное звено иммунного ответа. К 10 неделям беременности плод становится иммунологическим партнером матери. Данный симбиоз приводит к развитию иммунологического импринтинга в организме матери, который остается на всю жизнь. После установки иммунологического симбиоза между матерью и плодом, система становится исключительно устойчивой к неблагоприятным иммунологическим воздействиям. Гормональные и другие события, запрограммированные на конец беременности, приводят к разрыву иммунологического симбиоза [6].

Цель исследования. Изучить характер изменений иммунологических параметров у беременных, рожениц, родильниц и новорожденных при плацентарной недостаточности

Материал и методы. Для изучения особенностей гомеостаза в системе мать-плацента-плод при плацентарной недостаточности (ПН) были определены 2 группы – контрольная и основная. Контрольную группу составили 30 здоровых женщин фертильного возраста с физиологически протекающей беременностью при сроке беременности 38-41 неделя (III триместр), 30 рожениц, 30 родильниц и 30 новорожденных, родившихся при естественных родах с оценкой по шкале Апгар 8-9 баллов. В основную группу вошли женщины с беременностью, осложненной плацентарной недостаточностью (III триместр – 30), 30 рожениц, 30 родильниц и новорожденные, перенесшие внутриутробно ПН (30). Материалом исследования служила периферическая кровь женщин, а также пуповинная кровь новорожденных.

Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови женщин, рожениц, родильниц и пуповинной крови выявляли по общелимфоцитарному гейту CD45+ методом прямой мембранной иммуофлюоресценции на проточном цитометре BD FACS Calibur с применением панели моноклональных антител к поверхностным антигенам лимфоцитов: к CD3+ - маркеру зрелых Т-лимфоцитов, к CD3+, CD4+ - маркеру хелперно-индукторных Т-клеток, к CD3+, CD8+ - маркеру супрессорно-цитотоксических Т-лимфоцитов, к CD3+, CD16+, и к CD3+, CD56+ - маркеру натуральных киллерных клеток CD16+ и CD56+ фенотипов, к CD19+ - маркеру В-лимфоцитов, к CD3+, HLA-DR+ - маркеру активированных Т-лимфоцитов, к CD3+, CD25+ - маркеру ζ -цепи ИЛ-2, к CD3+, CD95+ - маркеру апоптоза. Определяли ИРИ по соотношению CD4+/CD8+ клеток, а также индекс апоптоза по CD95+/CD25+. Локализацию активационных маркеров CD25+ и CD95+ на клетках осуществляли методом двойного фенотипирования.

Пороформирующий белок перфорин в клетках определяли методом пермеабилитации. Использовали коммерческие наборы реагентов, меченные FITS (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD25, CD95, HLA-DR), а также меченные PE (CD25, CD95) BD Biosciences (США).

Результаты исследования и их обсуждение

Критерием включения беременных в основную группу исследования был выставленный клинический диагноз ПН, подтвержденный инструментальными методами. Для оценки клинического состояния беременных была разработана анкета, включающая соматический, акушерский, гинекологический анамнез, сведения о течении беременности. Также учитывалось состояние новорожденных при рождении.

Таблица 1 – Оценка новорожденных исследуемых групп по шкале Апгар

Наименование	ПСП	Оценка по шкале Апгар.		Масса при рождении, г
		на 1 мин.	на 5 мин.	
Контрол. Группа (n=30)	0,84±0,05	7,8±0,17	9,0±0,52	3435,5±286,3
Основная группа с ПН (n=30)	2,35±0,15*	6,7±0,52*	7,5±0,34*	3112,4±222,8
*p < 0,001 (относительно контроля).				

Период постнатальной адаптации у всех детей контрольной группы протекал без особенностей. В группе новорожденных, перенесших ПН, отмечалось значительное количество осложнений. У 16,6% был отмечен риск реализации внутриутробной инфекции, гипотрофия I-II степени отмечалась у 6,6%, у 36,6% новорожденных отмечалось поражение ЦНС гипоксического генеза, гемолитическая болезнь новорожденных – 3,3%.

При изучении субпопуляционного профиля лимфоцитов периферической крови было выявлено, что иммунологические параметры у беременных с ПН существенно отличались от аналогичных данных, выявленных в группе контроля (таблица 2).

Таблица 2 – Субпопуляционный профиль лимфоцитов периферической крови у беременных с плацентарной недостаточностью (Штриместр)

Наименование субпопуляций лимфоцитов периферической крови (%)	Группы беременных	
	ПН (n=30)	Контроль (n=30)
Т-лимфоциты (CD3+CD19-)	69,01 ± 0,91*	60,91 ± 0,46
Т-хелперы (CD4+CD8-)	39,54 ± 0,40	40,01 ± 0,46
Т-цитотоксич (CD8+CD4-)	26,02 ± 0,26	26,34 ± 0,063
НК КЛЕТКИ (CD16+CD3+)	19,83 ± 0,49*	10,36 ± 0,19
Т-киллеры (CD56+CD3+)	9,30 ± 0,28*	5,79 ± 0,030
В-лимфоциты (CD19+CD3-)	20,59 ± 0,02*	13,08 ± 0,49
Т-активирован. (CD3+HLA-DR+)	15,42 ± 0,02*	10,76 ± 0,20
В-активир. и НК (CD3-HLA-DR+)	22,63 ± 0,020*	12,04 ± 0,20
Маркер ранней активации (CD25+CD3+)	0,45 ± 0,02*	8,0 ± 0,12
Маркер апоптоза (CD95+CD3+)	1,29 ± 0,02*	7,21 ± 0,03
Индекс апоптоза (CD95+/CD25+)	3,02 ± 0,19*	0,90 ± 0,01
ИРИ (CD4+/CD8+)	1,52 ± 0,01	1,52 ± 0,30
*p < 0,05 относительно контроля.		

Это касалось достоверного увеличения количества зрелых Т-(CD3+CD19-), В- (CD19+CD3-) лимфоцитов, нарастания количества натуральных киллерных клеток CD16+CD3+ и CD56+CD3+ фенотипов, увеличения количества активированных CD3+HLA-DR+ и CD3-HLA-DR+ клеток, как показателя усиления иммунного ответа на чужеродные антигены гистосовместимости второго класса (p<0,05).

В то же время регистрировалось снижение количества Т-лимфоцитов, несущих маркер ранней активации CD25+ и маркер апоптоза CD95+ в сравнении с контролем, что приводило к нарастанию индекса апоптоза CD95+/CD25+ и указывало на нарушения процессов пролиферации и апоптоза при ПН у беременных (p<0,05). ИРИ, а также количество иммунорегуляторных хелперно-индукторных (CD4+CD8-) и цитотоксических (CD8+CD4-) лимфоцитов практически оставалось на одном уровне с контролем.

В группе рожениц (таблица 3) с ПН изменения параметров иммунной системы выражались в уменьшении количества зрелых Т-(CD3+CD19-), Т-хелперных (CD4+CD8-) лимфоцитов, увеличении числа натуральных киллерных клеток CD16+CD3+ и CD56+CD3+ фенотипов, в нарастании количества В-клеток антителопродуцентов (CD19+CD3-), цитотоксических CD8+CD4- лимфоцитов, увеличения количества активированных CD3+HLA-DR+ и CD3-HLA-DR+ клеток, уменьшения уровня Т-лимфоцитов, несущих маркеры ранней активации CD25+ и Fas-рецептора CD95+, опосредующего апоптоз. Индекс апоптоза CD95+/CD25+ был ниже. Данные указывают на разбалансировку показателей иммунитета в родах в группе рожениц с ПН.

В группе родильниц с ПН, обследованных на 3-4 сутки после родов, в сравнении с контрольными данными (таблица 4) в периферической крови регистрировалось уменьшение количества иммунорегуляторных CD4+CD8- и CD8+CD4- лимфоцитов, снижение числа CD95+CD3+ клеток и отсутствие изменений количества зрелых CD3+CD19-лимфоцитов. В тоже время тестировано

Таблица 3 – Субпопуляционный профиль лимфоцитов периферической крови у рожениц с плацентарной недостаточностью

Наименование субпопуляций лимфоцитов периферической крови (%)	Группы рожениц	
	ФПН (n=30)	Контроль (n=30)
Т-лимфоциты (CD3+CD19-)	56,84 ± 0,31*	65,3 ± 0,20
Т-хелперы (CD4+CD8-)	40,89 ± 0,23*	43,17 ± 0,24
Т-цитотоксич (CD8+CD4-)	29,40 ± 0,5*	27,2 ± 0,40
НК КЛЕТКИ (CD16+CD3+)	22,28 ± 0,51*	11,3 ± 0,02
Т-киллеры (CD56+CD3+)	10,26 ± 0,33*	0,10 ± 0,01
В-лимфоциты (CD19+CD3-)	23,19 ± 0,31*	13,9 ± 0,31
Т-активирован (CD3+HLA-DR+)	14,5 ± 0,18*	11,38 ± 0,21
В-активир. и НК (CD3-HLA-DR+)	22,83 ± 0,33*	13,01 ± 0,10
Маркер ранней активации (CD25+CD3+)	0,80 ± 0,01*	7,74 ± 0,11
Маркер апоптоза (CD95+CD3+)	0,90 ± 0,05*	7,51 ± 0,02
Индекс апоптоза (CD95+/CD25+)	0,83 ± 0,05*	0,97 ± 0,02
ИРИ (CD4+/CD8+)	1,39 ± 0,02	1,59 ± 0,015

*p < 0,05 относительно контроля.

Таблица 4 – Субпопуляционный профиль лимфоцитов периферической крови у родильниц с плацентарной недостаточностью

Наименование субпопуляций лимфоцитов периферической крови (%)	Группы родильниц	
	ФПН (n=30)	Контроль (n=30)
Т-лимфоциты (CD3+CD19-)	66,69 ± 0,66	67,10 ± 0,45
Т-хелперы (CD4+CD8-)	35,93 ± 0,25*	47,2 ± 1,25
Т-цитотоксич (CD8+CD4-)	22,33 ± 0,27*	26,9 ± 1,21
НК КЛЕТКИ (CD16+CD3+)	15,93 ± 0,05 *	12,0 ± 0,54
Т-киллеры (CD56+CD3+)	6,67 ± 0,13*	4,13 ± 0,26
В-лимфоциты (CD19+CD3-)	19,02 ± 0,52*	8,3 ± 0,45
Т-активирован. (CD3+HLA-DR+)	9,62 ± 0,13	9,04 ± 0,44
В-активир. и НК (CD3-HLA-DR+)	18,72 ± 0,24*	10,3 ± 0,21
Маркер ранней активации (CD25+CD3+)	0,66 ± 0,02*	0,097 ± 0,01
Маркер апоптоза (CD95+CD3+)	0,77 ± 0,05*	5,14 ± 0,23
Индекс апоптоза (CD95+/CD25+)	1,09 ± 0,08*	0,71 ± 0,01
ИРИ (CD4+/CD8+)	1,62 ± 0,01*	1,75 ± 0,03

*p < 0,05 относительно контроля.

увеличение количества натуральных киллерных клеток обеих фенотипов, В-клеток антителопродуцентов и их активации по HLA-DR+ антигену, увеличение количества активированных CD25+CD3+ лимфоцитов и индекса апоптоза. ИРИ был достоверно ниже данных группы контроля.

Таким образом, исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у женщин с ПН, обследованных в указанные периоды (беременные III триместра, роженицы, родильницы) в сравнении с аналогичными данными, полученными у женщин при физиологическом течении беременности, родах и послеродовом периоде, выявило разбалансировку иммунных параметров, обусловленных ПН.

В отличие от нормы во всех группах обследованных при ПН регистрировалось увеличение количества натуральных киллерных клеток CD16+ и CD56+ фенотипов, осуществляющих киллинговый эффект; нарастание количества В-клеток антителопродуцентов (CD19+CD3-); увеличение

количества Т- и В-лимфоцитов с HLA-DR+ антигеном (беременные, роженицы) и только В- (родильницы); снижение количества клеток, несущих маркеры ранней активации CD25+ и апоптоза CD95+ (беременные, роженицы) и CD95+ (родильницы), увеличение количества клеток с CD25+ маркером (родильницы); нарастание общего количества зрелых Т-лимфоцитов (беременные), снижение их числа (роженницы), не меняющееся количество (родильницы); отсутствие изменений количества иммунорегуляторных CD4+CD8+ Т-лимфоцитов у беременных, снижение их числа у родильниц и разнонаправленность результатов в группе рожениц.

Также были исследованы основные показатели локализации активационных маркеров CD25+, CD95+ на CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD56+ лимфоцитах периферической крови беременных, рожениц, родильниц с ПН. Так локализация активационного маркера CD25+ на CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD56+ лимфоцитах у беременных с ПН была достоверно выше, нежели в контрольной группе беременных. Локализация на клетках Fas рецептора CD95+, опосредующего апоптоз, была усиленной на CD3+, CD16+, CD56+, лимфоцитах, что свидетельствовало о готовности зрелых Т-, натуральных киллерных клеток CD16+, CD56+ фенотипов к гибели и сниженной на CD4+, CD8+ лимфоцитах, осуществляющих иммунорегуляторные функции.

Сравнительный анализ между данными, полученными при исследовании контрольной и основной групп пуповинной крови представлены в таблицах 5 и 6.

Таблица 5 – Субпопуляционный профиль лимфоцитов пуповинной крови при плацентарной недостаточности

Наименование субпопуляций (%)	Пуповинная кровь			
	Материнская часть		Плодовая часть	
	Контроль	ПН	Контроль	ПН
Т-лимфоциты (CD3+CD19-)	64,26 ± 0,89	55,56 ± 0,82*	48,889 ± 0,06	51,51 ± 1,03*
Т-хелперы (CD4+CD8-)	37,98 ± 0,15	35,95 ± 0,54*	30,42 ± 0,07	34,99 ± 0,49*
Т-цитотоксические (CD8+CD4-)	24,79 ± 0,05	19,71 ± 0,41*	18,2 ± 0,02	22,69 ± 0,22*
НК КЛЕТКИ (CD16+CD3+)	10,21 ± 0,01	13,0 ± 0,28*	8,83 ± 0,03	14,0 ± 0,22*
Т-киллеры (CD56+CD3+)	5,1 ± 0,12	5,53 ± 0,13*	3,71 ± 0,04	6,80 ± 0,36*
В-лимфоциты (CD19+CD3-)	15,05 ± 0,48	13,69 ± 0,40*	9,33 ± 0,08	15,04 ± 0,40*
Т-активированные (CD3+HLA-DR+)	10,45 ± 0,15	10,16 ± 0,42	5,71 ± 0,03	8,49 ± 0,37*
В-активированные и НК (CD3+HLA-DR+)	13,99 ± 0,13	13,23 ± 0,50	10,67 ± 0,04	15,06 ± 0,58*
Маркер ранней активации (CD25+CD3+)	2,41 ± 0,009	1,13 ± 0,09*	0,75 ± 0,01	0,54 ± 0,04*
Маркер апоптоза (CD95+CD3+)	0,84 ± 0,007	0,81 ± 0,03	1,17 ± 0,09	0,93 ± 0,04*
Индекс апоптоза (CD95+/CD25+)	0,35 ± 0,004	1,35 ± 0,10*	1,56 ± 0,07	1,72 ± 0,37
ИРИ (CD4+/CD8+)	1,53 ± 0,003	1,85 ± 0,03*	1,67 ± 0,001	1,55 ± 0,02*
*p < 0,05.				

Анализ субпопуляционного состава лимфоцитов при ПН в материнской части пуповинной крови позволил установить достоверное снижение количества зрелых CD3+CD19-, иммунорегуляторных CD4+CD8-, CD8+CD4- Т-лимфоцитов, CD19+CD3-, CD25+CD3+, с одновременным увеличением количества CD16+CD3+, CD56+CD3- лимфоцитов. Было отмечено отсутствие различий между группами количества CD3+HLA-DR+, CD3+HLA-DR+, CD95+CD3+ лимфоцитов в сравнении с контролем. При этом индекс апоптоза при ПН был значительно выше.

Т.е. при ПН имеют место отклонения в перераспределении и миграции лимфоцитов материнской части пуповинной крови, что вызывало количественный дефицит зрелых Т-, иммунорегуляторных, Т-хелперных и Т-супрессорно-цитотоксических лимфоцитов, В-клеток антителопродуцентов, а также, снижение числа Т-лимфоцитов, несущих маркер ранней активации CD25+. Натуральные киллеры CD16+ и CD56+ фенотипов, наоборот, при ПН были выше, чем в контроле, а количество активированных Т-, В-, и НК- клеток по HLA-DR маркеру не выявило достоверных различий. В плодовой части пуповинной крови при ПН изменения показателей относительно контроля отличались от таковых в материнской части. Было выявлено достоверное увеличение числа

CD3+CD19-, CD4+CD8-, CD8+CD4-, CD16+CD3+, CD56+CD3-, CD19+CD3-, увеличение количества активированных Т-, В-, и NK- клеток по HLA-DR, снижение количества CD25+CD3+ и CD95+CD3+ клеток, а также ИРИ. Индекс апоптоза в сравнении с контролем был одинаковым.

При исследовании функциональных свойств лимфоцитов материнской и плодовой частей пуповинной крови при плацентарной недостаточности были выявлены однотипные изменения. Так, в отличие от показателей контрольной группы, при плацентарной недостаточности увеличена локализация CD25+ маркера ранней активации, ответственного за процессы пролиферации клеток, на CD3+CD19-, CD4+CD8-, CD8+CD4-, CD16+CD3+, CD56+CD3+ лимфоцитах как в материнской, так и в плодовой частях, что указывает на увеличение пролиферативной активности зрелых Т-, хелперно-индукторных, супрессорно-цитотоксических Т-лимфоцитов, а также увеличении функций натуральных киллерных лимфоцитов при ПН ($p < 0,05$).

Локализация CD95+ маркера, опосредующего апоптоз, была достоверно увеличенной на лимфоцитах как материнской, так и плодовой частей пуповинной крови при ПН в сравнении с контролем. Это касалось зрелых Т-, супрессорно-цитотоксических Т-, натуральных киллерных клеток CD16+CD56+ фенотипов, что свидетельствовало о готовности данных клеток к гибели.

Таблица 6 – Локализация активационных маркеров CD25+, CD95+ на лимфоцитах пуповинной крови при плацентарной недостаточности

Наименование субпопуляций (%)	Пуповинная кровь			
	Материнская часть		Плодовая часть	
	Контроль	ПН	Контроль	ПН
CD3+ CD19-/CD25+	3,70 ± 0,04	10,0 ± 0,19*	6,43 ± 0,15	11,33 ± 0,58*
CD4+ CD8-/CD25+	3,55 ± 0,05	9,30 ± 0,09*	6,00 ± 0,20	7,90 ± 0,26*
CD8+ CD4-/CD25+	6,15 ± 0,17	11,84 ± 0,23*	7,22 ± 0,002	14,46 ± 0,54*
CD16+ CD3+/CD25+	0,91 ± 0,02	9,38 ± 0,35*	0,70 ± 0,04	9,62 ± 0,56*
CD56+ CD3+/CD25+	0,40 ± 0,05	9,57 ± 0,41*	0,65 ± 0,05	7,47 ± 0,39*
CD3+ CD19-/CD95+	1,55 ± 0,01	9,65 ± 0,27*	3,50 ± 0,07	7,43 ± 0,29*
CD4+ CD8-/CD95+	7,21 ± 0,26	11,63 ± 0,32*	8,95 ± 0,03	6,37 ± 0,39*
CD8+ CD4-/CD95+	5,31 ± 0,37	7,32 ± 0,27*	1,64 ± 0,04	10,05 ± 0,23*
CD16+ CD3+/CD95+	0,13 ± 0,003	6,22 ± 0,22*	0,15 ± 0,004	7,87 ± 0,59*
CD56+ CD3+/CD95+	0,02 ± 0,001	3,81 ± 0,16*	0,05 ± 0,001	6,39 ± 0,30*
* $p < 0,05$.				

Исключение составили CD4+CD8- хелперно-индукторные Т-лимфоциты, осуществляющие протективный иммунный ответ, у которых апоптотические процессы различались между плодовыми и материнскими клетками пуповинной крови. В материнской части функции хелперно-индукторных Т по CD95+ маркеру были повышены, а в плодовой части – снижены. Не исключено, что это может быть связано с уменьшением функциональной активности данного пула клеток в материнской части пуповинной крови контроля ($p < 0,05$). При ПН в плодовой части отмечалось нарастание локализации CD25+ на CD3+CD19-, CD8+CD4- и снижение активационных молекул на CD4+CD8- и CD56+CD3+ лимфоцитах в сравнении с материнской, что указывает на разноплановость изменений функциональной активности лимфоцитов при ЗРП и отличии ее от аналогичных данных контроля ($p < 0,05$). Т.е. все параметры иммунной системы, ответственные за активацию иммунных реакций при ПН были направлены на повреждение и отторжение плода. Выявленные сдвиги могут быть расценены как критерии неблагополучия ЗРП при ПН.

Данные полученные при исследовании клинического материала представлены в таблицах 7 и 8. Анализ результатов позволил выявить увеличение как общего перфоринового числа, так и повышенный уровень продукции перфорина отдельными клетками (CD3+Perf+, CD8+ Perf+, CD16+ Perf+, CD56+ Perf+), достоверно превышающее аналогичные данные, выявленные при физиологической беременности ($p < 0,05$).

Таблица 7 – Внутриклеточная продукция перфорина лимфоцитами периферической крови беременных с ПН

Наименование перфорин-позитивных субпопуляций лимфоцитов периферической крови (%)	Периферическая кровь	
	ПН	Контрольная
CD3+ Perf+	10,57 ± 0,17*	3,78 ± 0,61
CD4+ Perf+	4,98 ± 0,13*	8,74 ± 0,82
CD8+ Perf+	13,34 ± 0,82*	5,76 ± 0,31
CD16+ Perf+	9,08 ± 0,08*	5,32 ± 0,84
CD56+ Perf+	9,85 ± 0,30*	3,28 ± 0,42
Общее перфориновое число	47,82 ± 0,37*	26,88 ± 0,24
*p < 0,05.		

При этом на системном уровне при ПН показатели превышали данные контроля в 1,77 раз, в 2,8, в 2,32, в 1,71, в 3,0 раза соответственно. Это указывает на то, что при ПН в периферической крови беременных повышается уровень продукции иммунокомпетентными клетками пороформирующих белков, оказывающих цитотоксический эффект на клетки-мишени, что, возможно, лежит в основе патогенетических механизмов ПН. При этом внутриклеточная продукция перфорина иммунорегуляторными CD4+ Perf+ клетками, осуществляющих протективный иммунный ответ при ПН отличалась от аналогичных данных контроля снижением в 1,76 раз (p < 0.05).

Таблица 8 – Внутриклеточная продукция перфорина лимфоцитами пуповинной крови новорожденных с ПН

Наименование перфорин-позитивных субпопуляций лимфоцитов пуповинной крови (%)	Пуповинная кровь	
	ПН	Контрольная
CD3+ Perf+	12,0 ± 0,05*	9,11 ± 0,09
CD4+ Perf+	6,83 ± 0,20*	7,55 ± 0,06
CD8+ Perf+	6,29 ± 0,28*	7,95 ± 0,03
CD16+ Perf+	9,17 ± 0,16*	0,67 ± 0,04
CD56+ Perf+	8,9 ± 0,30*	0,99 ± 0,04
Общее перфориновое число	43,19 ± 0,25*	24,6 ± 0,07
*p < 0,05.		

На локальном уровне, в плодовой части пуповинной крови беременных с ПН общее перфориновое число было также повышенным, как и в периферической крови в сравнении с данными контроля соответственно в 1,75 раз, а на уровне отдельных клеток среди CD3+ Perf+-в 1,32 раза, CD16+ Perf+-в 13,68 раз, CD56+ Perf+-в 8,99 раз (p < 0,05), что указывает на цитотоксический эффект данных клеток. Т.е. на локальном уровне при ПН внутриклеточная продукция перфорина осуществлялась зрелыми Т- и натуральными киллерными клетками обеих фенотипов.

Иммунорегуляторные CD4+ Perf+, CD8+ Perf+ лимфоциты пуповинной крови при ПН отличались от аналогичных данных контроля более сниженной внутриклеточной продукцией перфорина (p < 0,05). Эти данные соответственно были меньше в 1,1 и 1,26 раз. Т.е. в плодовой части пуповинной крови при ПН мощный цитотоксический эффект на клетки-мишени осуществляли преимущественно зрелые Т- и натуральные киллерные лимфоциты CD16+, CD56+ фенотипов в сравнении с нормой.

Выводы.

1. Установлено, что осложнение течения беременности ПН нарушает адаптацию организма женщин, вызывая серьезные отклонения функций иммунной системы у беременных, рожениц и родильниц, которые оценивали по локализации активационных маркеров CD25+, CD95+ на CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD56+ лимфоцитах. Выявлено увеличение ранней активации лимфоцитов на системном уровне (периферическая кровь) у беременных III тр-ра, рожениц и родильниц с ПН, а также нарушение механизмов апоптоза (по CD95+), сопровождаемое поломками иммунитета локально. Это находит отражение в изменении функций лимфоцитов у новорожденных. Установлено увеличение активации (по CD25+), CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD56+ иммунокомпетентных клеток, а также готовность к гибели (по CD95+) среди CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD56+ лимфоцитов плодовой части пуповинной крови.

2. На локальном уровне в пуповинной крови однонаправленные изменения функций лимфоидных клеток отмечались как в плодовой, так и материнской части, за исключением хелперно-индукторных Т-лимфоцитов, функции которых были различны. Субпопуляционный профиль лимфоцитов в материнской части пуповинной крови отличался от такового в плодовой снижением количества зрелых Т-, иммунорегуляторных, хелперно-индукторных и цитотоксических Т-лимфоцитов, снижением количества клеток антитело-продуцентов, отсутствием различий по отношению к контролю активированных Т-, В-и НК-клеток. При этом количество Т-клеток с маркером ранней активации CD25+ было одинаково сниженным как в материнской, так и плодовой части пуповинной крови, но количество натуральных киллерных клеток CD16+ и CD56+ было одинаково повышенным, по сравнению с контролем, в обеих частях пуповинной крови.

3. Анализ результатов исследования позволил установить, что осложнение течения беременности ПН вызывает глубокие нарушения в иммунной системе женщин в отношении функциональной цитотоксической активности иммунокомпетентных клеток, оцениваемой по результатам внутриклеточной продукции пороформирующего белка перфорина как на системном, так и локальном уровнях. В отличие от физиологически протекающей беременности при ПН формируется повышенный внутриклеточный синтез пороформирующего белка перфорина, определяемый увеличением общего перфоринового числа (периферическая и пуповинная кровь), усилением внутриклеточной продукции перфорина зрелыми Т- лимфоцитами, натуральными киллерными клетками обеих фенотипов (периферическая и пуповинная кровь), а также супрессорно-цитотоксическими CD8+ лимфоцитами (периферическая кровь), которые осуществляют цитотоксический эффект клеток-мишеней.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Сухих Г.Т., Ванько Л.В. Иммунология беременности. – 2003;400.
- [2] Тетруашвили Н.К. Иммунология. – 2008; 29: 124-129.
- [3] Сидельникова В.М. Российский вестник акушера-гинеколога. – 2007; 2: 62-64.
- [4] Стрижаков А.Н., Игнатко И.В. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2006; 5: 33-41.
- [5] Mark E. Molitch, Lisa P. Purdy. Your Endocrine Source. – 2002; 14: 268.
- [6] Rankouhi T.R., Sanderson J.T., van Holsteijn C. Toxicol. Sci. – 2004; 81: 90–102.

REFERENCES

- [1] Suhih G.T., Vanko L.V. Immunology of pregnancy. 2003; 400.
- [2] Tetrushvili N.K. Immunology. 2008; 29: 124-129.
- [3] Sidelnikov V.M. Russian Gazette of obstetrics-gynecology. 2007; 2: 62-64.
- [4] Strizhakov A.N., Ignatko I.V. Questions of gynec., obstetrics. and perinat. 2006; 5: 33-41.
- [5] Mark E. Molitch, Lisa P. Purdy. Your Endocrine Source. 2002; 14: 268.
- [6] Rankouhi T.R., Sanderson J.T., van Holsteijn C. Toxicol. Sci. 2004; 81: 90-102.

Л. С. Каюпова, Н. В. Кравцова, Л. С. Дзоз, А. М. Курманова

Ғылыми Акушерлік, гинекология және перинатология орталығы, Алматы, Қазақстан

ПЛАЦЕНТАРЛЫ ЖЕТКІЛІКСІЗДІК ИММУНОЛОГИЯЛЫҚ КРИТЕРИЙЛЕРІ

Аннотация. Зерттеулер плацентарлы жеткіліксіздігі бар босану және жаңа туған нәрестелердің жүкті ІІІ триместр, жүкті әйелдер, әйелдер иммундық жүйенің сандық және функционалдық параметрлердің өзгеру сипаты белгіленеді. лимфоциттердің анықталған теңгерімсіздік көрсеткіштері суб, ерте активтендіру және жүйелі және жергілікті деңгейде иммундық жасушалардың функционалдық цитоуытты қызметінің артуы. Бұл өзгерістер плацентарлы жеткіліксіздік және керекті түзету қажеттілігіне ана-плацента-ұрық иммундық механизмдерін бұзу көрсетуі.

Түйін сөздер: плацентарлы жеткіліксіздік, лимфоциттердің профиль, перфорин.

Сведение об авторе

Каюпова Лаура Саясатовна – д. м. н., проф., РГП на ПХВ «НЦАГиП» МЗ и СР РК; kls-5858@mail.ru

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 71 – 80

A. L. Bisekenova¹, B. U. Shalekenov², B. A. Ramazanova¹,
V. N. Lokshin³, T. M. Dzhusubalieva⁴, S. B. Shalekenov², A. A. Musayev¹

¹S. D. Asfendiyarov Kazakh National Medical University, Almaty, Kazakhstan,

²Kazakh Medical University of Continuous Education, Almaty, Kazakhstan,

³International Centre of Clinical Reproduction «Persona»,

⁴Institute of Reproductive Medicine, Almaty, Kazakhstan

ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY AND MOLECULAR MECHANISMS OF RESISTANCE TO β -LACTAMS OF GRAM-NEGATIVE MICROORGANISMS – CAUSATIVE AGENTS OF URINARY TRACT INFECTIONS

Abstract. Etiological structure of urinary tract infections, antibiotic susceptibility results of selected gram-negative bacteria to antibiotics was examined. Gram-negative microorganisms collectively totaled 48.3%, the most frequent causative agents of urinary tract infections are *Escherichia coli* (31,0%), *Klebsiella pneumoniae* (4,6%). The most active drugs in regard to *E.coli* were carbapenems and amikacin (96.3% and 92.6% of susceptible strains, respectively); to gentamicin and tobramycin were 70.4% sensitive. Resistance to cephalosporins of III-IV generations of uropathogenic *E.coli* in 44.4% of cases was due to production of beta-lactamases of extended spectrum (ESBL) CTX-M1 and CTX-1 + OXA types.

All *K.pneumoniae* strains (100%) were sensitive to carbapenems, absolutely resistant to ampicillin (100%); piperacillin (100%). 50% of the strains showed resistance to all other groups of antibiotics. Resistance to cephalosporins of III-IV generations of these strains (50%) is explained by production of bla_{TEM-1 + CTX-M1}.

NFGOB in the etiological structure of urinary tract infections was 3.5%. The strain *P.aeruginosa* was determined, which produces metallo- β -lactamase (MBL) of VIM-2 group.

Keywords: urinary tract infections, gram-negative microorganisms, Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotic resistance, β -lactamase of extended spectrum, metallo- β -lactamase.

УДК 616.62/.63-022.7:615.33:579.84

А. Л. Бисекенова¹, Б. У. Шалекепов², Б. А. Рамазанова¹,
В. Н. Локшин³, Т. М. Джусубалиева⁴, С. Б. Шалекепов², А. А. Мусаева¹

¹Казахский национальный медицинский университет им. С. Д. Асфендиярова, Алматы, Казахстан,

²Казахский медицинский университет непрерывного образования, Алматы, Казахстан,

³Международный центр клинической репродуктологии «Persona»,

⁴Институт репродуктивной медицины, Алматы, Казахстан

АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К β -ЛАКТАМАМ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

Аннотация. Изучены этиологическая структура инфекций мочевыводящих путей, результаты оценки антибиотикочувствительности выделенных грамотрицательных бактерий к антибактериальным препаратам. Грамотрицательные микроорганизмы в совокупности составили 48,3%, наиболее частыми возбудителями

инфекций мочевыводящих путей были *Escherichia coli* (31,0%), *Klebsiella pneumoniae* (4,6%). Наиболее активными препаратами в отношении *E.coli* были карбапенемы и амикацин (96,3% и 92,6% чувствительных штаммов соответственно); к гентамицину и тобрамицину были чувствительными 70,4%. Резистентность к цефалоспорином III–IV поколений уропатогенной *E.coli* в 44,4% случаев была обусловлена продукцией бета-лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) СТХ – M1 и СТХ-M1 + ОХА типов.

Все штаммы *K.pneumoniae* (100%) были чувствительны к карбапенемам, абсолютно резистентны к ампициллину (100%); пиперациллину (100%). Ко всем остальным группам антибиотиков 50% штаммов проявляли устойчивость. Резистентность к цефалоспорином III–IV поколений этих штаммов (50%) объяснялась продукцией $bla_{TEM-1} + CTX-M1$.

НФГОБ в этиологической структуре инфекций МВП составили 3,5%. Выделен штамм *P.aeruginosa*, продуцирующий металло-β-лактамазу (МБЛ) VIM-2 группы.

Ключевые слова: инфекции мочевыводящих путей, грамотрицательные микроорганизмы, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, антибиотикорезистентность, β-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), металло-β-лактамазы.

Введение. Инфекционно-воспалительные заболевания в урологии и вопросы их лечения представляют собой одну из наиболее актуальных проблем современной медицины. Это связано с их распространенностью, частым рецидивированием, социально-экономической и репродуктивной значимостью, а также с прогрессирующим ростом резистентности микроорганизмов к антибиотикам [1-3].

Для успешной антибиотикотерапии прежде всего необходимо знание структуры возбудителей. По данным многочисленных исследований, примерно в 50–90% случаев этиологическим фактором инфекций мочевыводящих путей является *E.coli*. Остальные возбудители (стафилококки, энтерококки, *Pseudomonas aeruginosa*, другие энтеробактерии) встречаются значительно реже [4-9]. В совокупности грамотрицательные бактерии занимают ведущую роль в этиологии инфекций МВП.

Обязательной составляющей рациональной антибиотикотерапии является необходимость учета резистентности уропатогенов к антимикробным препаратам по регионам и возможности ее изменения со временем. В последние годы отмечается тенденция к снижению чувствительности возбудителей инфекций МВП к ряду антибактериальных препаратов, что увеличивает риск неэффективности проводимого лечения. Особенно возрастает резистентность грамотрицательных бактерий к β-лактамам антибиотикам вследствие продукции бета-лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) [10-13].

К важным тенденциям относится рост частоты выделения карбапенемаз молекулярного класса В – металло-β-лактамаз (МБЛ) [14, 15].

Целью настоящего исследования было изучение этиологической структуры и антибиотико-чувствительности возбудителей инфекций мочевыводящих путей у взрослых пациентов г. Алматы, анализ молекулярных механизмов резистентности грамотрицательных микроорганизмов к цефалоспорином III–IV поколений и карбапенемам.

Материал и методы исследования. За период с 14.07.2015 по 09.12.2016 от больных с инфекциями мочевыводящих путей всего было набрано 237 проб мочи, 5 выделений из уретры.

В исследование были включены 87 клинически значимые изоляты ($\geq 10^5$ КОЕ/мл) бактерий и грибов, собранные в рамках внутривузовского научного проекта: «Мониторинг резистентности возбудителей внебольничных и нозокомиальных инфекций к антимикробным препаратам и изучение его молекулярных механизмов» в отделении урологии ГКБ №12 г. Алматы. Материалом для микробиологических исследований служили: моча, выделения из уретры. Выделение и первичная идентификация бактериальных изолятов проводилась в лаборатории кафедры микробиологии КазНМУ им. С. Д. Асфендиярова. Окончательная видовая идентификация и определение их чувствительности к антимикробным препаратам проводились в НКДЛ НИИ им. Атабарова. Все исследованные изоляты были идентифицированы до вида и определена их антибиотико-чувствительность на бактериологическом автоматизированном анализаторе "VITEK-2 Compact", дополнительно использовали классический диско-диффузионный метод определения антибиотико-чувствительности на агаре Мюллера – Хинтона, согласно рекомендациям EUCAST [16].

Для фенотипического выявления продукции БЛРС использовали метод двойных дисков [17]. По наличию расширенной зоны подавления роста между дисками с цефтазидимом (CAZ, 30 мкг),

цефепимом (СРМ, 30 мкг) и диском, содержащим комбинацию амоксициллина с клавулановой кислотой (АМС 20/10 мкг). Для контроля качества определения чувствительности использовали штаммы *E.coli* ATCC 25922, *K.pneumoniae* ATCC 700603 (ESBL+).

Детекцию наиболее распространенных и клинически значимых генов класса А (TEM1, STX-M1, SHV, OXA) для культур с подтвержденным ESBL-фенотипом проводили методом ПЦР [18]. Выделение геномной и плазмидной ДНК грамотрицательных бактерий проводили по стандартной методике с помощью набора Easy Pure Bacteria Genomic DNA Kit (выделение геномной ДНК) и Easy Pure Plasmid MiniPrep Kit (выделение плазмидной ДНК) (TransGenBiotech, Китай). Использовались по 5 мл 18-20-часовой культуры бактерий.

Использованные праймеры для проведения полимеразной цепной реакции на 4 пары генов БЛРС (TEM1, STX-M1, SHV, OXA) приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Использованные праймеры

Ген	Направление праймера	Последовательность	Длина продукта (п.н.)
OXA	f	ACACAATACATATCAACTTCGC	814
	r	AGTGTGTTTAGAATGGTGATC	
TEM1	f	TCAACATTTTCGTGTCGCCCT	765
	r	ACTACGATACGGGAGGGCTT	
SHV	f	GGTTATGCGTTATATTCGCC	865
	r	TTAGCGTTGCCAGTGCTC	
CTX-M1	f	ATGTGCAGYACCAGTAARGT	593
	r	TGGGTRAARTARGTSACCAGA	

Для ПЦР использовалось по 10 пмоль каждого праймера и 20 нг геномной и плазмидной ДНК бактерий, таким образом, проводилось 2 реакции на 1 образец. Использовался готовый мастер микс Platinum® PCR Super Mix (LifeTechnologies, CAUSA), объем реакции составлял 25 мкл, амплификацию проводили с использованием термоциклера BioRadIQ5 (Bio-Rad Laboratories, Inc., CAUSA) по следующему протоколу: 95°C – 5 мин, 95°C – 45сек, 53.5° (60°, 54°, 55°C) – 45 сек 35 циклов соответственно, 72°C – 45 сек, и окончательный отжиг 72°C – 10 мин. Последующая детекция генов осуществлялась на 1% агарозном геле с добавлением этидиум бромид. По образованию продукта амплификации делали заключение о наличии или отсутствии гена, характеризующегося определенной длиной, что давал нам качественные результаты.

Детекция генов карбапенемаз класса В - металло-β-лактамаз (VIM-2) у выделенных и идентифицированных нами бактериальных изолятов *Pseudomonas aeruginosa* проводилась методом ПЦР в режиме реального времени с использованием коммерческих наборов «АмплиСенс®.MDR Acinetobacter-OXA-FL» и «АмплиСенс®.MDR MBL-FL» (ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) и системы Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия) в НИИ антимикробной химиотерапии г.Смоленск в рамках участия в многоцентровом проекте АРЕХ.

Результаты исследования. В 87 случаях выделены и идентифицированы клинически значимые изоляты бактерий и грибов рода кандиды. Состав возбудителей инфекций МВП представлен на рисунке 1.

Общая доля представителей семейства Enterobacteriaceae составила 44,8%, при этом *E.coli* являлась возбудителем у 31% пациентов. Значительно реже выделяли *K.pneumonia* (4,6%), *E.cloacae* (2,3%). В 3,5% случаев были обнаружены НФГОб: *Ps. aeruginosa*, *Sph.paucimobilis*.

Среди грамположительных уропатогенов наиболее распространенными были *Staphylococcus haemolyticus* (11,5%), *Enterococcus faecalis* (10,4%), *Staphylococcus aureus* (8,1%). Распределение всех видов выделенных изолятов в этиологической структуре инфекций МВП представлено в таблице 2.

В связи с доминированием *E.coli* и, в общем, грамотрицательных микроорганизмов в этиологической структуре инфекций МВП, наибольший практический интерес представляют данные по чувствительности/устойчивости их к антибиотикам (таблица 3).

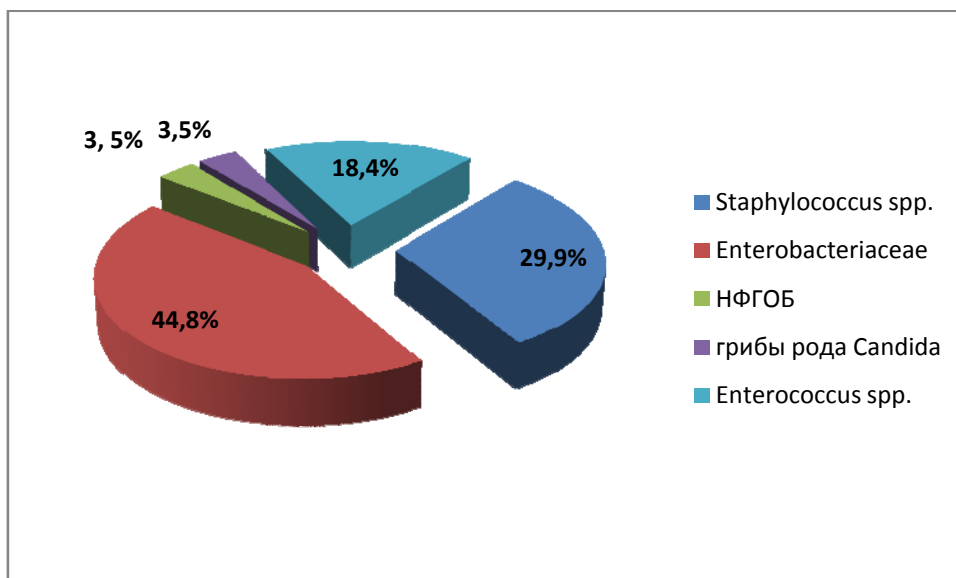


Рисунок 1 – Этиологическая структура инфекций мочевыводящих путей в урологическом отделении ЦГКБ г. Алматы (n = 87)

Таблица 2 – Видовая характеристика выделенных изолятов (n=87)

Семейство, группа	Вид	Абс. кол-во	%
Enterobacteriaceae (всего – 39)	Escherichia coli	27	31,0
	Klebsiella pneumoniae	4	4,6
	Raoultella planticola	2	2,3
	Enterobacter cloacae	2	2,3
	Pantoea spp.	1	1,2
	Shigella sonnei	1	1,2
	Proteus mirabilis	1	1,2
	Serratia marcescens	1	1,2
Micrococcaceae (всего – 26)	Staphylococcus haemolyticus	10	11,5
	Staphylococcus aureus	7	8,1
	Staphylococcus epidermidis	3	3,5
	Staphylococcus hominis	2	2,3
	Staphylococcus lentus	2	2,3
	Staphylococcus lugdunensis	1	1,2
Streptococcaceae (всего – 16)	Kocuria kristinae	1	1,2
	Enterococcus faecalis	9	10,4
	Enterococcus faecium	3	3,5
	Enterococcus gallinarum	3	3,5
Неферментирующие грамотрицательные бактерии (НФГОб) (всего – 3)	Streptococcus alactolyticus	1	1,2
	Pseudomonas aeruginosa	2	2,3
Грибы рода Candida (всего – 3)	Sphingomonas paucimobilis	1	1,2
	Candida spp.	3	3,5

Таблица 3 – Распределение грамотрицательных микроорганизмов – возбудителей инфекций МВП (в %) по степени чувствительности к антибиотикам

Антибиотики	S, %	МИК, мкг/мл	I, %	МИК, мкг/мл	R, %	МИК, мкг/мл
1	2	3	4	5	6	7
<i>Escherichia coli</i> (n=27)						
Ампициллин	11,1	≤ 2	-	-	88,9	≥ 32
Пиперациллин	18,5	≤ 4	-	-	81,5	≥ 128
Цефокситин	81,5	4-8	18,5	16-32	-	-
Цефтазидим	25,9	≤ 1	25,9	4	48,2	16-64
Цефтриаксон	29,6	≤ 1	-	-	70,4	16-64
Цефепим	37,0	≤ 1	48,2	2-4	14,8	8-64
Эртапенем	96,3	≤ 0,5	-	-	3,7	2
Мерапенем	96,3	≤ 0,25	3,7	8	-	-
Амикацин	92,6	≤ 2	7,4	16	-	-
Гентамицин	70,4	≤ 1	-	-	29,6	≥ 16
Тобрамицин	70,4	1-2	-	-	29,6	8-16
Ципрофлоксацин	48,2	≤ 0,25	3,7	1	48,2	2-4
Левифлоксацин	51,9	0,12-1	-	-	48,2	≥ 8
Триметоприм/сульфаметоксазол	29,6	≤ 20	-	-	70,4	≥ 320
Нитрофурантоин	96,3	16-64	-	-	3,7	128
<i>Klebsiella pneumonia</i> (n=4)						
Ампициллин	-	-	-	-	100	≥ 32
Пиперациллин	-	-	-	-	100	≥ 128
Цефокситин	100	≤ 4	-	-	-	-
Цефтазидим	50	≤ 1	-	-	50	≥ 64
Цефтриаксон	50	≤ 1	-	-	50	≥ 64
Цефепим	50	≤ 1	-	-	50	≥ 64
Эртапенем	100	≤ 0,5	-	-	-	-
Мерапенем	100	≤ 0,25	-	-	-	-
Амикацин	50	≤ 2	25	-	25	≥ 64
Гентамицин	50	≤ 1	-	16	50	≥ 16
Тобрамицин	50	≤ 1	-	-	50	≥ 16
Ципрофлоксацин	50	≤ 0,25	-	-	50	≥ 4
Левифлоксацин	50	≤ 0,12	-	-	50	≥ 8
Триметоприм/сульфаметоксазол	50	≤ 20	-	-	50	≥ 320
<i>Raoultella planticola</i> (n=2)						
Ампициллин	-	-	-	-	100	16
Ампициллин/сульбактам	100	≤ 2	-	-	-	-
Пиперациллин	50	≤ 4	-	-	50	64
Цефазолин	100	≤ 4	-	-	-	-
Цефокситин	100	≤ 4	-	-	-	-
Цефтазидим	100	≤ 1	-	-	-	-
Цефтриаксон	100	≤ 1	-	-	-	-
Цефепим	100	≤ 1	-	-	-	-
Эртапенем	100	≤ 0,5	-	-	-	-
Мерапенем	100	≤ 0,25	-	-	-	-
Амикацин	100	≤ 2	-	-	-	-
Гентамицин	100	≤ 1	-	-	-	-
Тобрамицин	100	≤ 1	-	-	-	-
Ципрофлоксацин	100	≤ 0,25	-	-	-	-
Левифлоксацин	100	≤ 0,12	-	-	-	-
Триметоприм/сульфаметоксазол	100	≤ 20	-	-	-	-

Продолжение таблицы 3						
1	2	3	4	5	6	7
Enterobacter cloacae (n=2)						
Пиперациллин	-	-	-	-	100	≥128
Цефокситин	-	-	-	-	100	≥64
Цефтазидим	-	-	-	-	100	≥64
Цефтриаксон	-	-	-	-	100	≥64
Цефепим	-	-	-	-	100	32-64
Эртапенем	-	-	-	-	100	4-8
Мерапенем	100	≤0,25	-	-	-	-
Имипенем	100	≤0,25	-	-	-	-
Амикацин	-	-	-	-	100	≥64
Гентамицин	-	-	-	-	100	≥16
Тобрамицин	50	≤1	-	-	50	≥16
Ципрофлоксацин	-	-	-	-	100	≥4
Левифлоксацин	-	-	-	-	100	≥8
Триметоприм/сульфаметоксазол	50	≤20	-	-	50	≥320
Pseudomonas aeruginosa (n=2)						
Пиперациллин	-	-	-	-	100	≥128
Цефтазидим	-	-	-	-	100	16-64
Цефепим	-	-	-	-	100	16-64
Мерапенем	-	-	-	-	100	≥16
Имипенем	50	≤0,25	-	-	50	≥16
Гентамицин	-	-	-	-	100	8
Тобрамицин	-	-	-	-	100	8
Ципрофлоксацин	-	-	-	-	100	≥4
Левифлоксацин	-	-	-	-	100	≥8
Sphingomonas paucimobilis (n=1)						
Ампициллин	-	-	-	-	100	≥32
Ампициллин/сульбактам	-	-	-	-	100	≥32
Пиперациллин	-	-	-	-	100	≥128
Цефазолин	-	-	-	-	100	≥64
Цефокситин	100	8	-	-	-	-
Цефтазидим	100	8	-	-	-	-
Цефтриаксон	-	-	-	-	100	≥64
Цефепим	100	≤1	-	-	-	-
Эртапенем	100	≤0,5	-	-	-	-
Мерапенем	100	1	-	-	-	-
Амикацин	-	-	100	4	-	-
Гентамицин	-	-	-	-	100	≥16
Тобрамицин	-	-	-	-	100	8
Ципрофлоксацин	-	-	100	2	-	-
Триметоприм/сульфаметоксазол	-	-	-	-	100	≥320

Как видно из результатов исследования, имеется высокая частота выделения штаммов *E.coli*, резистентных к ампициллину (88,9%), пиперациллину (81,5%), а также к триметоприму/сульфаметоксазолу (70,4%). Зарегистрирован относительно высокий уровень резистентности к фторхинолонам: ципрофлоксацину (48,2%) и левофлоксацину (48,2%). Наиболее активными препаратами в отношении *E.coli* были карбапенемы и амикацин (96,3% и 92,6% чувствительных штаммов соответственно). Чувствительностью к гентамицину и тобрамицину обладали 70,4% штаммов *E.coli*. К цефалоспорином III–IV поколений: цефтазидиму были резистентны 48,2%, цефтриаксону – 70,4 и цефепиму – 14,8% штаммов. При этом обращает на себя внимание тот факт, что 81,5% штаммов были чувствительны к цефокситину, что доказывает резистентность данного препарата к бета-лактамазам. У 19 штаммов из 27 уропатогенной *E.coli* (70,4%) были зарегистрированы гены TEM1 (продукция бета-лактамаз широкого спектра действия), из них 9 изолятов (44,4%) несли одновременно гены двух групп β-лактамаз TEM1 + CTX-M1, и 3 штамма одновременно комбинацию генов TEM1 + CTX-M1 + OXA. Известно, что CTX-M1, OXA генетически связаны с β-лактамазами широкого спектра и отличаются от TEM1 единичными аминокислотными заменами,

расширяющими спектр ферментативной активности. Таким образом, продукция БЛРС, которые разрушают все β -лактамы антибиотики, за исключением цефамицинов (цефокситин) и карбапенемов, как основной механизм устойчивости к оксиминоцефалоспорином была выявлена у 12 (44,4%) штаммов *E.coli* (по фенотипическим признакам и генетической детекции – bla_{TEM1+CTX-M1}; bla_{TEM1+CTX-1+OXA}).

Выделенные в ходе исследования штаммы *K.pneumoniae* являлись в 4,6% случаев возбудителями инфекций МВП и отличались абсолютной резистентностью к ампициллину (100%); пиперациллину (100%). Все штаммы *K.pneumoniae* (100%) были чувствительны к карбапенемам и цефокситину. Ко всем остальным группам антибиотиков 50% штаммов проявляли устойчивость. Резистентные к цефалоспорином III – IV поколений штаммы (50%) были продуцентами bla_{TEM-1 + CTX-M1}.

2 изолята *Enterobacter cloacae*, выделенные у больных с инфекциями МВП проявляли чувствительность к карбапенемам (100%), тобрамицину (50%) и триметоприму/сульфаметоксазолу (50%). К пиперациллину, амикацину, фторхинолонам, гентамицину, цефалоспорином III–IV поколений, цефокситину регистрировалась абсолютная резистентность (100%). При ПЦР – детекции у этих штаммов *E.cloacae* обнаружены гены TEM1. Резистентность к цефалоспорином, вероятно, обусловлена продукцией хромосомных β -лактамаз класса C, признаком чего является выявленная у данных штаммов устойчивость к цефокситину.

Неферментирующие грамотрицательные бактерии (НФГОБ) в этиологической структуре инфекций МВП занимали 3,45%. Небольшое количество штаммов *Pseudomonas aeruginosa* – 2 изолята делает относительно некорректной оценку полученных данных, однако эти результаты следует выделить особо. Нозокомиальный штамм *P.aeruginosa* №349, выделенный от пациента Д., 1963 г.р., с диагнозом: МКБ, острый пиелонефрит справа; пузырно-мочеточниковый рефлюкс, проявлял наряду с резистентностью на карбапенемы ассоциированную устойчивость к антибиотикам других классов: пиперациллину, фторхинолонам, аминогликозидам и цефалоспорином. При ПЦР-детекции выявлен ген VIM-2, кодирующий выработку карбапенемаз молекулярного класса B – металло- β -лактамаз (МБЛ). Второй штамм *P.aeruginosa* был чувствителен к имипенему, на остальные антибиотики проявлял резистентность. При ПЦР- детекции: TEM1.

Заключение. Результаты данного исследования свидетельствуют о ведущей роли семейства *Enterobacteriaceae* в этиологической структуре инфекций МВП (44,8%), к основным возбудителям относятся *E.coli* (31,0%) и *K.pneumoniae* (4,6%).

Среди изученных антибактериальных препаратов карбапенемы обладают наибольшей активностью по отношению ко всем видам энтеробактерий (96,3–100%). В отношении *E.coli* высокую активность проявляли нитрофурантоин (96,3%), амикацин (92,6%) и цефокситин (81,5%). К фторхинолонам – ципрофлоксацину и левофлоксацину, по данным нашего исследования, сохраняют чувствительность 48,2% и 51,9% соответственно штаммов *E.coli*, что ближе к показателям чувствительности (50%) в странах Азиатско-Тихоокеанского региона [19], но ниже, чем в России (70%) [1]. Уровень устойчивости к триметоприму/сульфаметоксазолу составил 70,4%. Высокая частота резистентности к цефалоспорином III-IV поколений у 44,4% штаммов *E.coli* была обусловлена продукцией бета-лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) CTX – M1 и CTX-M1 + OXA типов. В сравнении с показателями резистентности к цефалоспорином в исследовании «Дармис» в России за 2010–2011 гг. [1, 4], наши локальные данные по БЛРС-продуцирующим штаммам *E.coli* свидетельствуют об их широком и прогрессирующем распространении.

Продукция БЛРС CTX-M1 генетической группы выявлена у 50% штаммов *K.pneumoniae*, которые были резистентны ко всем исследованным группам антибиотиков, кроме карбапенемов и цефокситина. В нашем исследовании доминирующей группой БЛРС у уропатогенных энтеробактерий являются CTX-M1 родственные ферменты, наиболее частое распространение которых характерно и для соседней России [20, 21].

В ходе исследования выделен нозокомиальный штамм *P.aeruginosa*, продуцирующий металло- β -лактамазу (МБЛ) – VIM-2, который проявлял наряду с резистентностью на карбапенемы ассоциированную устойчивость к антибиотикам других классов: пиперациллину, фторхинолонам, аминогликозидам и цефалоспорином. Ассоциированная резистентность к антибиотикам всех классов, за исключением полимиксинов, крайне ограничивает возможности терапии инфекций, вызванных такими штаммами. Регистрация в Алматы данного штамма, несущего ген bla_{VIM-2}

служит дополнительным подтверждением распространенности в России, Беларуси и Казахстане МБЛ VIM-2 типа [15].

Таким образом, на фоне общей негативной тенденции к росту антибиотикорезистентности, ее показатели могут различаться между географическими регионами.

Профили чувствительности к антибактериальным препаратам и генетические основы антибиотикорезистентности являются уникальными для данного региона (г. Алматы). Эти данные позволяют оценить уровень и прогноз резистентности к β -лактамным антибиотикам, выявить основные механизмы устойчивости уропатогенов, сформулировать рекомендации по рациональной антибиотикотерапии.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Палагин И.С., Сухорукова М.В., Дехнич А.В., Эйдельштейн М.В., Шевелев А.Н., Гринев А.В., Перепанова Т.С., Козлов Р.С., исследовательская группа «ДАРМИС». Современное состояние антибиотикорезистентности возбудителей внебольничных инфекций мочевых путей в России: результаты исследования «ДАРМИС» (2010–2011) // Клинический микробиологический журнал. – 2012; 14(4): 280-302.
- [2] Wagenlehner F.M., Niemetz A.H., Weidner W., Naber K.G. Spectrum and antibiotic resistance of uro pathogens from hospitalised patients with urinary tract infections: 19942005 // Int J Antimicrob Agents. – 2008; 31 (Suppl 1): 37-43.
- [3] Bouchillon S.K., Badal R.E., Hoban D.J., Hawser S.P. Antimicrobial susceptibility of inpatient urinary tract isolates of Gram-negative bacilli in the United States: results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) Program: 2009–2011. Clin Ther 2013; 35(6): 872-7.
- [4] Палагин И.С., Сухорукова М.В., Дехнич А.В., Эйдельштейн М.В., Гринев А.В., Перепанова Т.С., Козлов Р.С. Исследовательская группа «ДАРМИС». Осложненные внебольничные инфекции мочевых путей у взрослых пациентов в России // Клинический микробиологический журнал. – 2014; 16(1): 39-56.
- [5] Hooton T.M. Uncomplicated urinary tract infection // New Engl J Med. – 2012; 366: 1028-37.
- [6] Kahlmeter G., ECO. SENS. An international survey on the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO.SENS Project // J Antimicrob Chemother. – 2003; 51: 69-76.
- [7] Nicole L. Epidemiology of urinary tract infections // Infect Med. – 2001; 18: 153-62.
- [8] Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity and economic cost // American Journal of Medicine. – 2002. – Vol. 113. – P. 5-13.
- [9] Косякова К.Г., Каменева О.А., Морозова С.Е. Этиологическая структура и антибиотикорезистентность возбудителей внебольничных инфекций мочевой системы // Клинический микробиологический журнал. – 2015. – Т. 17, № 2(1). – С. 33.
- [10] Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С. и исследовательская группа «Марафон». Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacteriaceae в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. // Клинический микробиологический журнал. – 2014. – № 16(4). – С. 254-265.
- [11] Ghafourian S. et al. Incidence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in patients with urinary tract infection // Sao Paulo Med. J. – 2012. – Vol. 130(1). – P. 37-43.
- [12] Сидоренко С.В., Березин А.Г., Иванов Д.В. Молекулярные механизмы устойчивости грамтрицательных бактерий семейства Enterobacteriaceae к цефалоспориновым антибиотикам // Антибиотики и химиотерапия. – 2011; 49(3): 6-16.
- [13] Ena J., Arjona F., Martinez-Painado C. et al. Epidemiology of urinary tract infections caused by extended β -spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* // Urology. – 2006; 68 (6): 1169-1174.
- [14] Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Шек Е.А., Дехнич А.В., Козлов Р.С. и исследовательская группа «Марафон». Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. // Клинический микробиологический журнал. – 2014. – № 16(4). – С. 273-279.
- [15] Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Шевченко О.В., Тапальский Д.В., Азизов И.С., Дсоуза Д.В., Тимохова А.В., Сухорукова М.В., Козырева В.К., Сафронова Е.В., Астахова М.В., Карпов И.А., Шамаева С.Х., Абрамова Н.В., Гординская Н.А., Козлов Р.С. Распространенность и молекулярная эпидемиология грамтрицательных бактерий, продуцирующих метало-бета-лактамазы, в России, Беларуси и Казахстане // Клинический микробиологический журнал. – 2012. – № 14(2). – С. 132-152.
- [16] The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint Tables for interpretation of MICs and zone diameters. – Version 4.0. – 2014. (<http://www.eucast.org>).
- [17] Эйдельштейн М.В. Выявление бета-лактамаз расширенного спектра у грамтрицательных бактерий с помощью фенотипических методов // Клинический микробиологический журнал. – 2001; 3(2): 183-189.
- [18] Monstein H.J., Osthalm-Balkhed A., Nilsson M.V., Nilsson M., Dornbusch K., Nilsson L.E. Multiplex PCR amplification assay for the detection of blaSHV, blaTEM and blaCTX-M genes in Enterobacteriaceae // APMIS. – 2007. – 115. – P. 1400-1408.
- [19] Lu P.L., Liu Y.C., Toh H.S., et al. Epidemiology and antimicrobial susceptibility profiles of Gram-negative bacteria causing urinary tract infections in the Asia-Pacific region: 2009-2010 results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) // Int J Antimicrob Agents. – 2012; 40 (Suppl): S37-43.

[20] Прямчук С.Д. Идентификация специфических маркеров для характеристики множественно-устойчивых госпитальных штаммов Enterobacteriaceae: Автореф. ... уч. степени канд. Биол. наук. – 2011. – С. 38.

[21] Ильина В.Н., Субботовская А.И., Козырева В.С., Сергеевичев Д.С., Шилова А.Н. Характеристика штаммов Enterobacteriaceae, продуцирующих БЛРС СТХ-М типа, выделенных в кардиохирургическом стационаре // Клинико-микробиол. антимикроб. химиотер. – 2013. – № 15(4). – С. 309-314.

REFERENCES

[1] Palagin I.S., Suhorukova M.V., Dehnich A.V., Jejdel'shtejn M.V., Shevelev A.N., Grinev A.V., Perepanova T.S., Kozlov R.S. Issledovatel'skaja grupa «DARMIS». Sovremennoe sostojanie antibiotikorezistentnosti vozбудitelej vnebol'nichnyh infekcij mochevyh putej v Rossii: rezul'taty issledovanija «DARMIS» (2010–2011). Klin mikrobiol antimikrob himioter. 2012; 14(4):280-302.

[2] Wagenlehner F.M., Niemetz A.H., Weidner W., Naber K.G. Spectrum and antibiotic resistance of uro pathogens from hospitalised patients with urinary tract infections: 19942005 // Int J Antimicrob Agents 2008; 31 (Suppl 1): 37-43.

[3] Bouchillon S.K., Badal R.E., Hoban D.J., Hawser S.P. Antimicrobial susceptibility of inpatient urinary tract isolates of Gram-negative bacilli in the United States: results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) Program: 2009–2011. Clin Ther 2013; 35(6): 872-7.

[4] Palagin I.S., Suhorukova M.V., Dehnich A.V., Jejdel'shtejn M.V., Grinev A.V., Perepanova T.S., Kozlov R.S. Issledovatel'skaja grupa «DARMIS». Oslozhnennye vnebol'nichnye infekcii mochevyh putej u vzroslyh pacientov v Rossii. Klin mikrobiol antimikrob himioter. 2014; 16(1): 39-56.

[5] Hooton T.M. Uncomplicated urinary tract infection // New Engl J Med. 2012; 366: 1028-37.

[6] Kahlmeter G. ECO.SENS. An international survey on the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO.SENS Project // J Antimicrob Chemother. 2003; 51: 69-76.

[7] Nicole L. Epidemiology of urinary tract infections // Infect Med. 2001; 18: 153-62.

[8] Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity and economic cost // American Journal of Medicine. 2002. Vol. 113. P. 5-13.

[9] Kosjakova K.G., Kameneva O.A., Morozova S.E. Jetiologičeskaja struktura i antibiotikorezistentnost' vozбудitelej vnebol'nichnyh infekcij mochevoj sistemy // Klin mikrobiol antimikrob himioter. 2015. Vol. 17, N 2(1). P. 33.

[10] Suhorukova M.V., Jejdel'shtejn M.V., Skleenova E.Ju., Ivanchik N.V., Timohova A.V., Dehnich A.V., Kozlov R.S. i issledovatel'skaja grupa «Marafon». Antibiotikorezistentnost' nozokomial'nyh shtammov Enterobacteriaceae v stacionarah Rossii: rezul'taty mnogocentrovogo jepidemiologičeskogo issledovanija MARAFON v 2011–2012 gg. // Klin mikrobiol antimikrob himioter. 2014. N 16(4). P. 254-265.

[11] Ghafourian S. et al. Incidence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae in patients with urinary tract infection // Sao Paulo Med. J. 2012. Vol. 130(1). P. 37-43.

[12] Sidorenko S.V., Berezin A.G., Ivanov D.V. Molekuljarnye mehanizmy ustojčivosti gramotricatel'nyh bakterij semejstva Enterobacteriaceae k cefalosporinovym antibiotikam // Antibiotiki i himioterapija. 2011; 49(3): 6-16.

[13] Ena J., Arjona F., Martinez-Painado C. et al. Epidemiology of urinary tract infections caused by extended – spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli // Urology 2006; 68 (6): 1169-1174.

[14] Suhorukova M.V., Jejdel'shtejn M.V., Skleenova E.Ju., Ivanchik N. V., Timohova A.V., Shek E.A., Dehnich A.V., Kozlov R.S. i issledovatel'skaja grupa «Marafon». Antibiotikorezistentnost' nozokomial'nyh shtammov Pseudomonas aeruginosa v stacionarah Rossii: rezul'taty mnogocentrovogo jepidemiologičeskogo issledovanija MARAFON v 2011–2012 gg. // Klin mikrobiol antimikrob himioter. 2014. N 16 (4). P. 273-279.

[15] Jejdel'shtejn M.V., Skleenova E.Ju., Shevchenko O.V., Tapal'skij D.V., Azizov I.S., Dsouza D.V., Timohova A.V., Suhorukova M.V., Kozlyeva V.K., Safronova E.V., Astahova M.V., Karpov I.A., Shamaeva S.H., Abramova N.V., Gordinskaja N.A., Kozlov R.S. Rasprostranennost' i molekuljarnaja jepidemiologija gramotricatel'nyh bakterij, producirujushih metalo-beta-laktamazy, v Rossii, Belarusi i Kazahstane // Klin mikrobiol antimikrob himioter. 2012. N 14(2). P. 132-152.

[16] The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint Tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 4.0, 2014 (<http://www.eucast.org>).

[17] Jejdel'shtejn M.V. Vyjavlenie beta-laktamaz rasshirennoho spektra u gramotricatel'nyh bakterij s pomoshh'ju fenotipičeskikh metodov // Klin mikrobiol antimikrob himioter. 2001; 3(2); 183-189.

[18] Monstein H.J., O'stholm-Balkhed A., Nilsson M.V., Nilsson M., Dornbusch K., Nilsson L.E. Multiplex PCR amplification assay for the detection of blaSHV, blaTEM and blaCTX-M genes in Enterobacteriaceae. APMIS; 2007; 115: 1400–1408.

[19] Lu P.L., Liu Y.C., Toh H.S., et al. Epidemiology and antimicrobial susceptibility profiles of Gram-negative bacteria causing urinary tract infections in the Asia-Pacific region: 2009–2010 results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) // Int J Antimicrob Agents. 2012; 40 (Suppl): p. 37-43.

[20] Prjamčuk S.D. Identifikacija specificheskikh markerov dlja harakteristiki mnozhestvenno-ustojčivyh gospital'nyh shtammov Enterobacteriaceae: Avtoref. ... uch stepeni kand biol nauk. 2011. P. 38.

[21] Il'ina V.N., Subbotovskaja A.I., Kozlyeva V.S., Sergeevičev D.S., Shilova A.N. Harakteristika shtammov Enterobacteriaceae, producirujushih BLRS STH-M tipa, vydelennyh v kardiohirurgičeskome stacionare // Klin mikrobiol antimikrob himioter. 2013. N 15(4). P. 309-314.

А. Л. Бисекенова¹, Б. У. Шалекенов², Б. А. Рамазанова¹,
В. Н. Локшин³, Т. М. Джусубалиева⁴, С. Б. Шалекенов², А. А. Мусаева¹

¹С. Д. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медициналық университеті, Алматы, Қазақстан;

²Үздіксіз білім беру Қазақ медициналық университеті, Алматы, Қазақстан;

³«Persona» халықаралық клиникалық репродуктология орталығы, Алматы, Қазақстан;

⁴Репродуктивті медицина институты, Алматы, Қазақстан

НЕСЕП ШЫҒАРАТЫН ЖОЛДАРДЫҢ ИНФЕКЦИЯЛАРЫН ҚОЗДЫРҒЫШ ГРАМТЕРІС МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ АНТИБИОТИККЕ СЕЗІМТАЛДЫҒЫ ЖӘНЕ β ЛАКТАМДАРҒА ТӨЗІМДІЛІГІНІҢ МОЛЕКУЛЯРЛЫ МЕХАНИЗМДЕРДІ

Аннотация. Несеп шығаратын жолдардың инфекцияларының этиологиялық құрылымы, бөлінген грам-теріс бактериялардың антибактериалды препараттарға антибиотиктік сезімталдығын бағалаудың нәтижелері зерттелді. Грам-теріс бактериялардың жиынтығы 48,3%-ды құрады, несеп шығаратын жолдардың инфекцияларының ең жиі қоздырғыштары *Escherichia coli* (31,0%), *Klebsiella pneumoniae* (4,6%) болды. *E.coli*-ге қатысты еі белсенді препараттар карбапенемдер мен амикациндер (сәйкесінше 96,3% және 92,6% сезімтал штамдары) болды; гентамицин мен тобрамицинге 70,4% сезімтал болды. Уропатогенді *E.coli*-дің III–IV тұқымдағы цефалоспориндеріне төзімділігі 44,4% жағдайда (БЛРС) СТХ – M1 және СТХ-M1 + ОХА типтердегі кеңейтілген әсер ету спектрлі бета-лактамаз өнімдерімен негізделеді.

K.pneumoniae (100%) барлық штамдары карбапенемдерге сезімтал, амициллинге, пиперациллинге (100%) абсолютті төзімді (100%) болды. Осы штамдардың III – IV тұқымдарының (50%) цефалоспориндерге төзімділігі blaTEM-1 + СТХ-M1 өнімімен түсіндірілді. НСЖ инфекцияларының этиологиялық құрылымдарындағы НФГОБ 3,5%-ды құрады. VIM-2 тобындағы металло- β -лактамазаны (МБЛ) өндіретін *P.aeruginosa* штаммы бөлінді.

Түйін сөздер: несеп шығаратын жолдардың инфекциясы, грам-теріс микроорганизмдер, Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, антибиотикке төзімділік, кең спектрдегі β -лактамазалар, металло- β -лактамазалар.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 81 – 90

S. M. Taipakova¹, Zh. D. Akishev¹, M. Zh. Kulzhan¹,
Zh. N. Akhmetova¹, M. K. Saparbayev², A. K. Bissenbaev²

¹Institute of Biology and Biotechnology Problems, al-Farabi Kazakh National University, Almatu, Kazakhstan,

²Laboratory of “DNA repair”, Institute Gustave Roussy, Paris, France.

E-mail: Amangeldy.Bissenbaev@kaznu.kz

ROLE OF *A. THALIANA* APURINIC/APYRIMIDINIC ENDONUCLEASE ARP IN DNA GLYCOSYLASE-INDEPENDENT NUCLEOTIDE INCISION REPAIR

Abstract. Plants continuously generate reactive oxygen species (ROS) as byproducts of metabolic reactions that take place in chloroplasts, mitochondria and peroxisomes. Oxidative damage to cellular DNA caused by ROS is believed to be a major type of endogenous damage to cell. Oxidative DNA base lesions, DNA strand breaks with non-ligatable dirty ends and apurinic/apyrimidinic (AP) sites are substrates for two overlapping pathways: base excision repair (BER) and nucleotide incision repair (NIR). It is generally thought that BER, initiated by multiple DNA glycosylases, is the main pathway for the removal of majority of oxidized bases. In the BER pathway, AP endonucleases cleave DNA at AP sites and 3'-blocking moieties generated by DNA glycosylases, whereas in NIR, the same AP endonucleases incise DNA 5' to a wide variety of oxidized bases. However, the BER pathway raises theoretical problems for the efficient repair of oxidative DNA damage because it generates intermediates such as AP sites, 2'-deoxyribose-5'-phosphate and/or blocking 3'-termini groups that must be eliminated by additional steps before initiating DNA repair synthesis. Processing of DNA damage in the NIR pathway does not generate genotoxic intermediates since it provides the correct ends for DNA synthesis and ligation.

Arabidopsis thaliana contains three genes encoding homologues of major human AP endonuclease 1 (APE1): *Arp*, *Ape1L* and *Ape2*. However, it was not known whether the plant AP endonucleases contain the NIR activity. Here, we report that ARP proteins from *Arabidopsis* contain NIR activity in addition to their AP endonuclease function. The steady-state kinetic parameters of reactions indicate that *Arabidopsis* ARP cleaves oligonucleotide duplexes containing α -anomeric 2'-deoxyadenosine (α dA) and 5,6-dihydrouridine (DHU) with efficiencies ($k_{cat}/K_M = 134$ and $7.3 \mu\text{M}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, respectively) comparable to those of the human counterpart.

Key words: AP endonuclease, *A.thaliana*, DNA glycosylases, reactive oxygen species (ROS).

УДК 577.2.04

С. М. Тайпакова¹, Ж. Д. Акишев¹, М. Ж. Кулжан¹,
Ж. Н. Ахметова¹, М. К. Сапарбаев², А. К. Бисенбаев¹

¹НИИ проблем биологии и биотехнологии, Казахский национальный университет им. аль-Фараби,
Алматы, Казахстан,

²Лаборатория «репарации ДНК», институт Густава Розси, Париж Франция

РОЛЬ АПУРИНОВОЙ/АПИРИМИДИНОВОЙ ЭНДОНУКЛЕАЗЫ ARP *A. THALIANA* В НЕЗАВИСИМОЙ ОТ ДНК-ГЛИКОЗИЛАЗ ИНЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ НУКЛЕОТИДОВ

Аннотация. Растения непрерывно генерируют активные формы кислорода (АФК) в качестве побочных продуктов метаболических реакций, которые в относительно большом количестве синтезируются в митохондриях, хлоропластах и пероксисомах. Всё это, в первую очередь, действует на клеточную ДНК, вызывая

её повреждения. Оксидативное повреждение оснований ДНК, разрывы цепи ДНК и апуриновые/апиримидиновые (АП) сайты являются субстратом для двух пересекающихся путей репарации ДНК: эксцизионная репарация оснований (BER) и инцизионная репарация нуклеотидов (NIR). Известно, что BER, инициируемый ДНК гликозилазами является основным механизмом удаления большинства оксидативно поврежденных оснований. Однако в BER механизме образуется генотоксические промежуточные продукты виде АП сайтов, 2'-дезоксирибозо-5'-фосфат и 3'-концевых блокирующих групп, которые удаляются на последующих этапах BER. Тогда как, NIR механизм репарации не зависит от ДНК-гликозилаз, следовательно, образование генотоксичных промежуточных продуктов не происходит. При этом образуемые разрывы в ДНК имеют правильные концы для последующего синтеза и лигирования. Такая особенность теоретически дает привилегию NIR механизму репарации над ДНК гликозилаза зависимым BER механизмом.

Геном широко используемого модельного организма *A. thaliana* кодирует три предполагаемых гомологов главной человеческой АП-эндонуклеазы 1 (APE1): *Arp*, *Ape1L* и *Ape2*. В настоящее время, не известно какая из АП эндонуклеаз растений обладает NIR активностью.

В настоящей работе впервые показано, что ARP белок содержит NIR активность дополнительно к АП-эндонуклеазной активности. Изучение кинетических параметров ARP показала, что фермент способен напрямую, без участия ДНК гликозилаз, репарировать генотоксичные повреждения основания, такие как альфа-аномерный 2'-дезоксиаденозин и 5,6-дигилроурацил с эффективностью ($k_{cat}/K_M = 134$ и $7.3 \mu M^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$, соответственно) сравнимой с APE1 человека.

Ключевые слова: АП-эндонуклеаза, *A. thaliana*, ДНК гликозилазы, активные формы кислорода (АФК).

Введение. Растения не могут изменять своё положение в грунте, и поэтому постоянно подвергаются воздействию экологических и генотоксических агентов, в том числе ультрафиолетовому и ионизирующему излучению. Кроме этого, растения непрерывно генерирует радикалы кислорода (АФК) в качестве побочных продуктов метаболических реакций, которые в относительно большом количестве синтезируются в митохондриях, хлоропластах, пероксисомах и на плазматических мембранах [1]. Всё это, в первую очередь, действует на клеточную ДНК, вызывая её повреждения.

Для поддержания целостности генома и обеспечения точности переноса генетической информации в период деления клеток, живые организмы развили несколько различных систем репараций ДНК которые удаляют и/или обеспечивают устойчивость к повреждениям ДНК.

В настоящее время механизмы репарации таких повреждений ДНК является объектом интенсивных исследований у бактерий, дрожжей и клеток млекопитающих [2], малопонятными и практически не изученными остаются эти проблемы в растениях, пренебрегая при этом особым статусом растений среди живых существ и их сельскохозяйственной ценностью.

Оксидативное повреждение ДНК, вызванное активными формами кислорода (АФК) считается основным типом эндогенных клеточных повреждений, и в настоящее время описано свыше 100 разных типов модификаций оснований ДНК и его сахарофосфатного остова [1, 2]. Кроме этого в результате атаки АФК дезоксирибоз и их остатков в составе ДНК могут привести к генерации одноцепочечных разрывов с 3'-блокирующими группами. Эти 3'-блокирующие группы включают 3'-фосфат, 3'-фосфогликоальдегид, и 3'-фосфогликолат. 5'-конец цепи ДНК обычно содержит 5'-фосфат, но после воздействия АФК, образованные не лигируемые концы могут содержать 5'-ОН и производные 5'-фосфодезоксирибоз, такие как 2-дезоксирибонлактон [3]. Одной из наиболее распространенной форм повреждения ДНК является потеря части оснований от интактного сахарофосфатного остова. Показано, что более чем 10,000 пуринов и пиримидинов исчезают каждый день в обычной клетке человека.

Окислительное повреждение оснований ДНК, разрывы цепи ДНК с нелигируемыми концами и апуриновые/апиримидиновые (АП) сайты являются субстратом для двух пересекающихся путей репарации ДНК: эксцизионной репарации оснований (BER) и инцизионной репарации нуклеотидов (NIR) [4, 5].

Известно, что BER, инициированный несколькими ДНК-гликозилазами является основным механизмом удаления большинства оксидативно поврежденных оснований [6, 7]. Реализация BER требует последовательного действия двух ферментов: ДНК-гликозилаз и АП-эндонуклеаз, для точного вырезания, поврежденного ДНК. Кроме этого в BER механизме образуются промежуточные продукты в виде АП-сайтов, 2'-дезоксирибозо-5'-фосфатов и 3'-концевых блокирующих групп, которые должны быть удалены на последующих этапах перед началом репаративного синтеза ДНК, что ставить перед нами вопрос относительно эффективности репарации по BER механизму.

NIR механизм репарации не сопровождается образованием генотоксичных промежуточных продуктов, так как образуемые разрывы в ДНК имеют правильные концы для последующего синтеза и лигирования [8]. Такая особенность теоретически дает привилегию NIR механизму репарации над ДНК-гликозилаза зависимым BER механизмом.

NIR механизм репарации оксидативного повреждения ДНК это эволюционно консервативный путь репарации ДНК и обнаружен во всех трёх царствах живых существ: археи, бактерии и эукариоты. NIR эндонуклеазы, включая Archaea, Mth212 *Methanothermobacter thermoautotrophicus*, Nfo *E. coli*, Apr1 *Saccharomyces cerevisiae* и человеческий APE1 способны напрямую расщеплять дуплексную ДНК содержащую альфа-аномеры 2'-дезоксинуклеозидов (α DN), а также различные окисленные пиримидины (5,6-дигидропиримидины и 5-гидроксипиримидины) [9,10,11]. При этом эти АП-эндонуклеазы разрезают фосфодиэфирную связь на 5'-конце повреждённого дезоксинуклеотида с образованием на 3'-конце разрыва гидроксильной группы, на 5'-конце – фосфатной. Образование 3'-гидроксильной группы делает возможным дальнейший репарационный синтез ДНК. При этом повреждённый свисающий нуклеотид может быть удалён с помощью флэп-эндонуклеазы.

Нами впервые показано, существование АП эндонуклеазной активности, которая способна расщеплять олигонуклеотидные дуплексы, содержащие альфа-аномерный 2'-дезоксаденозин (α DA) остаток в клетках алейрона пшеницы [12]. Интересно, что ДНК-гликозилазы и АП-эндонуклеазы сильно индуцируются в присутствии фитогормона – гиббереллиновой кислоты (ГК). На основании этих данных мы предположили, что растения обладают АП-эндонуклеазами имеющими NIR активность, способные удалять определенные типы окислительных повреждений ДНК, которые не могут быть вырезаны ДНК гликозилазами.

Геном широко используемого модельного организма *A.thaliana* кодирует три предполагаемых гомологов главной человеческой АП-эндонуклеазы 1 (APE1): *Arp*, *Ape1L* и *Ape2*. В настоящее время, не известно какая из АП эндонуклеаз растений обладает NIR активностью.

В настоящей работе нами впервые показано, что фермент at-*Arg* *A.thaliana* способен напрямую, без участия ДНК гликозилаз, репарировать генотоксичные повреждения оснований, такие как альфа-аномерный 2'-дезоксаденозин и 5,6-дигидроурацил.

Материалы и методы исследования

Экспрессия и очистка рекомбинантного белка. Экспрессионный вектор pET28c- at-*Arg* с His-tag последовательностью на С-конце трансформировали в *E.coli* (DE3) штамм Rosetta. Kan^r устойчивые трансформанты были выращены при 37°C до OD_{600nm} = 0,6. Экспрессия белка была индуцирована 0,1 мМ изопропил- β -D-1-тиогактопиранозидом (ИПТГ) в течение ночи при 30°C. Клетки были осаждены и лизированы в Френч-прессе при 18 000 psi в лизирующем буфере (20 мМ HEPES-КОН pH 7,6, 40 мМ NaCl, ингибиторы протеаз CompleteTM (Roche Diagnostics, Швейцария). Лизат был очищен центрифугированием 30 мин при 40,000 x g, 4°C; полученный супернатант был доведен до 500 мМ NaCl и 20 мМ имидазола и загружен в колонку HiTrap Chelating HP column (Amersham Biosciences, GE Health), заряженную ионами Ni²⁺. Связанные белки были элюированы в градиенте 50-600 мМ имидазола. Очищенный белок хранился в 50% глицероле при 20°C. Чистота белковых образцов была проверена посредством ДСН-ПААГ электрофореза.

Кинирование олигонуклеотидов. Реакцию фосфорилирования проводили в реакционной смеси объемом 50 мкл, которая содержала: 5 мкл 10 x киназного буфера, [γ -³²P]-АТФ (3000 Ci/mmol), 20 единиц T4-полинуклеотидкиназы и 20 нМ олигонуклеотида. Смесь инкубировали 20 минут при 37°C. Реакцию останавливали добавлением 2 мкл 0,5 М Na-ЭДТА. Затем дважды проводили депротенинизацию смесью фенола и хлороформа (1:1) и пересаждали холодным этанолом. Отжиг олигонуклеотидов с комплементарной цепью проводили в буфере содержащей 50 мМ NaCl, 10мМ HEPES – КОН (pH 7,5) при 65°C в течение 3 минут и медленно охлаждали до комнатной температуры.

Определение АП-эндонуклеазной и NIR активности at-*Arg* с помощью синтетических олигонуклеотидных дуплексов. Стандартная реакционная смесь (20 мкл) которая использовалась для определения АП-эндонуклеазной активности at-*Arg* содержала: 10 нМ [³²P]-меченого олигонук-

леотидного дуплекса THF·T, 5 нМ MgCl₂, 100 нМ KCl, 20 нМ Hepes-KOH pH 7.6, 0.1 мкг·мл⁻¹ BSA, 0.1 нМ APE1. Условия реакции для APE1 человека отличалась в зависимости от механизма восстановления повреждений ДНК. Стандартная реакционная смесь (20 μл) для APE1 человека содержала: 10 нМ [³²P]-меченого олигонуклеотидного дуплекса THF·T, 5 мМ MgCl₂, 50 мМ KCl, 20 мМ Hepes-KOH (pH 7.6), 0.1 мкг·мл⁻¹ БСА и 10 пМ фермента инкубировали при 37°C 5 минут.

Стандартная реакционная смесь (20 мкл) которая использовалась для определения NIR активности atArg содержала: 5 нМ [³²P]-меченый αdA·T содержащий дуплекс, 0.1 мМ MgCl₂, 25 мМ KCl, 20 мМ Hepes-KOH (pH 6.8), 0.05 мМ DTT, 0.01% NP-40, 0.1 мг·мл⁻¹ БСА и 0.5 нМ APE1 или 5 нМ ARP. Реакция была остановлена добавлением в реакционную смесь 10 мкл раствора содержащего 0.5% ДСН и 20 мМ EDTA и затем олигонуклеотиды обессоливали на колонке с Sephadex G25 (Amersham Biosciences) уравновешенную в 7М мочеvine. Очищенные реакционные продукты нагревали при 65°C в течение 3 минут и анализировали с помощью 20% ПААГ электрофореза (20:1, 7М мочеvина, 0,53хТВЕ). Гель сканировали с использованием Fuji FLA-3000 Phosphor Screen и анализировали с использованием программы Image Jauge V3.12 software.

Результаты и их обсуждение

В первоначальных экспериментах мы изучали AP-эндонуклеазную активность (BER активность) и NIR активность очищенного рекомбинантного at-ARP в условиях оптимальных для Xth и APE1 человека. При этом для определения BER и NIR активности в качестве субстрата использовали 5'-[³²P]-меченный олигонуклеотидный дуплекс, содержащий единственный тетрагидрофуран (THF, стабильный аналог апуринового сайта) или альфа-2'-дезоксиаденозин (αdA, субстрат для NIR активности), соответственно. Последовательность дуплекса (без указания комплементарной неповрежденной цепи): 5'-[γ]³²P-TGACTGCATAXGCATGTAGACGA TGTGCAT-3', где буквой X обозначено место THF или альфа-2'-дезоксиаденозин A (αdA). Под действием AP-эндонуклеаз вблизи поврежденного основания (THF или αdA) образуется однонитевой разрыв, который при ПААГ электрофорезе в денатурирующих условиях с последующим автордиографированием образует 5'-[γ]³²P-меченый первичный продукт расщепления длиной 10 нуклеотидов (10-мер). Следовательно, BER и NIR активность фермента будет сопровождаться накоплением 10-мерного 5'-[γ]³²P-меченого первичного продукта и уменьшением 5'-[γ]³²P-меченого 30-мерного исходного дуплекса ДНК. В качестве положительного контроля использовали очищенный препарат AP-эндонуклеазы человека (APE1). В качестве источника фермента использовали очищенный рекомбинантный at-ARP.

Как видно из рисунка 1 меченый 5'-[γ]³²P 30 мерный THF·T и αdA·T содержащий дуплекс, в присутствии APE1 человека генерирует 10 мерный первичный продукт, который быстрее движется, чем исходный 30 мерный исходный субстрат (дорожка 2). Инкубация THF·T и αdA·T содержащих субстратов в присутствии разных концентрации at-ARP в течение 2-10 минут при 37°C привело также к накоплению 10 мерного первичного продукта (рисунок 1 А и В, дорожки 3-8 и 3-11). Эти данные указывают на то, что at-ARP проявляет как BER, так и NIR активность. Интересно отметить, что at-ARP, в отличие от APE1 человека, при инкубации с αdA·T содержащим дуплексом генерирует одинаковое количество 9 и 10 мерного продукта расщепления (дорожки 3-11). Кроме этого, по мере увеличения количества белка и времени инкубации генерировался дополнительно 8 и 7 мерные продукты расщепления (дорожки 9-11). Появление 9 мерного продукта расщепления наблюдалась при инкубации с THF·T содержащим субстратом (дорожки 5-8). Эти результаты указывают на то, что ARP проявляет сопряженную сильную 3'→5' экзонуклеазную по отношению к αdA·T повреждениям ДНК. При этом, 3'→5' экзонуклеазная активность по отношению к THF·T субстрату значительно низкий. Полученные результаты указывают на то, что ARP AP-эндонуклеаза *A.thaliana* проявляет значительную NIR функцию в экспериментальных условиях, указанных выше.

Как отмечалось выше, AP-эндонуклеазы семейства ExoIII Xth и APE1 для проявления каталитической активности нуждаются в присутствии двухвалентных катионов в виде ионов Mg²⁺ [13]. Интересно отметить, что ранее нами было показано, что очищенная рекомбинантная

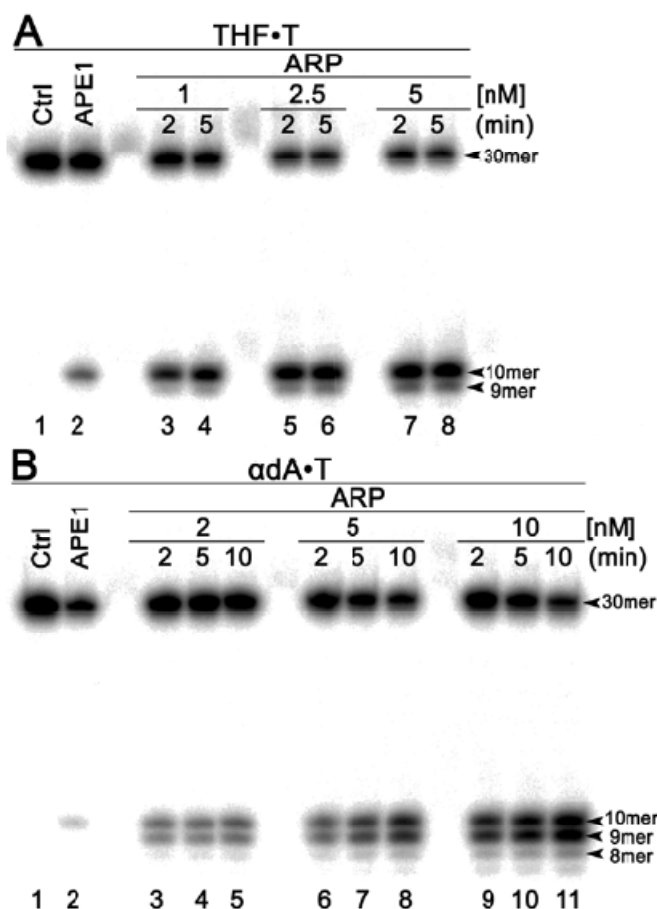


Рисунок 1 – at-ARP специфический распознает и расщепляет олигонуклеотидный дуплекс ДНК содержащий синтетический AP-сайт (THF·T) и α -аномерный нуклеотид (α dA·T).

Примечание: 10 nM 5'-32P-меченый THF·T и α dA·T содержащий 30-мерный дуплекс инкубировали в BER и NIR реакционном буфере в течение 2-10 минут при 37°C, соответственно. Концентрация ARP белка указано на рисунке. В качестве контроля использовали AP-эндонуклеазу человека (0.1 nM APE1, 5 минут при 37°C). (A) Анализ продуктов AP-эндонуклеазной активности ARP с помощью ПАГЭ в денатурирующих условиях. (B) Анализ продуктов NIR активности ARP с помощью ПАГЭ в денатурирующих условиях. Размер исходного субстрата и продукта первичного расщепления указаны с левой стороны рисунка. "Ctrl"-указывает на контрольную реакцию без участия фермента.

апурин/апириимидиновая эндонуклеаза *Triticum aestivum* (TaApe1L) проявляет AP-эндонуклеазную и 3'→5' экзонуклеазную активность. Однако, в отличие от бактериальной и человеческой AP-эндонуклеаз, ионы Mg^{2+} и Ca^{2+} ингибируют, тогда как присутствие ионов Mn^{2+} , Co^{2+} и Fe^{2+} сильно стимулирует активность TaApe1L [14].

Катион металла может играть существенную роль в процессах катализа и в поддержании структуры белковой молекулы. Для выяснения роли катионов металлов в обеспечении функционирования at-ARP мы исследовали влияние катионов двухвалентных металлов ($MgCl_2$, $MnCl_2$, $CaCl_2$, $CoCl_2$ и $ZnCl_2$ и $NiCl_2$) на активность at-ARP. Стоит отметить, что препараты at-ARP не содержали примесных белков (это было подтверждено электрофоретическим методом). Определение AP-эндонуклеазной активности очищенного рекомбинантного at-ARP проводили в условиях оптимальных для Xth и APE1 человека в присутствии различных двухвалентных катионов. В качестве субстрата для at-ARP использовали 5'-[γ]P³²-меченный олигонуклеотидный дуплекс, содержащий единственный THF. На рисунке 2 приведены результаты зависимости активности at-ARP от концентрации двухвалентных металлов.

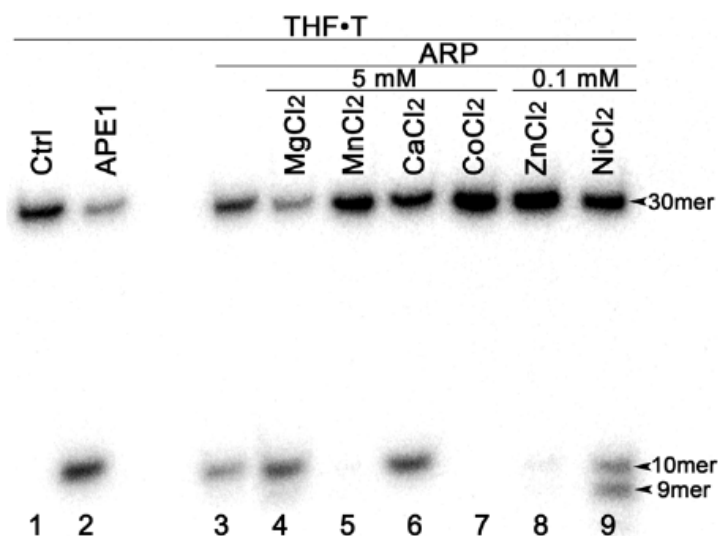


Рисунок 2 – Зависимость AP-эндонуклеазной активности at-ARP от двухвалентных катионов.

Примечание: Анализ продуктов AP-эндонуклеазной активности ARP с помощью ПАГЭ в денатурирующих условиях. 10 нМ 5'-32P-меченый THF·T 30-мер дуплекс с 2 нМ ARP инкубировали в BER реакционном буфере с и без двухвалентных катионов в течение 10 минут при 37°C. В качестве контроля использовали AP-эндонуклеазу человека (0.1 нМ APE1, 5 минут при 37°C). Размер исходного субстрата и продукта первичного расщепления указаны с левой стороны рисунка. "Ctrl" - указывает на контрольную реакцию без участия фермента.

Как видно из рисунка 2 ионы Mg^{2+} при концентрации 5 мМ значительно стимулирует ARP-катализируемое расщепление AP-сайта (дорожка 4), тогда как присутствие 5 мМ Mn^{2+} и Co^{2+} , а также 0.1 мМ Zn^{2+} ингибирует активность (дорожки 5 и 7,8). Необходимо отметить, что ARP может расщепить THF·T дуплекс в отсутствие двухвалентных катионов (дорожка 3) и присутствии 5 мМ Ca^{2+} и 0.1 мМ Ni^{2+} (дорожки 6 и 9), с низкой эффективностью по сравнению с 5 мМ Mg^{2+} (дорожка 4). Эти результаты указывают на то, что для эффективной работы фермента ARP, как и APE1 человека требуется ионы Mg^{2+} . Однако в противоположность к APE1 человека, ARP-катализируемая расщепление AP-сайта стимулируется ионами Ca^{2+} и сильно ингибируется 5 мМ Mn^{2+} и Co^{2+} , а также 0.1 мМ Zn^{2+} . При этом эффект ионов Mg^{2+} и Ca^{2+} на ARP катализируемый гидролиз AP-сайта отличались, что свидетельствует в пользу специфичности действия ионов Mg^{2+} на параметры ферментативной реакции. Возможно, ввиду близости значений радиусов катионов Ca^{2+} и Mg^{2+} процесс активации фермента ионами Ca^{2+} происходит не селективно.

Таким образом, перечисленные выше экспериментальные факты являются доказательством того, что ARP является Mg^{2+} -зависимым ферментом.

Ранее нами было показано сигмовидный характер эффекта ионов Mg^{2+} на AP-эндонуклеазную активность APE1 человека. При этом ионы Mg^{2+} по мере увеличения концентрации (от 0,1 до 10 мМ) значительно стимулировала BER активность и наоборот существенно тормозила NIR активность на $\alpha dA\cdot T$ содержащем субстрате [15, 16]. В связи с этим представляет интерес сравнительный анализ эффекта разной концентрации $MgCl_2$ на BER и NIR активность ARP. Результаты этих исследований представлены на рисунке 3. Результаты показали, что ARP катализируемая реакция расщепления двух потенциальных субстратов содержащих THF·T или $\alpha dA\cdot T$, строго зависит от содержания ионов Mg^{2+} в реакционной среде. При этом, метал зависимый профиль активации фермента была более близким с таковыми APE1 человека. Действительно, ARP проявлял высокую NIR активность при низких концентрациях $MgCl_2$ (≤ 1 мМ) и наоборот низкую активность при высоких концентрациях 10 мМ $MgCl_2$ (рисунок 3).

ARP катализируемая реакция расщепления апуринового сайта THF·T была высокой при 10 мМ $MgCl_2$ и постепенно снижалась со снижением концентрации $MgCl_2$. Следовательно, ARP проявляет существенную NIR активность при низких концентрациях $MgCl_2$, тогда как реакция расщепления AP-сайта эффективнее, наоборот, при высоких концентрациях $MgCl_2$. Mg^{2+} -зависимый профиль AP-эндонуклеазы растений и человека почти одинаковы, что позволяет предположить,

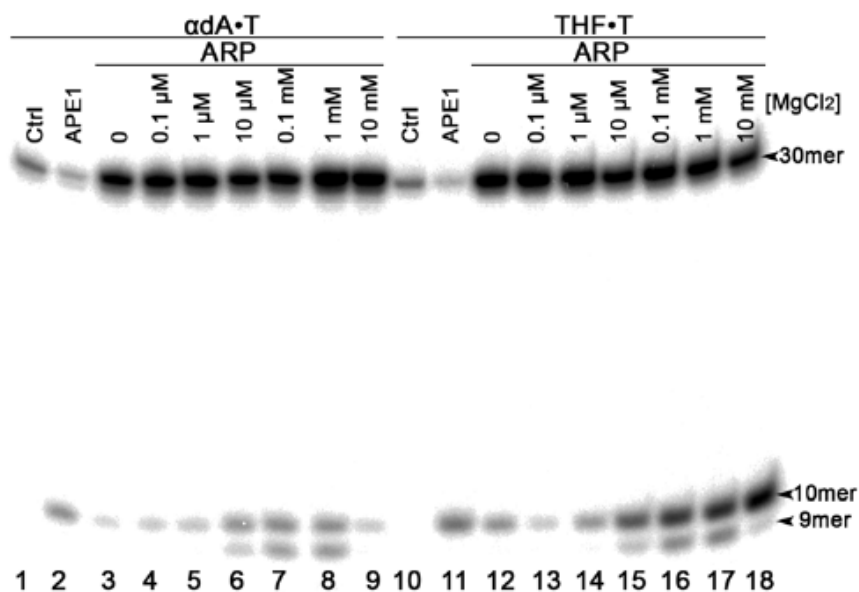


Рисунок 3 – AP-эндонуклеазная и NIR активность фермента ARP в зависимости от концентрации магния.

Примечание: Анализ продуктов NIR и AP-эндонуклеазной активности ARP с помощью ПАГЭ в денатурирующих условиях. Для определения NIR активности в зависимости от ионов Mg^{2+} 10 нМ 5'-32P-меченый 30-mer $\alpha dA\cdot T$ содержащий дуплекс инкубировали с 2 нМ ARP в NIR реакционном буфере содержащей разные концентрации ионов Mg^{2+} в течение 5 минут при 37°C. Для определения AP-эндонуклеазной активности в зависимости от ионов Mg^{2+} 10 нМ 5'-32P-меченый 30-mer THF·T содержащий дуплекс инкубировали с 1 нМ ARP в BER реакционном буфере содержащей разные концентрации ионов Mg^{2+} в течение 5 минут при 37°C. В качестве контроля использовали AP-эндонуклеазу человека (0.1 нМ APE1, 5 минут при 37°C). Размер исходного субстрата и продукта первичного расщепления указаны с левой стороны рисунка. "Ctrl" - указывает на контрольную реакцию без участия фермента.

что в условиях *in vivo* ДНК субстратная специфичность обоих ферментов координируются внутриклеточной концентрацией двухвалентных ионов металлов.

Как отмечалось выше, кроме альфа-аномерного 2'-дезоксиаденозина (αdA), 5,6-дигидроуридин (DHU) является частью ДНК аддуктов, которые репарируются без участия ДНК-гликозилаз, т.е. с помощью NIR механизма репарации ДНК.

Обладает ли рекомбинантный *at-Arp* субстратной специфичностью к DHU? Для выяснения этого вопроса исследовали субстратную специфичность *at-Arp* к дуплексным ДНК, содержащим DHU с выступающей матричной цепью (рисунок 4). Результаты показали, что 31 мерные 5'-[γ] P^{32} -меченый ДНК субстраты, содержащие DHU, эффективно расщепляется под действием *at-Arp*. При этом по мере увеличения времени инкубации, возрастала NIR активность по отношению к DHU. Зависимость NIR активности от концентрации фермента показала, что за 30 минут 10 нМ *at-Arp* на 50 % расщепляет исходный субстрат, содержащий DHU (рисунок 4). Следует отметить, что *at-ARP*, в отличие от APE1 человека, при инкубации с DHU·G, как и в случае с $\alpha dA\cdot T$ содержащим дуплексом (рисунок 3), генерирует одинаковое количество 21 и 20 мерного продукта расщепления. Эти результаты указывают на то, что ARP проявляет сопряженную сильную 3'→5' по отношению к DHU·G и $\alpha dA\cdot T$ повреждениям ДНК.

Для характеристики субстратной специфичности рекомбинантного белка *at-ARP*, в последующих экспериментах мы измерили значения констант K_m , k_{cat} и k_{cat}/K_m для реакции расщепления AP-сайта и NIR активности (таблица). Подсчет отношения констант специфичностей (k_{cat}/K_m) позволяет оценить, во сколько раз фермент более эффективен на одном из этих субстратов.

Результаты этих экспериментов показали, что ARP обладает AP-эндонуклеазной и NIR-эндонуклеазной активностями. Однако, ARP, по сравнению с APE1 человека содержит 60 раз меньше AP-эндонуклеазной активностью. Тогда как NIR-эндонуклеазная активность ARP проявлялась со сходной каталитической эффективностью с APE1 человека.

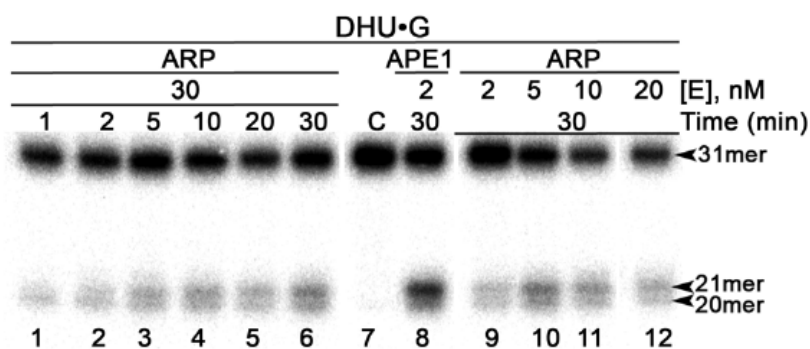


Рисунок 4 – at-ARP белок арабидопсиса специфический распознает и расщепляет олигонуклеотидный дуплекс ДНК содержащий DHU·G.

Примечание: 10 нМ 5'-32Р-меченый DHU·G содержащий 31-мер дуплекс инкубировали в NIR реакционном буфере в течение 1-30 минут при 37°C. Концентрация ARP белка указано на рисунке. В качестве контроля использовали AP-эндонуклеазу человека (0.1 нМ APE1, 5 минут при 37°C). Размер исходного субстрата и продукта первичного расщепления указаны с левой стороны рисунка.

Сравнительный анализ кинетических параметров AP-эндонуклеаз человека и *Arabidopsis thaliana*

Белок	APE1 человека			ARP <i>Arabidopsis thaliana</i>			$\frac{k_{cat}/K_M, APE1/ARP}$
	$K_M, \text{нМ}$	$k_{cat}, \text{мин}^{-1}$	$k_{cat}/K_M, \text{мин}^{-1} \cdot \mu\text{М}^{-1}$	$K_M, \text{нМ}$	$k_{cat}, \text{мин}^{-1}$	$k_{cat}/K_M, \text{мин}^{-1} \cdot \mu\text{М}^{-1}$	
ТНФ·Т	0.87	15	17200	524±150	151±21	289	60
αdA·Т	1.6	1.5	940	55±12	7.4±0.4	134	7
DHU·G	29	0.31	11	120±70	0.9±0.3	7.3	1.5

Как отмечалось выше геном *A.thaliana* кодирует три предполагаемых гомологов главной человеческой AP-эндонуклеазы 1 (APE1): *Arp*, *Ape1L* и *Ape2*. Ранее нами выделена и охарактеризована кДНК ген, кодирующий AP-эндонуклеазу пшеницы, которая из-за высокой гомологии к AtApe1L арабидопсиса (68% идентичность) обозначена как TaApe1L. Выявлено, что TaApe1L проявляет слабую AP-эндонуклеазную активность, но существенную 3'→5' экзонуклеазную, 3'-диэстеразную и 3'-фосфатазную активности по сравнению с AP-эндонуклеазой человека. Однако было показано, что TaApe1L не проявляет заметную активность по отношению к субстратам, содержащим αdA и DHU [17]. Высказано предположение о важной роли TaAPE1L в модификации 3'-концевых блокирующих групп.

Инцизионная репарация нуклеотидов обнаружена у архей, бактерий, в том числе у эукариот, включая дрожжей, нематод и млекопитающих [15, 18-20]. До настоящего времени не было известно, характерно ли NIR функция AP-эндонуклеазам растений принадлежащим к семейству Xth. В настоящей работе нами впервые показано, что фермент at-Arp способен напрямую, без участия ДНК гликозилаз, репарировать генотоксичные повреждения оснований, такие как альфа-аномерный 2'-дезоксаденозин и 5,6-дигилпроурацил. Как и APE1 человека, субстратная специфичность at-Arp зависит от условия реакции. ARP-катализируемая NIR активность максимальна при низкой концентрации ионов Mg^{2+} ($\leq 1 \text{ мМ}$), в то время как расщепления AP-сайта достигала максимума при высоких концентрациях ионов Mg^{2+} ($\geq 5 \text{ мМ}$).

Для NIR функции at-Arp выявлены значительные различия в оптимальных условиях реакции по сравнению с AP-эндонуклеазной. Эндонуклеазная активность была максимальной при pH 7.0-9.0, а NIR активность при pH 6.0, оптимальным для связывания ДНК с AP-сайтом. Более того, эндонуклеазная активность at-Arp была значительной в широком диапазоне концентрации KCl, 0-250 мМ, в то время как NIR активность существенно снижалась при концентрации KCl выше 50 мМ.

REFERENCES

- [1] Foyer, C.H., Noctor, G. (2003). Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiol. Plant*, 119, 355–364. DOI: 10.1034/j.1399-3054.2003.00223.
- [2] Hoeijmakers, J.H. (2009). DNA damage, aging, and cancer, *N. Engl. J. Med.*, 361, 1475-1485. DOI: 10.1056/NEJMra0804615.
- [3] Hegde, M.L., Hazra, T.K., Mitra, S. (2008). Early steps in the DNA base excision/single-strand interruption repair pathway in mammalian cells. *Cell Research*, 18, 27–47. DOI: 10.1038/cr.2008.8.
- [4] Jaruga, P., Dizdaroglu, M. (2008). 8,5'-Cyclopurine-2'-deoxynucleosides in DNA: mechanisms of formation, measurement, repair and biological effects. *DNA Repair (Amst)*, 7, 1413-1425. DOI: 10.1016/j.dnarep.2008.06.005.
- [5] Brooks, P.J. (2008). The 8,5'-cyclopurine-2'-deoxynucleosides: candidate neurodegenerative DNA lesions in xeroderma pigmentosum, and unique probes of transcription and nucleotide excision repair. *DNA Repair (Amst)*, 7, 1168-1179.
- [6] DOI:10.1016/j.dnarep.2008.03.016
- [7] Zharkov, D.O. (2008). Base excision DNA repair. *Cell. Mol. Life Sci.*, 65 1544-1565. DOI: 10.1007/s00018-008-7543-2.
- [8] Krokan, H.E., Bjoras, M. (2013). Base excision repair. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 5, a012583, DOI: 10.1101/cshperspect.a012583.
- [9] Ischenko, A.A., Saparbaev, M.K., (2002). Alternative nucleotide incision repair pathway for oxidative DNA damage. *Nature*, 415, 183-187. DOI:10.1038/415183a
- [10] Gros, L., Ishchenko, A.A., Ide, H., Elder, R.H., Saparbaev, M.K. (2004). The major human AP endonuclease (Ape1) is involved in the nucleotide incision repair pathway. *Nucleic Acids Res.*, 32, 73-81. DOI:10.1093/nar/gkh165.
- [11] Ide, H., Tedzuka, K., Shimzu, H., Kimura, Y., Purnal, A.A., Wallace, S.S., Kow, Y.W. (1994). Alpha-deoxyadenosine, a major anoxic radiolysis product of adenine in DNA, is a substrate for *Escherichia coli* endonuclease IV. *Biochemistry*, 33, 7842-7847.
- [12] Ishchenko, A.A., Ide, H., Ramotar, D., Nevinsky, G., Saparbaev, M. (2004). Alpha-anomeric deoxynucleotides, anoxic products of ionizing radiation, are substrates for the endonuclease IV-type AP endonucleases. *Biochemistry*, 43, 15210-15216. DOI:10.1021/bi049214+.
- [13] Bissenbaev, A.K., Ishchenko, A.A., Taipakova, S.M., Saparbaev, M.K. (2011). Presence of base excision repair enzymes in the wheat aleurone and their activation in cells undergoing programmed cell death. *Plant Physiol. Biochem.*, 49, 1155-1164. DOI:10.1016/j.plaphy.2011.07.017.
- [14] Levin J.D., Johnson A.W., Demple B. Homogeneous *Escherichia coli* endonuclease IV. Characterization of an enzyme that recognizes oxidative damage in DNA // *J. Biol. Chem.* - 1988. - Vol. 263, № 17. - P.8066-8071.
- [15] 14 Ishchenko A.A., Sanz G., Privezentzev C.V., Maksimenko A.V., Saparbaev M. Characterisation of new substrate specificities of *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* AP endonucleases // *Nucleic Acids Res.* - 2003. - Vol. 31, № 21. - P.6344-6353.
- [16] 15 Gros, L., Ishchenko, A.A., Ide, H., Elder, R.H., Saparbaev, M.K. (2004). The major human AP endonuclease (Ape1) is involved in the nucleotide incision repair pathway. *Nucleic Acids Res.*, 32, 73-81. DOI:10.1093/nar/gkh165.
- [17] 16 S.E. Tsutakawa, D.S. Shin, C.D. Mol, T. Izumi, A.S. Arvai, A.K. Mantha, B. Szczesny, I.N. Ivanov, D.J. Hosfield, B. Maiti, M.E. Pique, K.A. Frankel, K. Hitomi, R.P. Cunningham, S. Mitra, J.A. Tainer, Conserved structural chemistry for incision activity in structurally non-homologous apurinic/apyrimidinic endonuclease APE1 and endonuclease IV DNA repair enzymes, *J Biol Chem*, 288 (2013) 8445-8455. DOI:10.1074/jbc.M112.422774.
- [18] 17 B. Joldybayeva, P. Prorok, I.R. Grin, D.O. Zharkov, A.A. Ishenko, B. Tudek, A.K. Bissenbaev, M. Saparbaev, Cloning and Characterization of a Wheat Homologue of Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease Ape1L, *PLoS One*, 9 (2014). DOI:10.1371/journal.pone.0092963.
- [19] 18 Ischenko, A.A., Saparbaev, M.K. (2002). Alternative nucleotide incision repair pathway for oxidative DNA damage. *Nature*, 415, 183-187. DOI:10.1038/415183a.
- [20] 19 J. Laval, Two enzymes are required from strand incision in repair of alkylated DNA, *Nature*, 269 (1977) 829-832. DOI:10.1038/269829A0.
- [21] 20 M. Redrejo-Rodriguez, C. Saint-Pierre, S. Couve, A. Mazouzi, A.A. Ishchenko, D. Gasparutto, M. Saparbaev, New Insights in the Removal of the Hydantoin, Oxidation Product of Pyrimidines, via the Base Excision and Nucleotide Incision Repair Pathways, *PLoS One*, 6 (2011) e21039. DOI:10.1371/journal.pone.0021039.

С. М. Тайпакова¹, Ж. Д. Акишев¹, М. Ж. Құлжан¹,
Ж. Н. Ахметова¹, М. К. Сапарбаев², А. К. Бисенбаев¹

¹Биология және биотехнология мәселелері ҒЗИ,
әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан,
²«ДНҚ репарациясы» зертханасы, Густав Роззи институты, Париж Франция

**ДНҚ-ГИКОЗИЛАЗАЛАРҒА ТӘУЕЛСІЗ НУКЛЕОТИДТЕРДІҢ ИНСЦИЗИЯЛЫҚ
РЕПАРАЦИЯСЫНДАҒЫ *A. THALIANA*-НЫҢ ARP АПУРИНДІ/АПИРИМИДИНДІ
ЭНДОНУКЛЕАЗАСЫНЫҢ РӨЛІ**

Аннотация. Өсімдіктер метаболитикалық реакциялардың жанама өнімдері ретінде оттегінің белсенді түрлерін (ОБТ) салыстырмалы түрде көп мөлшерде митохондриялар, хлоропластар, пероксисомаларда үздіксіз түзіп отырады. Мұның бәрі, ең бірінші клетка ДНҚ-сына әсерін тигізіп, әртүрлі зақымданулар тудырады. ДНҚ негіздерінің тотыға зақымдалуы, ДНҚ тізбегінің үзінділері, апуриң/апириимидинді (АП) сайттар негіздердің ДНҚ репарациясының екі түрі: эксцизиялық репарация (BER) және нуклеотидтердің инсцизиялық репарациясы (NIR) механизмдерінің субстраты болып табылады. ДНҚ-гликозилазалармен инициацияланатын BER, тотыға зақымдалған негіздердің басым бөлігін қалыпына келтіретін негізгі механизм болып табылады. Бірақ, BER механизмі нәтижесінде АП-сайттар, 2'-дезоксирибоза-5'-фосфат және 3'-соңындағы шектеуші топтар сияқты генотоксикалық аралық өнім пайда болып, олар BER механизмінің келесі сатыларында ғана репарацияланады. Ал NIR механизмі ДНҚ-гликозилазаларға тәуелсіз жүреді, демек генотоксикалық аралық өнімдерді түзбейді. Пайда болатын ДНҚ молекуласындағы үзінділер синтезделу және тигіліуі үшін оңтайлы дұрыс сондарға ие. Осындай ерекше қасиеті NIR механизміне теориялық тұрғыдан ДНҚ-гликозилазаға тәуелді BER механизмімен салыстырғанда көптеген артықшылықтар береді.

Модельді организм *A. thaliana* геномы адам АП-эндонуклеазасының (APE1) үш болжамды гомологтарын кодтайды: Atp, Ape1L және Ape2. Қазіргі уақытта, өсімдіктердің АП-эндонуклеазаларының қайсысы NIR белсенділікке ие екені белгісіз.

Қазіргі жұмыста, алғашқы рет ARP белогы АП-эндонуклеазалық белсенділікпен қатар NIR белсенділікке ие екені көрсетілген. ARP-ның кинетикалық параметрлерін зерттеу нәтижесінде фермент ДНҚ гликозилазалардың қатысынсыз тікелей негіздердің альфа-аномерлі 2'-дезоксиаденозин и 5,6-дигилпроурацил зақымдарын репарациялай алуға қабілетті ($k_{cat}/K_M = 134$ и $7.3 \mu M^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$, сәйкесінше).

Түйін сөздер: АП эндонуклеаза, *A. thaliana*, ДНҚ гликозилазалар, оттегінің белсенді түрлері.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 91 – 96

S. N. Abdreshov¹, A. O. Balchybekova²¹Institute of Human and Animal Physiology, SK MES RK, Almaty, Kazakhstan²Astana Medical University, Astana, Kazakhstan.

E-mail: SNABDRESHOV@mail.ru

**CONTRACTIVE ACTIVITY OF LYMPH NODES
AT PANCREATITIS**

Abstract. It was observed that at sharp pancreatitis at animals the distortion of rheological indicators of a lymph and blood: viscosity increased, time of coagulability decreased and the number of platelets in blood increased. At sharp pancreatitis shifts in ionic composition of blood, a lymph and urine were noted. The maintenance of ions of sodium and potassium raised, and calcium decreased in comparison with intact rats. At sharp pancreatitis at adult dogs, according to a rheography, decrease in blood supply in all departments of a pancreas was observed. At pancreatitis of spontaneous and caused contractile activity of mesenterium lymph nodes and infringement in biochemical content of lymph was observed. Loss of lymph nodes to reductions in reply to the action of вазоактивных substances was given. Adrenaline (10^{-8} – 10^{-3} М) had been used as tests.

Keywords: amylase, acute pancreatitis, lymph nodes, lymph flow, contractile activity.

ӘОЖ 612.42+616.36

С. Н. Әбдірешов¹, А. О. Балхыбекова²¹ҚР БҒМ ҒК «Адам және жануарлар физиологиясы институты», Алматы, Қазақстан,²Астана медицина университеті, Астана, Қазақстан**ПАНКРЕАТИТ КЕЗІНДЕГІ ЛИМФА ТҮЙІНДЕРІНІҢ
ЖИЫРЫЛУ БЕЛСЕНДІЛІГІ**

Аннотация. Жедел панкреатит кезінде жануарлардың лимфа мен қанның реологиялық көрсеткіштері өзгерістерге ұшырайтындығы байқалады: тұтқырлықтың жоғарлауы, қанның ұю жылдамдығы төмендеді және қанда тромбоциттер саны артты. Жедел панкреатит кезінде қан, лимфа және несепте иондық құрамында өзгеріс болатындығы байқалды. Қалыпты жағдайдағы егеуқұйрықтармен салыстырғанда натрий және калий иондарының жоғарлады, ал кальций иондары төмендеді. Реография көрсеткіштері бойынша, жедел панкреатит кезінде ұйқы безінің барлық бөлімдерінде қанмен қамтамасыз етілуі төмендегендігі байқалады. Панкреатит кезінде, өздігінен және шақырылған лимфа түйіндерінің жиырылуының бәсеңдеуі және лимфа құрамының биохимиялық өзгерісі байқалады. Вазоактивті заттар әсеріне лимфа түйіндерінің жиырылу белсенділігіне төмендегені анықталды. Вазоактивті заттар ретінде адреналин (10^{-8} – 10^{-3} М) қолданылды.

Түйін сөздер: амилаза, жедел панкреатит, лимфа, панкреатит, лимфа түйіндері, жиырылу белсенділігі.

Соңғы кездегі іргелі медицинаның жетістіктеріне қарамастан, жедел панкреатиттің патогенезі әлі күнге дейін белгісіз болып келеді. Ұйқы безі ауруының 66%-ын панкреатит құрайды, жедел панкреатит өз тұрғысынан полиэтиологиялық бола тұра, монопатогендік аурулар болып саналады, әрі құрсақ ағзасында жиі кездесетін ауру [1, 2].

Жедел панкреатиттің патогенезі макро- және микрогемодинамиканың бұзылуымен байланысты гиповолемия болып саналады. Қан айналымдағы секвестрация негізінде барлық мүшелерде микроайналымның бұзылуына әкеледі [3].

Панкреатит бұл ұйқы безінен оқшауланбаған процесс, яғни бұл ауру кезінде барлық организмде патологиялық өзгерістер байқалады, түрлі ферменттер әсерінен өзгеде жүйелер зақымданады. Бездің өз-өзінен бейтараптауы әсерінен некроз пайда болады, әрі без секрециясы неғұрлым күшті болса, деструкцияның көлемі де артады [4, 5].

Жедел панкреатиттің дамуының алғашқы 1-ші және 3-ші тәулік кезеңінде шеткі қандарда нейтрофильді лейкоциттер белсенділігінің бірден 18 есе артқандығын, ғалымдардың зерттеу жұмыстары көрсеткен. Бұл өз кезегінде ұйқы безіндегі жедел панкреатиттің дамуындағы функциональдық-метаболизмдік өзгерістерді көрсетеді [6, 7].

Өткір панкреатит кезіндегі лимфа жүйесінің жағдайын зерттеу қызығушылық тудырады [8, 9]. Қазіргі кезеңдегі әдебиеттер бойынша лимфа түйіндері көптеген қызметтер атқарады, оның ішінде ең маңыздылары – алмасу, тасымалдау, тосқауылдық, дренаждық-залалсыздандыру қызметтері. Лимфа микротамырлары лимфаайнылымы жүйесінің бастапқы тізбегі болып саналады, сонымен қатар тамыр-ұлпа гомеостазды сақтаудағы ролі маңызды [10, 11]. Бірақ біз әлі күнге дейін лимфа тамырлары мен түйіндерінің жедел және созылмалы панкреатит кезіндегі құрылымдық-қызметтік өзгерістері жайлы зерттеу мәліметтерін кездестірмедік.

Біздің жұмысымыздың мақсаты қалыпты және тәжірибелік панкреатит кезіндегі лимфа түйіндерінің жиырылу белсенділігін зерттеу болып табылады.

Зерттеу материалдары мен әдістері. Тәжірибе салмағы 220–250 г болатын, 25 ақ лабораториялық егеуқұйрықтарға жасалынды, олардан екі топ құрылды. Бірінші – бақылау тобы (10 егеуқұйрық), екінші топ (15 егеуқұйрық) – жедел панкреатит ауыруына шалдыққандар. Тәжірибелік топтағы екеуқұйрықтарға бір күндік ашығудан кейін зонд арқылы асқазанға 4,0 мл 96% спирт және 1,0 мл 10% камфора майы қоспасы енгізілді [12]. Барлық зерттеу жұмыстары, тәжірибеге және басқа да мақсаттарға арналған, жануарларды қорғау жөніндегі Европа конвенциясына сәйкес, биоэтика ережелерін сақтау негізінде жүргізілді, әрі жануарлар стандартты рационда ұсталды.

Екі топтада лимфа мен қандағы биохмиялық көрсеткіштер анықталды. Глюкоза мөлшерін тест-жолықтары арқылы «Глюкотренд-2» аспабымен, қан плазмасы мен лимфада инсулин мөлшерін имунорадиометриялық әдіспен [13], α -амилаза мөлшері амилокластикалық әдіс арқылы [14] анықталды. Лимфа түйіндерінің жиырылу белсенділігі белгілі әдістермен жүргізілді [15]. Лимфа түйіндерінің бір ұшы камераға бекітілсе, ал екінші ұшы механотронның датчигіне 6MX1C бекітілді. Егеуқұйрықтардың лимфа түйіндерін қоректендіретін арнайы Кребс ертіндісі дайындалды, оның құрамы: NaCl – 133,0; NaHCO₃ – 16,3; NaH₂PO₄ – 1,38; KCl – 5; MgCl₂ – 0,1; глюкоза – 7,8 мМ/литр, рН – 7,4, ерітінді +37° С болу қажет. Вазоактивті заттар ретінде адреналин ($1 \cdot 10^{-8}$ – $1 \cdot 10^{-3}$ М) қолданылды.

Алынған эксперименталды материалдар вариациондық статикалық Стьюденттің t-критеріі арқылы өңделді.

Зерттеу нәтижелері және оны талқылау. Зерттеу нәтижелері көрсеткендей, тәжірибе кезінде α -амилаза белсенділігі лимфада $788,1 \pm 44$ ед/л және қанда 1485 ± 65 ед/л (бақылау тобында бұл көрсеткіштер 410 ± 32 және 680 ± 45 ед/л) артқандығы байқалады. Глюкоза деңгейі 48 сағаттан кейін лимфада – 3,5 есеге, қанда 2,9 есеге дейін артты (бақылау тобында сәйкесінше $4,35 \pm 1,73$ және $3,56 \pm 1,73$ моль/л). Жедел панкреатит кезінде лимфа мен қанда инсулин деңгейінің бақылау тобымен салыстырғанда 2,2 және 3 есе төмендегені байқалады (қалыпты жағдайда лимфада $8,2 \pm 1,2$ мкМЕ/мл; қанда $21,3 \pm 1,8$ мкМЕ/мл), бұл өз кезегінде ұйқы безінің жұмысының нашарлағанын көрсетеді. Егеуқұйрықта жедел панкреатиттің болуы лимфа мен қан құрамындағы α -амилазы белсенділігі мен глюкоза деңгейінің жоғарлауы, сонымен бірге инсулин деңгейінің бірден төмендеуі бұл өз кезегінде организмде эксперименталды панкреатит алынғандығының дәлелі.

Бақылау тобында жиырылу жиілігі – $8,1 \pm 0,2$ мг жиыр/мин, ал амплитуда – $18,3 \pm 0,3$ мг көрсеткішке сай болды. Егеуқұйрықтарда жедел панкреатит кезінде лимфа түйіндерінің баяу жиырылу байқалды, шажырқай лимфа түйіндерінің жиырылу белсенділігінің жиілігі $5,1 \pm 0,2$ жиыр/мин, амплитудасы $7,0 \pm 0,3$ мг болғандығын көрсетті (1-сурет).

Бақылау тобындағы егеуқұйрықтардың лимфа түйіндерінің жиырылу реакциясы вазоактивті заттардың әсерін байқаған. Лимфа түйіндері вазоактивті заттардың, айтайық адреналин $1 \cdot 10^{-8}$ М дозасында жиырылу жиілігі мен амплитудасы 9% және 15%-ке ұлғаяды. Лимфа түйіндеріне

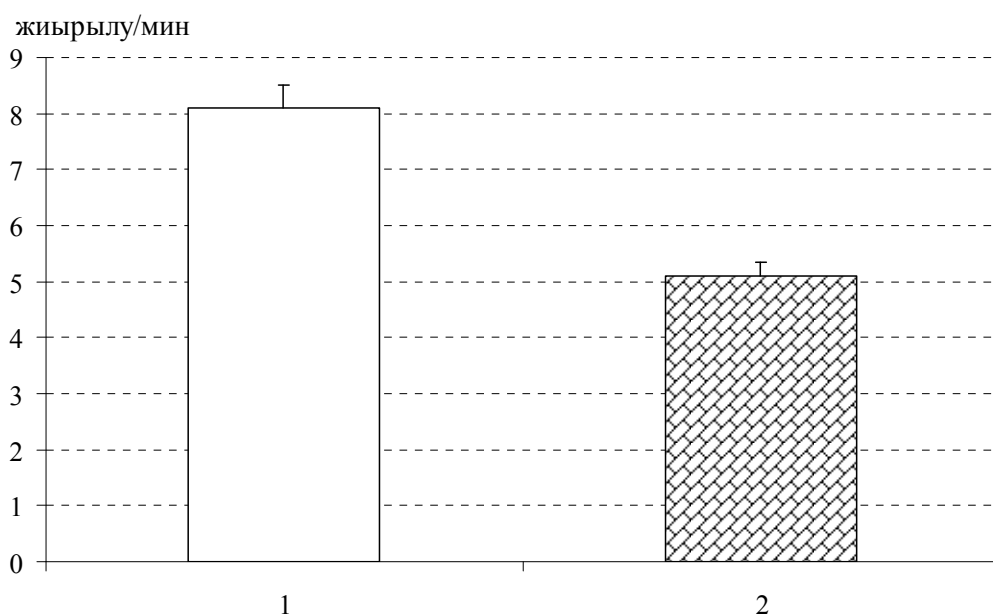
адреналин $1 \cdot 10^{-8}$ – $1 \cdot 10^{-3}$ М концентрациясы әсері кезінде бастапқы кезеңмен салыстырғанда жиілігі $4,8 \pm 0,3$ және жиырылу амплитудасы $15,3 \pm 1,1\%$ -ға жоғарлайтындығы байқалды.

Егеуқұйрықтардағы панкреатитті қоздырғаннан кейінгі оқшауланған лимфа түйіндеріндегі адреналиннің $1 \cdot 10^{-8}$ М концентрациясының әсерінен лимфа түйіндерінің жиырылу реакциясының жиілігі мен амплитудасы бастапқы кезеңмен салыстырғанда $2 \pm 0,2\%$ және $3 \pm 0,4\%$ -ға төмендеді.

Лимфа түйінінің шажырқай безінің жиырылу реакциясы вазоактивті заттарға, әсіресе адреналиннің $1 \cdot 10^{-8}$ – $1 \cdot 10^{-3}$ М мөлшерде жауап беруі бақылау тобымен салыстырғанда сәйкесінше жиілігі $10,5\%$ -ға және амплитудасы $6,7\%$ -ға артқандығы байқалады. Адреналин $1 \cdot 10^{-8}$ – $1 \cdot 10^{-3}$ М дозасының әсерінен жедел панкреатит кезінде лимфа түйіндерінің тонустарыны жоғарлауы байқалады.

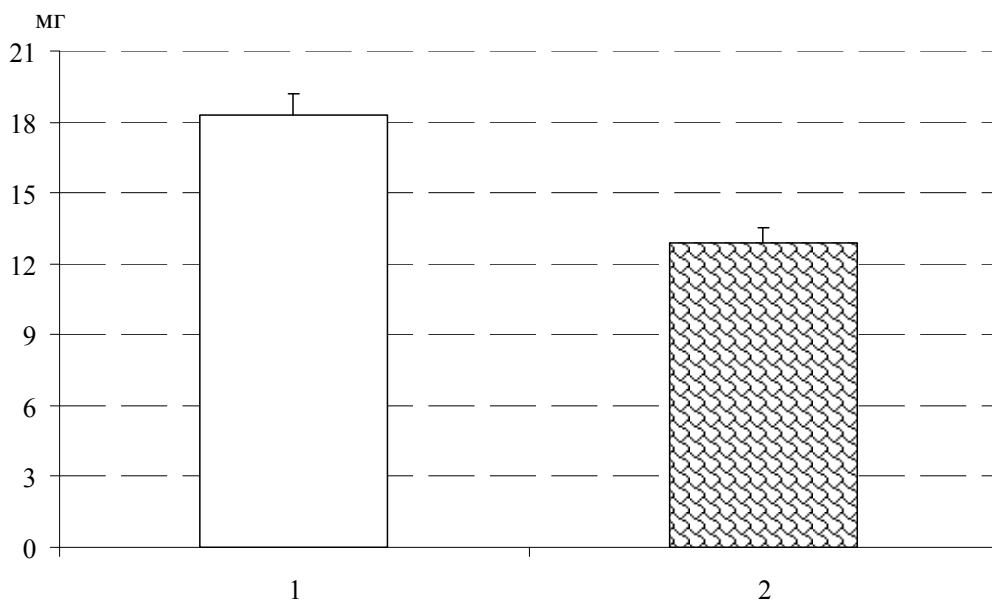
1-кесте – Бақылау тобындағы және жедел панкреатит кезіндегі егеуқұйрықтардың лимфасы мен қан плазмасындағы биохимиялық көрсеткіштер

Атауы	Бақылау тобы	Жедел панкреатит
<i>Лимфы</i>		
α -амилаза, ед/л	410 ± 32	$788,1 \pm 44^*$
Липаза, мккат/л	$4,75 \pm 0,3$	$28,8 \pm 0,2^{**}$
Трипсин, мг/л	$5,6 \pm 0,2$	$18,6 \pm 0,5^{**}$
Инсулин мкМЕ/мл	$8,2 \pm 1,2$	$3,7 \pm 1,2^{**}$
Глюкоза ммоль/л	$4,35 \pm 1,73$	$15,35 \pm 2,80^*$
<i>Қан плазмасы</i>		
α -амилаза, ед/л	680 ± 45	$1485 \pm 65^{**}$
Липаза, мккат/л	$2,93 \pm 0,1$	$17,2 \pm 0,3^{**}$
Трипсин, мг/л	$5,2 \pm 0,3$	$64,3 \pm 2,8^{**}$
Инсулин мкМЕ/мл	$21,3 \pm 1,8$	$7,1 \pm 1,5^{**}$
Глюкоза ммоль/л	$3,56 \pm 1,73$	$10,60 \pm 2,50^*$
<i>Ескерту.</i> Сенімділігі бақылаумен салыстырғанда, $-p < 0,5^*$, $-p < 0,01^{**}$.		



Белгілер. Ординат осі бойынша жиілік жиырылу минутына, 1 – қалыпты жағдай, 2 – жедел панкреатит.

1-сурет – Қалыпты жағдайдағы және панкреатит кезіндегі лимфа түйіндерінің жиілігі



Белгілер. Ординат осі бойынша амплитуда мг, 1 – қалыпты жағдай, 2 – жедел панкреатит.

2-сурет – Қалыпты жағдайдағы және панкреатит кезіндегі лимфа түйіндерінің амплитудасы

Лимфа мен қанның тұтқырлығы мен ұю жылдамжығының өзгеруі, организмде болатын өзгерістерді байқатады. Тәжірибе барысында егеуқұйрықтарға спирт пен май қоспасын енгізілгенде, ұйқы безі стромальды ұлпаларының ыдырауы, ұйқы бездерінің ісінуі байқалады. Сонымен бірге, аниоциттердің деструктивті өзгестерімен қатар жүретіндігі анықталды. Бұл өзгерістер жедел панкреатитке тән болатындығы, басқада зерттеуші ғалымдардың еңбектерінен байқауға болады [16, 17].

Зерттеу нәтижелері көрсеткендей, жедел панкреатит кезінде ісіну құбылыстарына және лимфа түйіндеріндегі жиырылу белсенділігінің төмендеуіне әкелетін патологиялық процестер жүрді, бірақ вазобелсенді заттар регионарлы лимфа түйіндерінің вазоконстрикциясын жоғарлатты. Сонымен, зерттеу жұмыстары көрсеткендей панкреатит кезінде, патологиялық үдерістер байқалады, ол өз кезегінде лимфа түйіндерінің ісінуіне алып келеді де, олардың жиырылу белсенділігін төмендетеді, бірақ вазоактивті заттар аймақтық лимфа түйіндерінің вазоконстрикциясын жоғарлататындығы байқалады. Жедел панкреатит кезінде тәжіоибелік топтағы жануарларда лимфа түйіндерінің жиырылу белсенділігінің төмендегені, ал адреналин әсеріне олардың белсенділігінің артқандығы анықталды. Алынған нәтижелер жануарлар организмнің патологиялық процестері өткір панкреатиттің дамуында және организмнің гомеостазының реттелуінде лимфа жүйесінің қатысатынына дәлел болады.

ӘДЕБИЕТ

- [1] Толстой А.Д., Сопия Р.А., Красногоров В.Б. и др. Деструктивный панкреатит и парапанкреатит. – СПб., 1999. – 128 с.
- [2] Бурневич С.З., Гельфанд Б.Р., Орлов Б.Б., Цынделжанов Е.Ц. Деструктивный панкреатит: современное состояние проблемы // Вест. хир. – 2000. – Т. 159, № 2. – С. 116-123.
- [3] Foitzik T., Eibl G., Hotz b. et al. Persistent multiple organ microcirculatory disorders in severe acute pancreatitis: experimental findings and clinical implications // Dig. Dis. Sci. Spain. – 2002.– Vol. 47, N 1. – P. 130-138.
- [4] Mayerle J., Simon P., Kraft M. et al. Conservative treatment of acute pancreatitis // Med. Klin. (Munich). – 2003. – Vol. 98, N. 12. – P. 744-749.
- [5] Masamune A., Kikuta K., Satoh M., Satoh A., Shimosegawa T. Alcohol activates activator protein-1 and mitogen-activated protein kinases in rat pancreatic stellate cells // J Pharmacol Exp Ther. – 2002. – N 302. – P. 36-42.
- [6] Alsfasser G., Antoniu B., Thayer S.P. et al. Degradation and inactivation of plasms tumor necrosis factor-alpha by pancreatic proteases in experimental acute pancreatitis // Pancreatology. – 2005. – Vol. 5. – P. 37-43.

- [7] Барсуку А.В., Нарсия В.В., Славинский А.А. Активация нейтрофильных лейкоцитов периферической крови у больных острым панкреатитом // *Современные наукоемкие технологии*. – 2012. – № 8. – С. 8-9.
- [8] Silver I., Li B., Szalai J., Johnston M. Relationship between intracranial pressures and cervical lymphatic pressure and flow rates in sheep // *Amer. J. Physiol.* – 1999. – 277 (6, Pt.22) – P. 1712-1717.
- [9] Бриль Г.Е., Галанжа Е.И., Ульянов и др. Функциональная организация лимфатических микрососудов брыжейки крысы // *Росс. физиол. журнал*. – 2001. – № 5(87). – С. 600-607.
- [10] Борисов А.В. Методика тотального препарата лимфатического сосуда: результаты и задачи // *Матер. науч. конф. «Проблемы экспериментальной, клинической и профилактической лимфологии»*. – Т. 10. – Новосибирск, 2002. – С. 55-57.
- [11] Бородин Ю.И. Теоретические предпосылки профилактической лимфологии и здоровье человека в Сибири // *Межд., конф. «Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии»*. – Т. 1. – Новосибирск, 2013. – С. 54-56.
- [12] Гайворонский И.В., Петров С.В., Тихонова Л.П., Ефимов А.Л. Гемоциркуляторное русло поджелудочной железы и радужной оболочки глаза при моделировании острого панкреатита в эксперименте // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. – 2004. – Т. 3, № 4. – С. 98-101.
- [13] Immunoradiometric assay for the in vitro determination of insulin in human serum and plasma. Immunotech. A Beckman Coulter Company. Prague, 2006. – P. 2-5.
- [14] Камышников В.С., Колб В.Г. Клиническая биохимия. – М., 2000. – Т. I, II. – 480 с.
- [15] Блаттнер Р., Классен Х., Денерт Х. Эксперименты на изолированных препаратах гладких мышц. – М.: Мир, 1983. – 206 с.
- [16] Xu Y., Osborne B.W., Stanton R.C. Relationship between intracranial pressures and cervical lymphatic pressure and flow rates in sheep // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2005. – Vol. 289, N 5. – P. F1040-F1047.
- [17] Власов А.П., Анашкин С.Г., Николаев Е.А. и др. Коагуляционно-литическое состояние при остром панкреатите // *Фундаментальные исследование*. – М., 2012. – № 8. – С. 289-293.

REFERENCES

- [1] Tolstoj A.D., Sopija R.A., Krasnogorov V.B. i dr. Destruktivnyj pankreatit i parapankreatit. SPb., 1999. 128 p.
- [2] Burnevich S.Z., Gel'fand B.R., Orlov B.B., Cyndelzhanov E.C. Destruktivnyj pankreatit: sovremennoe sostojanie problemy // *Vestnik hirurgija*. 2000. Vol. 159, N 2. P. 116-123.
- [3] Foitzik T., Eibl G., Hotz B. et al. Persistent multiple organ microcirculatory disorders in severe acute pancreatitis: experimental findings and clinical implications // *Dig. Dis. Sci. Spain*. 2002. Vol. 47, N 1. P. 130-138.
- [4] Mayerle J., Simon P., Kraft M. et al. Conservative treatment of acute pancreatitis // *Med. Klin. (Munich)*. 2003. Vol. 98, N 12. P. 744-749.
- [5] Masamune A., Kikuta K., Satoh M., Satoh A., Shimosegawa T. Alcohol activates activator protein-1 and mitogen-activated protein kinases in rat pancreatic stellate cells // *J Pharmacol Exp Ther*. 2002. N 302. P. 36-42.
- [6] Alsfasser G., Antoniu V., Thayer S.P. et al. Degradation and inactivation of plasmas tumor necrosis factor-alpha by pancreatic proteases in experimental acute pancreatitis // *Pancreatology*. 2005. Vol. 5. P. 37-43.
- [7] Barsuk A.V., Narsija V.V., Slavinskij A.A. Aktivacija nejtrofil'nyh lejkocitov perifericheskoj krovi u bol'nyh ostrym pankreatitom // *Sovremennye naukoemkie tehnologii*. 2012. N 8. P. 8-9.
- [8] Silver I., Li B., Szalai J., Johnston M. Relationship between intracranial pressures and cervical lymphatic pressure and flow rates in sheep // *Amer. J. Physiol.* 1999. N 277 (6, Pt. 22). P. 1712-1717.
- [9] Brill' G.E., Galanzha E.I., Ul'janov i dr. Funkcional'naja organizacija limfaticeskikh mikrosoudov bryzhejki krysy // *Ross. fiziol. zhurnal*. 2001. N 5(87). P. 600-607.
- [10] Borisov A.V. Metodika total'nogo preparata limfaticeskogo sosuda: rezul'taty i zadachi // *Mater. науч. конф. «Problemy jeksperimental'noj, klinicheskoj i profilakticheskoj limfologii»*. Vol. 10. Novosibirsk, 2002. P. 55-57.
- [11] Borodin Ju.I. Teoreticheskie predposylki profilakticheskoj limfologii i zdorov'e cheloveka v Sibiri // *Mezhdnju, конф. «Fundamental'nye problemy limfologii i kletочноj biologii»*. Vol. 1. Novosibirsk, 2013. P. 54-56.
- [12] Gajvoronskij I.V., Petrov S.V., Tihonova L.P., Efimov A.L. Gemocirkuljatornoe ruslo podzheludочноj zhelezy i razduzhnoj obolochki glaza pri modelirovanii ostrogo pankreatita v jeksperimente // *Regionarnoe krovoobrabshhenie i mikroциркуляция*. 2004. Vol. 3, N 4. P. 98-101.
- [13] Immunoradiometric assay for the in vitro determination of insulin in human serum and plasma. Immunotech. A Beckman Coulter Company. Prague, 2006. P. 2-5.
- [14] Kamyshnikov V.S., Kolb V.G. Klinicheskaja biohimija. M., 2000. Vol. I-II. 480 p.
- [15] Blattner R., Klassen H., Denert H. Jeksperimenty na izolirovannyh preparatah gladkih myshe. – М.: Мир, 1983. 206 p.
- [16] Xu Y., Osborne B.W., Stanton R.C. Relationship between intracranial pressures and cervical lymphatic pressure and flow rates in sheep // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2005. Vol. 289, N 5. P. F1040-F1047.
- [17] Vlasov A.P., Anashkin S.G., Nikolaev E.A. i dr. Koaguljacionno-liticheskoe sostojanie pri ostrom pankreatite // *Fundamental'nye issledovanie*. M, 2012. N 8. P. 289-293.

С. Н. Абдрешов¹, А. О. Балхыбекова²

¹Институт физиологии человека и животных КН МОН РК, Алматы, Казахстан,

²Медицинский университет Астана, Астана, Казахстан

СОКРАТИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ ПАНКРЕАТИТЕ

Аннотация. При остром панкреатите у животных наблюдались нарушения реологических показателей лимфы и крови: повышалась вязкость, снижалось время свертываемости и увеличилось число тромбоцитов в крови. При остром панкреатите отмечены сдвиги в ионном составе крови, лимфы и мочи. Содержание ионов натрия и калия повышалось, а кальция снижалось по сравнению с интактными крысами. При остром панкреатите у взрослых собак, по данным реографии, наблюдалось снижение кровоснабжения во всех отделах поджелудочной железы. При панкреатите наблюдалось угнетение спонтанной и вызванной сократительной активности лимфатических узлов и нарушение в биохимическом составе лимфы. Показаны утрата лимфатических узлов к сокращениям в ответ на действие вазоактивных веществ. В качестве тестов использовали адреналин (10^8 – 10^{-3} М).

Ключевые слова: амилаза, острый панкреатит, лимфатические узлы, лимфоток, сократительная активность.

Авторлар туралы мәлімет:

Әбдірешов Серік Наурызбайұлы – ҚР БҒМ ҒК Адам және жануарлар физиологиясы институты, лимфа жүйесі физиологиясы лабораториясының жетекші ғылыми қызметкері, биология ғылымдарының кандидаты, ассоц. профессор, e-mail: SNABDRESHOV@mail.ru

Балхыбекова Айгүл Орынбекқызы – Астана медицина университеті, медицина ғылымдарының кандидаты, қалыпты физиология кафедрасының доцент міндетін атқарушы.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 97 – 102

V. V. Boyko, M. U. Sizi, V. V. Makarov, A. N. Shevchenko, V. N. Lyhman, O. S. OlefirKharkiv national medical university, Ukraine,
V. Y. Zaycev institute of general emergency surgery, Kharkiv, Ukraine**MONITORING CYTOKINE STATUS
IN PATIENTS WITH NECK INJURIES**

Abstract. Analysis of cytokine status in 64 patients with neck injuries with damage to internal structures was conducted. Monitoring cytokine status in patients with lesions of the internal structures of the neck in the acute period (IL-6, 8, 10, TNF) has important clinical prognostic and diagnostic value. Dynamic study about the concentrations of inflammatory and anti-inflammatory interleukins for 10 days in patients with neck injuries with damage to the internal structures of the neck, in combination with clinical data, allows you to change the routine treatment policy and optimize the timing and volume of surgical care in victims.

Keywords: neck injury, cytokines status, surgical treatment.

УДК 617.53-001.4-616-085-07

В. В. Бойко, М. Ю. Сизый, В. В. Макаров, А. Н. Шевченко, В. Н. Лыхман, А. С. ОлефирХарьковский национальный медицинский университет, Украина
ГУ Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева НАМНУ, Харьков, Украина**АНАЛИЗ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ И ХИРУРГИЧЕСКОЙ
ТАКТИКИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПОСТРАДАВШИХ С РАНЕНИЯМИ ШЕИ**

Аннотация. Проанализированы результаты диагностики и лечения 129 случаев ранений шеи. Возраст раненых варьировал от 18 до 65 лет. Преобладали множественные – 71 (55 %) повреждения, при этом одиночные были зарегистрированы в 51 (44,9 %). При проведении ретроспективного анализа установлено, что диагностические ошибки были отмечены у (44,9 %) раненых. В большинстве случаев (26,3 %) диагностические ошибки были выявлены у пациентов с ранениями внутренних органов, что привело к развитию осложнений и летальных исходов.

Ключевые слова: ранения шеи, диагностика, хирургическое лечение.

Актуальность. Число больных с ранениями шеи в связи с неблагоприятной криминальной обстановкой и наличием локальных военных конфликтов не уменьшается. По данным литературы, частота ранений шеи составляет от 5 до 10% всех ранений мирного времени [11] и 0,5–3% ранений военного времени [3, 5, 8, 10]. Общая летальность при глубоких ранениях шеи составляет около 11% [1].

До 34% раненных в шею в мирное время умирают на месте происшествия. Основными причинами смерти являются острая массивная кровопотеря вследствие повреждения сосудов шеи (38,5%), острая сердечно-сосудистая и дыхательная недостаточность при ранениях шейного отдела позвоночника и спинного мозга (30,2%), тяжелые повреждения других локализаций (27,5%), асфиксия при ранении верхних дыхательных путей (3,8%) [12]. Большинство пострадавших (80,7–90,55%), по данным различных авторов, – мужчины, средний возраст которых составляет 27–35 лет, т.е. наиболее социально активная часть населения [4, 8].

В мирное время преобладают колото-резаные ранения шеи – 80,6–97,4%, частота огнестрельных ранений составляет 2,5–14,3%. Основными обстоятельствами ранений в 77–91,1% наблюдений являются конфликтные и криминальные ситуации.

В 6,44–10,6% наблюдений, т.е. каждое десятое ранение составляют суицидальные попытки. Отмечается высокий процент множественных (до 31,8%) и сочетанных (до 63,2%) по локализации ранений.

Повреждения внутренних структур шеи наблюдаются у 38,6% пострадавших. Наиболее часто встречаются повреждения сосудов, гортани и трахеи, глотки и пищевода [1, 2, 8].

Оказание специализированной помощи пациентам с ранениями шеи относится к числу наиболее актуальных проблем современной хирургии [5, 9]. Такие ранения нередко характеризуются тяжелым состоянием пострадавшего, вариабельностью клинического течения, непредсказуемостью хода раневого канала, необходимостью срочного оперативного вмешательства [5-7]. Несмотря на высокий риск развития неблагоприятных исходов при данном типе повреждений, до настоящего времени не разработаны дифференциальные подходы к диагностике, тактике хирургического лечения; отсутствует система оказания специализированной помощи пациентам.

Помощь больным в тяжелом состоянии должна заключаться прежде всего в восстановлении проходимости дыхательных путей, остановке кровотечения и противошоковых мероприятиях. По неотложным показаниям оперируют раненых с кровотечением, асфиксией, усугубляющейся неврологической симптоматикой (нарушение сознания, афазия, симптом Горнера, гемипарез или гемиплегия). Без проведения дополнительных исследований также оперируют больных с клиническими симптомами повреждения кровеносных сосудов и полых органов шеи при стабильных показателях гемодинамики, дыхания и функций центральной нервной системы [12, 13].

Таким образом, ранения шеи являются одним из коварных видов повреждений, которые характеризуются полиморфностью клинической симптоматики. Лечебно-диагностическая тактика при ранениях шеи представляет серьезную проблему и требует дальнейшего изучения.

В настоящее время не разработан общепринятый оптимальный алгоритм обследования пострадавших с ранениями шеи, в частности, при подозрении на повреждение глотки или шейного отдела пищевода. Недиагностированные повреждения органов шеи могут служить причиной тяжелых гнойных осложнений и летального исхода. Нет единого мнения о необходимости, срочности и объеме оперативного вмешательства при ранениях различных зон шеи, что требует дальнейшего исследования.

Материалы и методы. В основу исследования положен анализ 129 случаев ранений шеи. Возраст раненых варьировал от 18 до 65 лет. Все пострадавшие находились на лечении в клинике ГУ Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева НАМНУ за период с 2005–2016 гг.

В большинстве наблюдений – 96 (74,4 %) ранения – носили колото-резаный характер, в 16 (12,4 %) – дробью, в 17 (13,1 %) наблюдениях отмечены суицидальные попытки.

В работе использовалась классификация ранений шеи, предложенная А.А. Завражнова (2005), в которой выделены шесть наиболее существенных характеристик ранений шеи, согласно которой по глубине различают: поверхностные, распространяющиеся не глубже подкожной мышцы (m. platysma), и глубокие ранения, распространяющиеся глубже подкожной мышцы, соответствующие принятым в зарубежной литературе терминам – «проникающие» («penetrating») и «непроникающие» («nonpenetrating») ранения шеи.

По характеру раневого канала ранения шеи разделены на слепые, сквозные (сегментарные, диаметральные и транс цервикальные) и касательные, т.е. тангенциальные. Согласно данной классификации также учитывалась локализация раневого канала относительно выделяемых в хирургии повреждений трех зон шеи.

В диагностических целях применялись общеклинические, лабораторные и специальные методы исследования. Изучалась медицинская документация – первичные медицинские карточки, сопроводительные листы бригад СМП, истории болезни, выписки из историй болезни, протоколы судебно-медицинских экспертиз.

Клиническое обследование раненых включало, прежде всего, оценку их общего состояния. Оценивались степень сохранения сознания, цвет кожных покровов и слизистых, неврологический статус, показатели внешнего дыхания (его характер, частота дыхания) и кровообращения (ЧСС,

величину артериального и центрального венозного давления). Для более надежного определения тяжести состояния пострадавших проводили оценку следующих лабораторных данных.

Оценку тяжести кровопотери осуществляли по глубине нарушений гемодинамики, клиническим и гематологическим показателям. Применялись специальные методы диагностики: рентгенологический, пункционный. Выполнялись по показаниям эндоскопические исследования: лапароскопия и торакокопия. Выполнялись электрокардиография, электроэнцефалография, эхоэнцефалография.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенного исследования установлено, что у большинства раненных 59 (45,7 %) ранения были в передний отдел шеи, при этом в 21 (16,2 %) в I зону, что не могло не повлиять на характер повреждения внутренних структур и на хирургическую тактику.

Из 129 пострадавших повреждения только мягких тканей выявлено у 26 (20,1 %) раненных, у остальных 103 (79,8 %) отмечено повреждения органов и структур.

Преобладали множественные 71 (55 %) повреждения, при этом одиночные были зарегистрированы в 51 (44,9 %). Шок различной степени тяжести в момент поступления был зарегистрирован у 67 (51,9 %) пострадавших. У большинства раненных с ранениями шеи был зарегистрирован шок III степени – 26 (20,1 %) раненных, при этом I степень шока была выявлена у 23 (17,8 %) раненных, II степени – 18 (13,9 %) поступивших. В большинстве наблюдений был зарегистрирован геморрагический шок – 42 (62 %) раненных, травматический шок развился у 25 (37,3 %) раненных.

Большинство пострадавших в момент поступления имели среднетяжелую степень тяжести. 67 (51,9 %) в момент поступления имели тяжелые повреждения, повреждения средней степени тяжести были выявлены у 34 (26,3 %) раненных, легкие повреждения отмечены у 12 (9,3 %) раненных, критическое состояние отмечено у 9 (6,9 %) и крайне тяжелые повреждения у 7 (5,4 %) раненных.

Диагностика ранений основывалась на данных осмотра, сбора анамнеза и использования дополнительных инструментальных исследований. В момент поступления оценивались общее состояние, определялся объем кровопотери, определялись жизнеугрожающие состояния, физикальный осмотр, при котором выявлялись кровотечения, парезы и параличи, выделение воздуха через рану шеи, распространенная подкожная эмфизема области шеи (при отсутствии проникающего ранения груди) и асфиксия.

На повреждение магистральных сосудов шеи четко указывали интенсивное наружное кровотечение, локализация раны в проекции сосудистого пучка, напряженная внутритканевая гематома и общеклинические признаки кровопотери (геморрагического шока). Кровотечение из сонных, позвоночных и подключичных артерий в основном наблюдалось на месте происшествия и в связи с глубоким залеганием этих сосудов (особенно при узком раневом канале), самостоятельно останавливалось еще до поступления в стационар. При сопутствующих ранениях полых органов шеи у 1/5 части раненных с повреждением сосудов наблюдалось ротоглоточное кровотечение. Сосудистые повреждения при огнестрельных ранениях шеи сопровождалось образованием гематомы средостения или тотального гемоторакса.

Высокой специфичностью обладали сосудистые шумы, выявленные при аускультации гематом. Они указывали на формирование или острого артериовенозного соустья, или ложной аневризмы. Достаточно специфичной оказалась совокупность таких неврологических признаков повреждения общей и внутренней сонных артерий, как контралатеральный гемипарез, афазия и синдром Горнера.

Основными симптомами повреждения полых органов шеи (гортани, трахеи, глотки, пищевода) явились выделение воздуха через рану шеи, распространенная подкожная эмфизема области шеи (при отсутствии проникающего ранения груди) и асфиксия. У раненных с такими повреждениями отмечалось также ротоглоточное кровотечение, кровохарканье или сплевывание крови. Из-за тяжести общего состояния более чем в половине случаев выявление расстройств глотания (дисфагии) и речи (дисфонии) оказалось невозможным.

Следует отметить, что у 12 (9,3 %) раненных в шею без повреждения полых органов также наблюдалась ограниченная подкожная эмфизема. Она, как правило, располагалась в окружности

раны и являлась результатом попадания пороховых газов в момент формирования раневого канала при выстрелах с близкой дистанции или следствием ранения шеи с повреждением легкого.

В предоперационном периоде различные инструментальные исследования применялись у 112 (86,8 %) раненных в шею. Достоинством обсуждаемого материала является то, что 95 % из этих раненных подверглись затем оперативному вмешательству, что позволило достоверно оценить информативность и специфичность используемых диагностических методов.

Основанием для подтверждения диагноза проникающего ранения глотки или пищевода при пероральной контрастной рентгеноскопии (-графии) является выход контраста в пери висцеральное пространство, но, как мы убедились, отрицательные результаты исследования вовсе не позволяют исключить наличия таких повреждений.

Более специфичными (по сравнению с рентгенологическими) методами оценки состояния полых органов шеи оказались эндоскопические исследования. В наших наблюдениях в предоперационном периоде они выполнялись раненым в шею практически во всех случаях прямо в операционной на операционном столе.

К низкой достоверности в качестве метода диагностики повреждений глотки и гортани в острый период ранения можно отнести непрямую ларингоскопию (по Киллиану). Ее выполнение также часто было затруднено отеком слизистой оболочки, скоплением крови в полости ротоглотки и неадекватностью поведения большинства раненных. Практическое значение непрямая ларингоскопия имела главным образом в послеоперационном периоде, являясь простым и надежным методом диагностики повреждения возвратных нервов. Частоту выполнений в 18,6 % наблюдениях можно объяснить доступностью и простотой выполнения.

Фиброфарингоэзофагоскопия (ФГДС) была выполнена в 26,3 % раненных в шею в ближайшем послеоперационном периоде. К сожалению, несмотря на отличную визуализацию просвета гортани, трахеи, глотки и пищевода, было получено в 23 % ложноотрицательных результатов. Еще в 3 % случаев наблюдались ложноположительные результаты. Наиболее часто не диагностировались небольшие по размерам повреждения глотки и шейного отдела пищевода. Нередко за рану слизистой оболочки принимали ее имбибицию кровью вследствие повреждения магистральных сосудов шеи, что и обуславливало ложноположительные результаты. Наши данные согласуются с мнением других авторов, которые также считают эндоскопию ненадежным исследованием. Следует иметь в виду, что выполнение без наркозной эндоскопии у раненных с повреждением магистральных сосудов шеи может привести к возобновлению кровотечения из-за натуживания и выталкивания тромбов или сгустков крови из раневого канала.

Помимо рентгенографии, для диагностики жизнеугрожающих последствий также активно использовались плевральные пункции, торакоцентез, лапароцентез, УЗИ органов живота и таза. Данные исследования выполнялись по мере возможности и необходимости, как последовательно, так и одновременно с проводимыми лечебными мероприятиями.

Также обязательным являлось исследование у всех раненных общего анализа крови (с определением гематокрита), коагулограммы, группы крови и резус-фактора.

Наиболее информативными и достоверными признаками, указывающими на повреждение магистральных сосудов шеи, явились продолжающееся наружное и (или) ротоглоточное кровотечение, а также локализация раны и (или) напряженной гематомы в проекции сосудисто-нервного пучка.

При повреждении полых органов наиболее часто наблюдались: нарушение дыхания по типу асфиксии, распространенная подкожная эмфизема, кровохарканье, выделение воздуха, слюны или слизи из раны.

Основными видами операций, выполняемых раненым в шею, были типичная трахеостомия без шва гортани и трахеи в 26,3 %; атипичная трахеостомия без шва гортани и трахеи – 16,2 %; шов гортани или трахеи с трахеостомией – 13,1 % и диагностическая ревизия внутренних структур шеи, которая была выполнена в 12,4 % наблюдений. Кроме того, в 10,8 % наблюдений была проведена торакотомия, при которой чаще всего было выполнено ушивание ранений пищевода.

Таким образом, проведенное исследование показывает, что у раненных с ранениями шеи, поступившие в экстренном порядке в лечебное учреждение, основными видами операций, выполняемых раненым в шею, были типичная трахеостомия без шва гортани и трахеи в 26,3 %; атипичная

трахеостомия без шва гортани и трахеи – 16,2 %; шов гортани или трахеи с трахеостомией – 13,1 % и диагностическая ревизия внутренних структур шеи, которая была выполнена в 12,4 % наблюдений. Кроме того, в 10,8 % наблюдений была проведена торакотомия, при которой чаще всего было выполнено ушивание ранений пищевода.

Так, при проведении ретроспективного анализа установлено, что из 129 поступивших с ранениями шеи, диагностические ошибки были отмечены у 58 (44,9 %) раненых. В большинстве случаев – 34 (26,3 %) диагностические ошибки были выявлены у пациентов с ранениями внутренних органов, что привело к развитию осложнений и летальных исходов, еще в 19 (14,7 %) наблюдениях диагностические ошибки были у раненых с ранениями сосудов, что было связано с остановившимся кровотечением либо наличием инородного предмета, который выполнял роль тампона. В остальных 5 (3,8 %) диагностические ошибки были у пациентов с ранениями мягкими тканями шеи, при этом не был оценен раневой канал.

Заключение. Ранения в область шеи чрезвычайно опасны за счет сконцентрированных здесь крупных кровеносных сосудов, нервных стволов, полых органов. Распространенность ранений данной области и трудности, связанные с их полноценной диагностикой, определяют необходимость внедрения в неотложную хирургию высокоинформативных методов обследования (спиральной компьютерной томографии с ангио контрастированием, магнитно-резонансной томографии) и малоинвазивных (рентгенэндоваскулярных) вмешательств.

Выполнение сложных инструментальных исследований, характер, их объем и срочность должны определяться хирургом индивидуально с учетом рекомендаций смежных специалистов. Во всех случаях при ранениях шеи необходима ревизия ограниченных, так называемых пениетрирующих ранений. При этом независимо от размеров раны и состояния больного обследование и лечение данной категории больных должно осуществляться в крупных специализированных стационарах с возможностью круглосуточного полноценного обследования и выполнения высокотехнологичных оперативных вмешательств в экстренном порядке.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Абакумов М.М. Множественные и сочетанные ранения шеи, груди, живота. – М.: Бином, 2013; 688.
- [2] Буренков Г.И. Хирургическая обработка огнестрельных ран шеи // Вестн. оторинолар. – 2011; 3: 20-23.
- [3] Быков В.П., Калинин М.А., Собинин О.В., Федосеев В.Ф. Флегмоны шеи и торакальные инфекционные осложнения // Рос. Оторинолар. – 2011; 2: 54-61.
- [4] Завражнов А.А., Самохвалов И.М., Ерошенко А.В. Хирургическая тактика при ранениях шеи в условиях лечебного учреждения мирного времени // Вестн. хир. – 2006; 5: 50-55.
- [5] Михайлов А.П., Трунин Е.М., Рыбакова А.А., Данилов А.М., Напалков А.Н. Особенности оказания медицинской помощи на догоспитальном этапе при сочетанных ранениях шеи // Скорая медицинская помощь. – 2008; 1: 46-49.
- [6] Осадчий А.А., Михайлов А.П., Данилов А.М., Земляной В.П., Сигуа Б.В. Хирургическая тактика при сочетанных ранениях шеи и груди в условиях многопрофильного стационара // Вестник Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования. – 2011; 2: 20-25.
- [7] Трунин Е.М., Михайлов А.П. Лечение ранений и повреждений шеи. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2004; 158.
- [8] Back M.R., Baumgartner F.J., Klein S.R. Detection and evaluation of aerodigestive tract injuries caused by cervical and transmediastinal gunshot wounds // J Trauma. – 1997; 4: 680-686.
- [9] Bladergroen M.R., Lowe J.E., Postlethwait M.D. Diagnosis and recommended management of esophageal perforation or rupture // Ann Thorac Surg. – 1986; 42: 235-239.
- [10] Jason Pasley, Regan J. Berg, Kenji Inaba. Multidetector Computed Tomographic Angiography (MDCTA) for Penetrating Neck Injuries // Rambam Maimonides Med T 2012; 3: 1016-1023.
- [11] Hollier L.H. Jr, Sharabi S.E., Koshy J.C., Stal S. Facial trauma: general principles of management // J Craniofac Surg. – 2010 Jul; 21(4): 1051-3.
- [12] Kampshoff J.L., Cogbill T.H., Mathiason M.A., Kallies K.J., Martin L.T. Cranial nerve injuries are associated with specific craniofacial fractures after blunt trauma // Am Surg. – 2010 Nov; 76(11): 1223-7.
- [13] Offiah C., Hall E. Imaging assessment of penetrating injury of the neck and face // Insights imaging. – 2012; 3: 419-431.

REFERENCES

- [1] Abakumov M.M. Mnozhestvennye i sochetannye ranenija shei, grudi, zhivota. M.: Binom, 2013; 688.
- [2] Burenkov G.I. Hirurgicheskaja obrabotka ognestrel'nyh ran shei // Vestn. otorinolar. 2011; 3: 20-23.
- [3] Bykov V.P., Kalinin M.A., Sobinin O.V., Fedoseev V.F. Flegmony shei i torakal'nye infekcionnye oslozhnenija // Ros. Otorinolar. 2011; 2: 54-61.
- [4] Zavrazhnov A.A., Samohvalov I.M., Eroshenko A.V. Hirurgicheskaja taktika pri ranenijah shei v uslovijah lechebnogo uchrezhdenija mirnogo vremeni // Vestn. hir. 2006; 5: 50-55.

- [5] Mihajlov A.P., Trunin E.M., Rybakova A.A., Danilov A.M., Napalkov A.N. Osobennosti okazaniya medicinskoj pomoshhi na dogospital'nom jetape pri sochetannyh ranenijah shei // Skoraja medicinskaja pomoshh'. 2008; 1: 46-49.
- [6] Osadchij A.A., Mihajlov A.P., Danilov A.M., Zemljanoj V.P., Sigua B.V. Hirurgicheskaja taktika pri sochetannyh ranenijah shei i grudi v uslovijah mnogoprofil'nogo stacionara // Vestnik Sankt-Peterburgskoj medicinskoj akademii posle diplomnogo obrazovaniya. 2011; 2: 20-25.
- [7] Trunin E.M., Mihajlov A.P. Lechenie ranenij i povrezhdenij shei. SPb.: JeLBI-SPb, 2004; 158.
- [8] Back M.R., Baumgartner F.J., Klein S.R. Detection and evaluation of aerodigestive tract injuries caused by cervical and transmediastinal gunshot wounds // J Trauma 1997; 4: 680-686.
- [9] Bladergroen M.R., Lowe J.E., Postlethwait M.D. Diagnosis and recommended management of esophageal perforation or rupture // Ann Thorac Surg. 1986; 42: 235-239.
- [10] Jason Pasley, Regan J. Berg, Kenji Inaba. Multidetector Computed Tomographic Angiography (MDCTA) for Penetrating Neck Injuries // Rambam Maimonides Med T. 2012; 3: 1016-1023.
- [11] Hollier L.H. Jr, Sharabi S.E., Koshy J.C., Stal S. Facial trauma: general principles of management // J Craniofac Surg. 2010 Jul; 21(4): 1051-3.
- [12] Kampshoff J.L., Cogbill T.H., Mathiason M.A., Kallies K.J., Martin L.T. Cranial nerve injuries are associated with specific craniofacial fractures after blunt trauma // Am Surg. 2010 Nov; 76(11):1223-7.
- [13] Offiah C., Hall E. Imaging assessment of penetrating injury of the neck and face // Insights imaging. 2012; 3: 419-431.

В. В. Бойко, М. Ю. Сизый, В. В. Макаров, А. Н. Шевченко, В. Н. Лыхман, А. С. Олефир

Харьков ұлттық медициналық университеті, Украина,
ГУ Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева НАМНУ, Харьков, Украина

**МОЙЫН ЖАРАҚАТЫМЕН ЗАРДАП ШЕККЕНДЕРГЕ АРНАЛҒАН
ДИАГНОСТИКАЛЫҚ ӘДІСТЕР ЖӘНЕ ХИРУРГИЯЛЫҚ ТӘСІЛДЕРГЕ ТАЛДАУ ЖАСАУ**

Аннотация. Мойын жарақатына қатысты 129 оқыс оқиғалардың диагностика нәтижелері мен емдеудің түрлеріне талдау жасалды. Жарақат алғандардың жас мөлшері 18-65 аралығын қамтыды. Бірнеше жарақат алғандардың үлесі көбірек – 71(55 %) болса, ал 51 жағдайда бір рет зақымдану фактілері орын алды (44,9 %). Ретроспективті талдаудың нәтижесінде жарақат алғандардың 44,9 %-да диагностикалық қателіктер орын алған. Негізінен диагностикалық олқылықтар 26,3 % пациенттерде күрделі және қайғылы оқиғаларға алып келетін ішкі ағзалардың зақымдануымен байланысты болған.

Түйін сөздер: мойын жарақаты, диагностика, хирургиялық емдеу.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 103 – 111

B. G. Yeszhan^{1,2}, Z. S. Orynbayeva², S. T. Tuleukhanov¹¹Department of Biophysics and Biomedicine, Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan,²Department of Surgery, Drexel University College of Medicine, Philadelphia, USA.

E-mail: banu.23@mail.ru

**COMPARATIVE FEATURES BETWEEN FIBROCYSTIC DISEASE
AND BREAST CANCER**

Abstract. This article describes the comparative features between fibrocystic mastopathy and breast cancer. According to the literature the meeting materials confirm that the occurrence of breast cancer in fibrocystic disease of the body. Features of fibrocystic breast disease is: impaired hormonal balance, impaired function, the nodal shape can stimulate breast cancer. Characteristics of breast cancer is: a mutational change in the genes BRCA-1 or BRCA-2, radiation, age limits, not adherence to a healthy lifestyle a high mortality rate, etc.

Key words: breast cancer, fibrocystic breast disease, danazol, endometriosis.

ӘОЖ 591.874:616.018

Б. Ғ. Есжан^{1,2}, З. С. Орынбаева², С. Т. Төлеуханов¹¹Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан,²Дрексел университеті, АҚШ, Филадельфия**СҮТ БЕЗІНІҢ ҚАТЕРЛІ ІСІГІМЕН ФИБРОЗДЫ-КИСТОЗДЫ
МАСТОПАТИЯНЫҢ САЛЫСТЫРМАЛЫ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ**

Аннотация. Қазіргі кездегі әлеуметтік аурулардың бірі сүт безінің қатерлі ісігінің фиброзды–кистозды мастопатия сипатынан да туындау қауіпі жоғары екені туралы айтылады. Фиброзды–кистозды мастопатия (ФКМ) патофизиологиясы ерекшеліктеріне: гормональды тепе-теңдіктің бұзылуы, жұмысқа қабілеттіліктің төмендеуі, сұйықтыққа толы қалтаның (киста) пайда болуы, жас ерекшеліктерін талғамайтындығы, қатерлі ісікке алмасуы жатады. Сүт безінің қатерлі ісігі ауруының ерекшеліктеріне: BRCA-1 немесе BRCA-2 гендерінің мутациялық өзгерістері, радиациялық сәулелену салдары, жастың ұлғаю ерекшеліктері, салауатты өмір салтының сақталмауы т.б.

Түйін сөздер: сүт безі, қатерлі ісік, фиброз-кистозды мастопатия, даназол, эндометриоз.

Кіріспе. Ғылыми-техникалық прогрестің қарқынды дамуы адамзат тіршілік әрекетіндегі көптеген мәселелерді шешіп беруімен қатар ағза жүйелерінің физиологиялық механизмдеріне де айтарлықтай өз әсерін тигізіп жатқанын көреміз. Ғасыр обыры болып отырған қатерлі ісік ауруларының өзі бір мәселе болып отырған тұста, этиологиясы мен даму деңгейі әртүрлі аллергиялық, сондай-ақ көптеген ауру түрлерінің де қарқын алуы ойландыратын жайттардың бірі болып отырғаны сөзсіз [1].

Қандай ауру түрі болмасын этиологиясы, ремиссиялық механизмдері, препараттардың әсер етуі және ағзадан шығарылу процестері барлығы клеткалық метаболизм деңгейінде терең зерттеуді талап етеді. Клеткалық, субклеткалық механизмдерін меңгеру арқылы ағза мүшелеріндегі, жүйелеріндегі өзгерістердің бағытының алдын алуға мүмкіндік береді [2].

Фиброзды-кистозды мастопатия – ісік ауруларының бір түрі. Әдебиеттерге шолу жасай отырып әйел адамдардағы сүт безінің қабыну процестері барысында туындайтын аурулардың ішінде жиі кездесетін мастопатияны қарастыруымыздың басты себептерінің бірі, аурудың баяу дамиды үдерісімен қатар әйел адамдардың қауіптілігін ысырып қойып назардан тыс қалдырып, патологияның асқыну салдарынан қатерлі ісік сипатына айналуына дейін жеткізіп алуына да тікелей байланысты.

Жалпы сүт безінің дисгормональды дисплазиясының көптеген анықтамалары бар. Оларға: мастопатия, фиброзды-кистозды ауруы, фиброаденоматоз, масталгия, мезоплазия, созылмалы кистозды мастит, Шиммельбуш, Минц және Реклю аурулары т.б.

Мастопатия грек тілінен аударғанда *mastos* – емшек – ішкі секреция бездері бөлетін гормондар қызметінің бұзылуынан сүт бездерінде (емшекте) әртүрлі түйіндердің пайда болуы [3, 4]. Мастопатия кезінде сүт безінің ісініп, қатты ауырсынулары мен қатар бездің алғашқы кезде ісініп, кейіннен оның үстіңгі жақ бөлігінде көлемі мен мөлшері әртүрлі ұсақ бұршақ тәрізді түйіршіктер мен түйіндер пайда болғаны байқалады. Мұндай түйіршіктер мен түйіндерді қолмен басқанда көбіне ауырады. Мастопатия әсіресе, етеккір келердің алдында не келген кезде қатты сыздап ауырып, түйіндердің ұлғаюы мүмкін. Бұл кезде емшек ұшынан су сияқты кейде қызыл-қоңыр, қоймалжың сұйықтық бөлінеді. Сұйықтықтың мөлшері, түсі, т.б. дерттің сүт жолдарында орналасқан жеріне, қуыстың тарылу мөлшеріне тығыз байланысты. Мастопатия негізінен жыныс жүйесінің қабынуларымен тығыз байланысты. Кейбір деректерде аталған аурудың аса қауіпті емес екені дегенмен, кей жағдайларда қатерлі ісікке ауысып кетуі мүмкін деп те айтылады.

Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымы мастопатияның эпителиальды және дәнекер – ұлпалы құрылымының бұзылумен сүт безі ұлпаларындағы пролиферативті және регрессивті өзгерістеріне сәйкес фиброзды – кистозды ауру деген атауды ұсынды [5-7].

Сипатына қарай қатерсіз ісіктер тобына жатқанымен фиброзды-кистозды мастопатияны ісік ауруларының түріне жатқызады.

Әдеби деректердегі және зерттеу материалдарына сәйкес мастопатиямен ауыратын әйел адамдардың көпшілігі 3–4 есе сүт безінің қатерлі ісігіне шалдықса, ал сүт безінің пролиферативті-эпителиальды өзгерістері кезінде бұл жиілік 30–40 есеге дейін жоғарылайды екен. Дегенмен де қазіргі күнге дейін мастопатия мен қатерлі ісік аурулары кезінде қолданылатын нақты онкомаркерлер жоқтың қасы десек те болады.

Статистикалық мәліметтерге шолу жасайтын болсақ, ТМД бойынша сүт безінің қатерлі ісігі салдарынан 50 мың-ға жуығы тіркелсе, 23 мыңға жуық жандар обырдың осы түрінен көз жұмады екен [8-10].

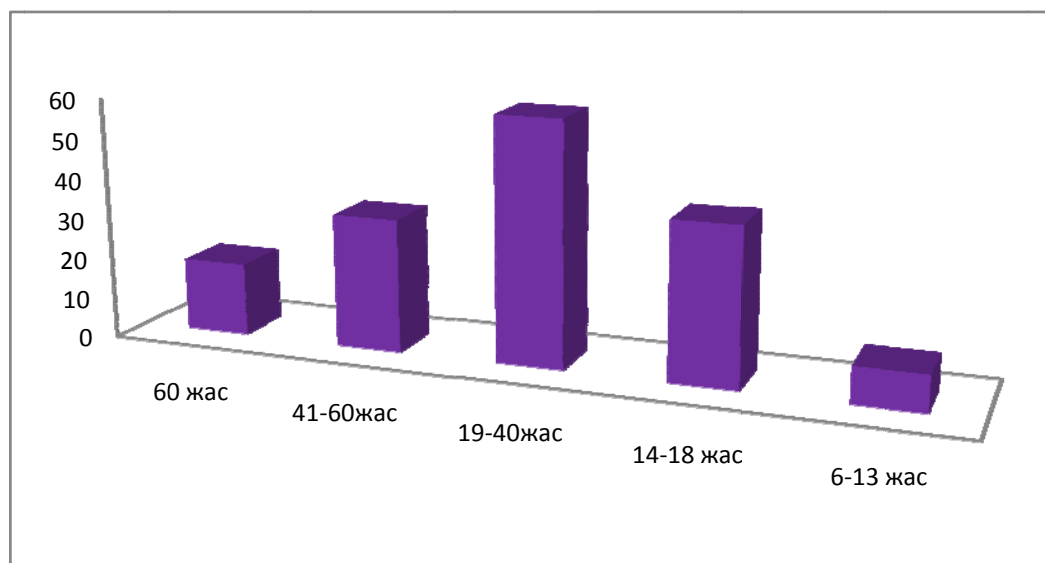
Осы қатерлі ісікке алмасу қауіпі назарды аудартып отырған фиброзды-кистозды мастопатия сырқатының әйел адамдардағы кездесу жиілігі де жас кезеңдеріне байланысты ерекшеліктерге ие екенін төмендегі суреттен көреміз (сурет).

Сондықтан, мастопатияның түрлерінің алдын алу және емдеу барысында әйел адамдардың онкопатологиясының да алдын алу мүмкіндігі жоғары болып табылады. Сүт безінің қатерсіз ісіктерін жіктелуіне қарай мынадай топтарға бөлеміз: - мастопатия - сүт бездерінің дисгормональды аурулары; майлы некроз - әртүрлі жарақаттардың әсерінен май ұлпаларының некроз ошағының пайда болуы; мастит - сүт безінің қабынуы; олеогранулема - сүт безіндегі бөгде заттың пайда болуынан туындайтын қабыну ісігі.

Өз кезегінде сүт безінің қабыну процестері барысында туындайтын ісіктерді де жекелей қарастыратын болсақ: - сүт безінің липомасы - май ұлпасының қатерсіз ісігі; фиброаденома - сүт безі ұлпаларының қатерсіз ісігі; цистоаденопапиллома-сүт безінің өзектерінде пайда болатын қатерсіз ісіктер.

Фиброзды-кистозды мастопатияға ұшыраған науқастар санының артуына байланысты клиникалық зерттеулермен қатар әртүрлі ғылыми – зерттеу жұмыстары көптеп жүргізіле бастады және әлі де жалғасуда. Осы мақсаттар барысында синтетикалық және табиғи емдік заттар түрлері көптеп ұсынылуда. Дегенмен бірде бірі осы уақытта нақты емдік нәтиже бермей отыр [11-13].

Ауру сипатының күрделілігімен қатар аурудың пайда болуы да жас талғамайтын сипатқа ие екені анықталған. Әйел адамдардағы кистозды мастопатияның сүт безінің қатерлі ісігіне алмасу қауіпі жоғары болып отыр. Көптеген зерттеулерде аталған мәселені жан-жақты қарап, зерттеп,



Фиброзды-кистозды мастопатияның (ФКМ) жас ерекшеліктеріне қарай кездесу жиілігі сипаттамалары

талқылауға салуда. Фиброзды кистозды мастопатияның туындау жиілігі 30 жастан асқан соң жоғарылайтыны туралы статистикалық мәліметтер бар [14, 15].

Фиброзды-кистозды мастопатияның этиопатогенетикалық механизмдерінің көптүрлілігін және олардың метаболизм процесстерінің дамуына да деңгейлі әсер ететінін ескере отырып, мастопатияны емдеу кезеңдері де бірнеше құрылымды болатыны сөзсіз. Клетка метаболизміне жан-жақты әсері мен гормональды статусын ескере отырып табиғи факторға сәйкес келетін ем жүргізілуі ғана жақсы нәтиже беретіні ұйғарылған [13]. Дегенмен де аталған сырқаттың кейбір дерек көздерде жасөспірім қыз балалар мен, жастар арасында да пайда болу қауіпінің жоғары мәліметтері анықталған.

Сондықтан да сүт безінің қатерлі ісігінің алғы шарттары аталған сырқаттың асқинуларынан пайда болуы да мүмкін деген болжамдар көптеп кездеседі [16-18].

Фиброзды кистозды мастопатия әйел адамдардағы сүт безінің түйін түрінде түзілістермен ерекшеленетін қатерсіз фиброзды-кистозды өзгерісі.

Жағымсыз жайлар тудыру сипатымен аурудың әсерінен кеуде тұсында ауырсынулар туындауы аурудың басты сипаттарының бірі. Ағзаның білгілі бір физиологиялық алмасу кезеңдерінде ғана айқындалатын және ауырсыну жағдайлары басым болатын бұл патологиялық күй қатерлі ісікке алмасуы күрделі болып табылады [19, 20].

Фиброзды-кистозды мастопатияның туындау себептері неге байланысты деген сауал төңірегінде назар аударатын болсақ, кеудедегі түйіндер себептерінің басты сипаты аналық жұмыртқа клеткаларындағы гормондық өзгерістерден болып табылады. Осы гормондар әсеріне байланысты түйіндердің пайда болып, ісіну туындауы айқындалады. Ауырсыну сезімінің басты байқалатын кезеңдері көп жағдайда менструациялық циклдің басталу кезеңдерімен тұспа-тұс келеді. Осы мерзімдерде киста әсерінен туындағын түйіндердің саны немесе тығыздығы бірден байқалады [21-23].

Аурудың асқину деңгейлерін анықтау және алдын алу барысында АҚШ-нда әйел тұрғындарының жылына екі рет маммолог маманның тексерілуінен өтуін қадағалап отырады.

Сүт безіндегі пайда болған кистаның көлемі мен қатерлі ісік ауыруына күдік болған жағдайда аспирациялық биопсия жасауды ұсынып, биоптат нәтижесіне қарай қатерлі ісік деңгейін сипаттап береді.

Ауырсынуларды бәсеңдету барысында, көп жағдайда ибупрофен жән ацетоаминофен секілді препараттарды қабылдап жатады. Фиброзды кистозды мастопатия жағдайында сонымен бірге киста көлеміне қарай сұйықтықты арнайы инелермен сорғызып алып тастап, ауырсынуды бәсеңдетуге немесе гормональды препараттар тағайындалады.

Аталған аурудың адын алу барысында кофеин құрамдас сусындарды, майлы және алмастырылмайтын май қышқылдарын қабылдауды шектеу арқылы аурудың алдын алуға болады деген қате түсінік те бар [24, 25].

Қатерлі ісік бар екенін көзбен көріп қана айтуға болмайтыны жақсы білеміз. Ал негізгі сырттай бақылауға болатын мәселелерге қатты ауырсыну сезімі мен қатар, сүт безі маңының терісінің қатпарлануы, ондағы түйіндер санының көбеюі, іріңді, кейде қан аралас сұйықтықтың бөлінуі.

Сүт безінің кистозды сырқаты кезіндегі асқынулар салдары қатерлі ісікке алып келіп соғуы мүмкін деген болжамды анықтау барысында жүргізілген тәжірибелер барысында британ және венгер әйелдеріне зерттеулер кистадан алынған сұйықтықтарды эстроген позитивті және MCF-7 MDA-MB-231 (ER-) сүт безінің қатерлі ісігі клеткаларымен (ЭР) зерттеулер жүргізілген [26, 27]. Нәтижелерді анықтауға радиометрлік әдістер қолданылды.

Аталған патологияға ем қолданудағы күрделі мәселелер негізі-кешенді терапия барысында ағзаның детоксикациясы ескерілуі керек. Яғни, бұл дегеніміз әртүрлі улы заттардың химиялық және биологиялық әдістермен жою немесе заласыздандыру [28].

Біржағынан әртүрлі экологиялық факторлардан туындаған, екінші жағынан гормональды тепе-теңдіктің ұзақ бұзылыстарынан кейін туындаған эндоинтоксикация осы патологияның негізгі этиогенетикалық факторы болып есептелінеді. Фиброзды-кистозды мастопатия кезіндегі ауырсыну бір безден екінші безге беріле отырып мазалайды. Сырқаттың ауырсыну градиенттері бойынша сипаттама берер болсақ, нәзік жандылардың аурудың бастапқы кезеңдерінде мән бермеуінің салдарынан қалыпты тіршілік-әрекетін жалғасыра бергенімен бірте-бірте клеткалық деңгейдегі үдерістердің бұзылу себептерінен ауырсыну белгілері белең ала бастайды. Осы сипаттарға қосымша сүт безінің ауырсынулары ондағы түзілген сұйықтыққа толы кистаның көлемінің өзгерісіне байланысты менструальды циклдың уақыты кезінде, болмаса басқа да өткір және созылмалы сырқаттармен қатар жүре отырып белсенділік танытып, жұмысқа жарамсыздыққа әкеп соғады. Себебі зақымдалулар терең ұлпалар мен лимфа түйіндеріндегі күрделі бұзылыстар нәтижесінде жүреді. Сонымен қатар өлім дағдайларына дейін әкелетіні туралы мәліметтер тіркелген [29-31].

ФКМ сырқатының ауырсыну градиенттер сипатына қарай: **0** - қалыпты іс-әрекет; **1** - ауырсыну белгілері; **2** - 50 % жұмысқа жарамсыздық; **3** - мүгедектік күрделі формалары; **4** - қозғалыстың шектелуі; **5** - өлім жағдайы деп жіктеледі. Бастапқы деңгейі (0- деңгейі) қалыпты іс-әрекетті сипаттайды. Ауырсыну градиенті немесе мөлшерінің 1-ші деңгейі дегеніміз ауырсынулар байқалғанымен ағзаның жүйе мүшелерінде айтарлықтай өзгерістер туындамайды. Ал 2-ші градиент жағдайы кеуде бөліміндегі ауырсынулар әсерінен қалыпты тіршілік әрекетіне араласа алмау немесе жұмысқа жарамсыздықтың төмендеуі байқалады. 3- градиент деңгейі мүгедектік формаларымен сипатталады. Төсек тартып жатып қалу, сүт бездеріндегі киста көлеміне және сұйықтық қысымына қарай қозғалыстың тежелуі. 4-ші бөлігі қозғалыс қана шектелмей өзге де ағзаның жүйелеріндегі патологиялық өзгерістердің белең алуы, қан құрамы мен қысымының өзгеруі, науқастың жай күйінің нашарлауы. Соңғы деңгей -жағдай өлім жағдайы.

Жалпы адамдардағы денсаулыққа деген немқұрайлылық немесе енжарлықтан болар, көптеген ауру түрлерінде сырқаттың асқынған жағдайында ғана дәрігерге қаралуға бел байлап жатады. Жоғарыда айтып кеткен сырқаттың денсаулық күйіне тигізетін ауырлық деңгейлерінің саралануы барысында байқағанымыз, сүт безінің сырқаттарын көп жағдайда нәзік жандылар емделу шегінен өтіп кеткенінде ғана ем іздеп жанталасатыны жасырын емес. Жалпы аурудың қай түрі болса да жақсы емес, дегенмен де қатерлі ісік ауруларының баяу, еш белгісіз, ауырсынусыз басталатынын білетін жандар арнайы дәрігерлік скринингтерден өтуді әдетке айналдыруы тиіс.

ФКМ қатерлі ісікетен негізгі айырмашылықтарының бірі киста көлемінің өте баяу өсуі. Ағзадағы гормональды өзгерістердің тербелісіне байланысты ауырсыну кезеңдері де алмасып отырады [32, 33]. Ал қатерлі ісік клеткаларына тән негізгі ерекшеліктердің бірі клетка мөлшерінің тез өсу мен метастаздық қасиетінің тым белсенді екенін білеміз. Сонымен қатар ФКМ киста көлемі секілді шектеулі қалтамен қоршалмағандықтан, тез жайылып, жақын жатқан ұлпаларға, қан тамырларына және лимфа түйіндеріне таралуы әбден мүмкін. Сүт безінің қатерлі ісігі кезіндегі сыртқы сипатына суреттеме беретін болсақ, көлемінің тім кішірейіп кеткенін немесе шектен тыс ұлғайып кеткенін байқауға болады [34].

Ал фиброзды-кистозды мастопатия кезінде бұл сипаттар түйін саны мен қатылығы және ауруттық белгілерімен анықталады. УДЗ зерттеулер арқылы ғана маммографиялық кескін мен биопсиялық материалдан соң ғана ондағы түйінің көлемі мен тығыздығының мөлшерін нақты анықтауға болады [35].

Сонымен, сүт безінің құрылымы мен клеталық деңгейдегі зақымдануларынан туындайтын патологиялық аурулар аталған мүшенің қатерлі ісік түрлерімен салыстырғанда қатерсіз ісік түрінде өте жиі кездеседі. Науқастарға маммография, ультра дыбысты зерттеу, кеуде бөлімінің магнитті резонансты томографиясы, пункциялық биопсиялар түрлерін қолдана отырып сүт безінің қатерсіз ісігін анықтап, хирургиялық тәсілдер қолданбай-ақ емдеу жолдары ұсынылады [36].

Аталған сырқаттың қатерлі ісік түрлері әйел адамдар өмірінің екінші онжылдық кезеңдерінен басталып, төртінші және бесінші он жылдық кездерінде яғни менапаузальдық кезеңдерде қарқынды дамидыны зерттелінген [37, 38].

Мақала тақырыбына өзек болып отырған сүт безінің фиброзды кистозды түрінің қатерлі ісікке алмасу қауіпі бар болғандықтан аталған аурулардың кездесу жиілігі, емдеу жолдары, әйел адамдар өміріне қауіптілігі жақтарынан әдеби деректерге, ғылыми мақалаларға сілтеме жасай отырып сипаттама беруге тырыстық.

Сүт безінің қатерлі ісігінің туындау деңгейлері. Қатерлі ісік ауруларының қазіргі кезде ға-сыр дертіне айналып отырғаны даусыз. Әлемнің дәрігерлері мен ғалымдарының назарын аударып отырған бұл сырқаттың алдын алу мен емдеу жолдары бағытында қаншама еңбектер жасалынып, ғылыми-зерттеу жұмыстары жан-жақты жүргізілуде. Емдік нәтижелерінің жан-жақтылығы, сырқаттың клеткалық деңгейінен басталып, дәрілік препараттарды толыққанды жүйелі қолдана отырып, сырқаттың адам ағзасының өзге жүйелері мен мүшелеріне зақымын тигізбеу мақсатында мүшені хирургиялық ота жасау арқылы алып тастау жолдарына дейін қарастырылуда.

Сүт безінің рагы немесе қатерлі ісігі басқа да қатерлі құрылымды ісіктер секілді ағзада қалыптасады. Бір немесе бірнеше майлы ұлпалардың мутациялық өзгерістерінің нәтижесінде жылдам көбеюінен ісіктер пайда болды. Өз кезегінде ол ісіктер жақын жатқан ұлпаларға көшіп немесе метастаздық қабілетінің нәтижесінде ісіктің ошақтарына айналады [2, 12, 39].

Көп жағдайда сүт безінің қатерлі ісіктері сүт безінің сүт жолы немесе өзектеріне туындайтындықтың онколог дәрігерлер өзекті карцинома деп те атайды. Көп жағдайда қатерлі өсінділер сүт безінің түйіндерінен туындайтындықтан қатерлі ісіктердің мұндай сипатпен кездесуін лобулярлы карцинома деп атайды. Дегенмен де қатерлі ісіктің өсінділері май ұлпаларының басқа да ұлпаларынан дамидынында ескеруіміз жөн.

Сүт безінің қатерлі ісігінің нақты даму этиологиясы туралы ақпарат жоқтың қасы. Сондықтан да туындауға себеп болатын факторларды атап кетер болсақ: жас ұлғаюы, гормональды препараттарды ретсіз қолдану, сүт безінің жарақаттары, радиациялық сәулелер әсері, менструалды циклдың ерте басталуы бедеулік, шылым және алкогольді ішімдіктер пайдалану, қант диабеті, анасы немесе әпке-сіңілілілерінде қатерлі ісіктің болуы, туыстарының бірінде сүт безі немесе жұмыртқалық бездеріндегі қатерлі ісіктің болуы, BRCA-1немесе BRCA-2 гендерінде мутациялық өзгерістердің туындауы, сүт безіндегі қатерсіз түзінділердің болуы (мастопатия), т.б.

Әдебиеттерде сүт безінің қатерлі ісігінің дамуына себепші негізгі факторлардың біріне жас кезеңдерінің ұлғаюын атап көрсетеді. Сандық мәліметтерге қарайтын болсақ, 40 жастан асқан әйелдерде 0,5 %-ы яғни 231 әйелдің бірі қатерлі ісікке душар болса, 40-60 жас аралығындағы әйелдердің 4 %-ы, яғни 25 әйелдің біреуі, ал 60-80 жас аралығында 7%-ы бұл дегеніміз 15%-ға жуығы осы жас кезеңдерінде аталған дертке шалдығады екен. 90 жасқа дейінгі өмір сүретін әйел адамдардың әрбір жетіншісі (14,3%) осы дерттен жапа шегетіні аталынып көрсетеді [40, 41].

Ал, елімізде сүт безінің қатерлі ісігі басқа ісік түрлерімен салыстырғанда 20,3 пайыздық көрсеткішпен бірінші орында тұрса, өлім жағынан екінші орынды құрайды екен. Сүт безінің қатерлі ісігі кезінде алғашқы белгілердің байқалмауы басқа да қатерлі ісіктің белгілеріне сай заңдылықтардың бірі болып келеді. Көп жағдайда алғашқы белгілері қолтық асты бөліктерде түйіндердің пайда болуы мен ауырсынулары арқылы байқала бастайды. Бұл сипаттағы бір ерекшелігі мақаланың басында сипаттама бере кеткен фиброзды-кистозды аурудағы белгілерге тән және басқа да қатерсіз өсінділер кезінде де осы ерекшеліктер байқалады [42].

Сүт безіндегі патологиялық өзгерістердің пайда болу қауіпі туындаған жағдайда үй жағдайындағы бақылау менструалды циклдың аяқталған кезінде бақылау тиімді болмақ. Ауырсыну деңгейінің артуы мен қауіп туындаған жағдайда дәрігер маммологқа көріну, қажет болған жағдайда биопсиялық материал тапсыру сырқаттың алдын алуға тиімді болмақ.

Сүт безінің қатерлі ісігінің тән сипаттарға тоқталатын болсақ: сүт безі маңындағы терінің қатаюы, сүт безі маңындағы терінің тартылуы, тері эрозиясы, терінің қызаруы, сүт безінің симметриясының өзгеруі, сүт безінде түйіннің болуы.

Сүт безінің қатерлі ісігін емдеу барысындағы жүргізілетін ем-домдар қатерлі ісіктің деңгейі немесе дәрежесіне тікелей байланысты. Химиотерапиялық ем ретінде қолданылатын препараттар қатерлі ісікке қарсы оларды жоюға бағытталған негізде болады. Химиотерапияның тиімділігі туралы сауалдарға келетін болсақ, әсерін 1-2 аптадан кейін-ақ байқауға болады. Дегенмен жүрек айнуы, қанның зақымдалуы және шаштың түсуі секілді жанама әсерлері де жоқ емес. Сүт безінің қатерлі ісігі кезінде қолданылатын химиотерапияның екі түрі болады. Олар: адьювантты және емдік химиотерапия [43, 44].

Адьювантты химиотерапияны қомыша немесе профилактикалық деп те атайды. Ол операцияға дейін де кейін де қолданылады. Бұл терапияның негізгі мақсаты, ісіктің химиялық препараттарға сезімталдылығын анықтауға негізделген. Бұл әдістің әлсіз тұстары сол ота уақытын шегеруге, ісіктің гистологиялық сипатын анықтау барысында қиыншылықтар тудыратыны және прогестерон мен тестостерон рецепторларын анықтаудағы қиындықтар тудыратындығында.

Қатерлі ісік кезіндегі қолданылатын емдік химиотерапия алыс жатқан мүшелерге метастаз берген кезде қолданылады. Ал индукциялы химиотерапия сүт безіндегі жергілікті ісік көлемінің мөлшерін азайтуға, ота жасауға кеңінен қолданылатын шараның бір түрі [45, 46].

Ал фиброзды-кистозды мастопатия кезінде көп жағдайда гормональды препараттармен емдеу бағытталған. Сонымен қатар емдеу барысында кеңінен қолданылған препараттардың бірі Даназол препараты. Емдік әсерінің нәтижелілігін ұзақ уақыт пайдаланғаннан кейін ғана көруге болатын бұл дәрілік заттың жанама әсеріне байланысты, фиброзды мастопатиядан зардап шегушілердің көпшілігі қолданудан бас тартқан. Ұзақ қолданыстан соң дауыс ырғақтарының жуандауы және ер адамдарға тән мұрттың қалындауы (маскулинизация) секілді өзгерістер нәтижесінен соң қабылдауды тоқтатқаны туралы да деректер жиі кездеседі.

Қорытынды. Әйел адамдардағы сүт безінің сырқаттарының ағза жүйелерінің қызметінің төмендеуіне әкеліп қана қоймай өміріне қауіп төндіретіні де толығымен ғылыми негіздемелерге сүйене отырып түсіндіріледі. Көп жағдайда сүт безінің фиброзды-кистозды мастопатиясы кезіндегі сырқаттық сипатқа қарамастан назар аудармау, ғасыр дерті болып отырған қатерлі ісікке әкелетіні анықталып отыр.

Ағза мүшелері мен жүйелерінің құрылымының физиологиялық жұмысының бұзылуына әкелетін негізгі факторларға сыртқы орта стресстік жағдайларымен қатар, дұрыс тамақтанбау, ұйқының ретсіздігі, салауатты өмір салтын сақтамау т.б. да жағдайлар тікелей әсер ететін ескерсек, уақытында дәрігерлік тексерулерде өту де қатерлі ісік ауруларының алдын алуға мүмкіндік береді.

ӘДЕБИЕТ

- [1] Нургазиев К.Ш., Талаева Ш.Ж. и др. Периодические протоколы диагностики и лечения злокачественных заболеваний. Злокачественные новообразования молочной железы. – Алматы, 2012. – С. 258-274.
- [2] Чичуа Н.А., Есентаева С.Е., Смагулова К.К. Метрoномная химиотерапия при резистентных формах рака молочной железы // Фармация Казахстана. – 2007. – N 11. – С. 44-46.
- [3] Есентаева С.Е. Опыт применения таргетного препарата герцептин в Казахском НИИ онкологии и радиологии // Медицина. – 2009. – № 10. – С. 25-28.
- [4] Ismailova G., Rahimzhanova R. Screening for early lung cancer detection with the low-dose computer tomography // J Clin Med Kaz. – 2014; 2(32): 21-25.
- [5] Есентаева С.Е. Терапевтический эффект еженедельного режима "Паклитаксел+карбоплатин" у больных с "тройным негативным" метастатическим раком молочной железы // Медицина. – 2010. – № 2. – С. 41-43.
- [6] Tit Albrecht, Josep Borrás, Fiona Conroy, Miriam Dalmas et al. European Guide for Quality National Cancer Control Programmes. – 2014. – 89 p. – <http://www.epraac.eu/images/WP>.
- [7] Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2008 г. / Под ред. М. И. Давыдова и Е. М. Аксель // Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. – 2010. – Т. 21. – 158 с.
- [8] Злокачественные новообразования в России в 2007 г. (Заболеваемость и смертность) / Ред. В. И. Чиссов, В. В. Старинский, Г. В. Петрова. – М., 2009. – 252 с.
- [9] Нургазиев К.Ш. Сейтказина Г.Д., Бапеисов Д.М. и соавт. Показатели онкологической службы Республики Казахстан за 2012 год. (Статистические материалы). – Алматы, 2012. – 108 с.
- [10] Семиглазов В.Ф. Стратегические и практические подходы к решению проблемы рака молочной железы // Вопросы онкологии. – 2012. – Т. 58, № 2. – С. 148-152.

- [11] Warner E., Messersmith H., Causer P., Eisen A., Shumak R., Plewes D. Magnetic Resonance Imaging Screening of Women at High Risk for Breast Cancer Toronto (ON): A Quality Initiative of the Program in Evidence – Based Care (PEBC). Cancer Care Ontario (CCO), 2013, Evidence – based Series 15–11. – Version 2.
- [12] Остапенко В., Остапенко А. Значение и особенности оперативного лечения местнораспространенного рака молочной железы // Вопросы онкологии. – 2011. – Т. 57, № 5. – С. 578-583.
- [13] Семиглазов В.Ф. Стратегия лечения рака молочной железы, основанная на выделении биологических подтипов // Вопросы онкологии. – 2011. – Т. 57, № 5. – С. 542-552.
- [14] Семиглазов В.Ф., Семиглазов В.В., Клетсель А.Е. Неоадьювантная химиотерапия рака молочной железы // Материалы II международной ежегодной конференции: Проблемы диагностики и лечения рака молочной железы. – СПб., 2005. – С. 78-84.
- [15] Gradishar W.J. Emerging approaches for treating HER2-positive metastatic breast cancer beyond trastuzumab // Annals of Oncology. – 2013. – N 24. – P. 2492-2500.
- [16] Портной С.М. Местнораспространенный рак молочной железы (тактика лечения) // Вопросы онкологии. – 2011. – Т. 57, № 5. – С. 553-558.
- [17] Семиглазов В.В., Донских Р.В., Семиглазова Т.Ю. и др. Таксотер в неоадьювантном лечении рака молочной железы // Вопросы онкологии. – 2011. – Т. 57, № 4. – С. 645-650.
- [18] Swain S.M., Baselga J., Miles D. et al. Incidence of central nervous system metastases in patients with HER2-positivemetastatic breast cancer treated with pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel: results from the randomized phase III studyCLEOPATRA, Annals of Oncology, 2014, Advance Access published March 31.
- [19] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: meta-analysis of individual patient data for 10,801 women in 17 randomized trials, Lancet. – 2011. – N 378. – P. 1707-1716.
- [20] Божок А.А., Семиглазов В.Ф., Семиглазов В.В. и др. Факторы прогноза при раке молочной железы // Современная онкология. – 2005. – № 1. – С. 4-9.
- [21] Антипов М.С., Костенко Т.И. Фиброзно-кистозная мастопатия // Журнал практич. врача акуш.-гин. – 2003. – № 1. – С. 3-6.
- [22] Беспалов В.Г. Мастопатия и лекарственный препарат мамоклам: Методическое пособие для врачей. – СПб.: Издательство «Игра света», 2008. – 68 с.
- [23] Злокачественные новообразования в России в 2006 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. В. И. Чиссова, В. В. Старинского, Г. В. Петровой. – М.: ФГУ «МНИОИ им. П. А. Герцена Росмедтехнологий», 2008. – 248 с.
- [24] Зотов А.С., Велик Е.О. Мастопатии и рак молочной железы. – М.: МЕДпресс-информ, 2005. – 112 с.
- [25] Huang H., Zheng Y., Zhu J., Zhang J., Chen H., Chen X. An Updated Meta-Analysis of Fatal Adverse Events Caused by Bevacizumab Therapy in Cancer Patients PLoS ON. 2014. N 9. Issue 3. e89960: Published March 5. 37. National Medical Policy. Adoptive Immunotherapy for Cancer. Policy Number: NMP265. Effective Date: May 2014. 38. Geller MA, Cooley S, Judson PL, Ghebre R, Carson LF, Argenta PA. et al. A phase II study of allogeneic natural killer cell therapy to treat patients with recurrent ovarian and breast cancer, Cytotherapy, 2011, No. 13(1), p. 98-107.
- [26] Ильин А.Б., Бескровный С.В. Молочная железа как орган репродуктивной системы женщины // Акуш. и жен. бол. – 2000. – № 2. – С. 51-52.
- [27] Коколина В.Ф., Фомина М.А. Заболевания молочных желез у девочек в период созревания репродуктивной системы // Рос. вестник акуш-гин. – 2006. – № 4. – С. 17-22.
- [28] Кулаков В.И., Волобуев А.И., Сеницын В.А. и др. Тактика ведения больных с сочетанными доброкачественными гиперплазиями молочных желез и женских половых органов // Маммолог. – 2005. – № 3. – С. 4-7.
- [29] Летягин В.П., Высоцкая И.В., Ким Е.А. Факторы риска развития рака молочной железы // Маммология. – 2006. – № 4. – С. 10-12.
- [30] Макаренко Н.П. Фиброзно-кистозная болезнь // Рус. мед. журнал. – 2005. – № 13. – С. 875-878.
- [31] Прилепская В.Н., Швецова О.Б. Доброкачественные заболевания молочных желез: принципы терапии // Маммолог. – 2005. – № 4. – С. 19-25.
- [32] Радгинский В.И., Ордянец И.М., Зубкин В.И., Иванова Т.Н. Лечение фиброзно-кистозной мастопатии // Фарма-тека. – 2003. – № 11. – С. 46-49.
- [33] Семиглазов В.Ф., Семиглазов В.В., Клецель А.Е. Неинвазивные и инвазивные опухоли молочной железы. – СПб., 2006. – С. 6-60.
- [34] Сидоренко Л.Н. Мастопатия. – СПб.: Гиппократ, 2007. – 432 с.
- [35] Deissler P., Kafka A., Schuster A. et al. Spectrum of p53 mutations in biopsies from breast cancer patients selected for preoperative chemotherapy analysed by the functional yeast assay to predict therapeutic response // Oncol. Rep. – 2004. – N 4. – P. 281-286.
- [36] Hsieh CY1, Chen CH. Rhabdomyolysis and pancreatitis associated with coadministration of danazol 600 mg/d and lovastatin 40 mg/d. Clin Ther. 2008 Jul;30(7):1330-5.
- [37] Mayo Clinic Staff. "Breast cysts Symptoms". MayoClinic. Archived from the original on, 2015.
- [38] Daniel J. Dronkers; J. H. C. L. Hendriks. Practice of Mammography: Pathology - Technique - Interpretation - Adjunct Modalities. Thieme. 2010. P. 130.
- [39] Daly C.P., Bailey J.E., Klein K.A., Helvie M.A. Complicated breast cysts on sonography: is aspiration necessary to exclude malignancy? // Acad Radiol. 2010, 15 (5): 610-7.
- [40] Dixon J.M., McDonald C., Elton R.A., Miller W.R. "Risk of breast cancer in women with palpable breast cysts: a prospective study. Edinburgh Breast Group // Lancet, 2011. – P. 1742-5.

- [41] Jin M., Yang F., Yang I., Yin Y., Luo J.J., Wang H., Yang X.F. Uric acid, hyperuricemia and vascular diseases // *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2012, 17: 656-669.
- [42] Long C.L., Qin X.C., Pan Z.Y., Chen K., Zhang Y.F., Cui W.Y., Liu G.S., Wang H. Activation of ATP-sensitive potassium channels protects vascular endothelial cells from hypertension and renal injury induced by hyperuricemia // *J Hypertens*. 2008. 26: 2326-2338.
- [43] Schretlen D.J., Inscore A.B., Vannorsdall T.D., Kraut M., Pearlson G.D., Gordon B., Jinnah H.A. Serum uric acid and brain ischemia in normal elderly adults // *Neurology*. – 2007. 69: 1418-1423.
- [44] B L, T W, Hn Z, Ww Y, Hp Y, Cx L, J Y, Ry J, Hw N. The prevalence of hyperuricemia in China: a meta-analysis // *BMC Public Health*. – 2011. 11: 832.

REFERENCES

- [1] Nurgaziev K.Sh., Talaeva Sh.Zh. i dr. Periodicheskie protokoly diagnostiki i lechenija zlokachestvennyh zabolovaniy. Zlokachestvennye novoobrazovaniya molochnoj zhelezy. Almaty, 2012. P. 258-274.
- [2] Chichua N.A., Esentaeva S.E., Smagulova K.K. Metronomnaja himioterapija pri rezistentnyh formah raka molochnoj zhelezy // *Farmacija Kazahstana*. 2007. N 11. P. 44-46.
- [3] Esentaeva S.E. Opyt primeneniya targetnogo preparata gerceptin v Kazahskom NII onkologii i radiologii // *Medicina*. 2009. N 10. P. 25-28.
- [4] Ismailova G., Rahimzhanova R. Screening for early lung cancer detection with the low-dose computer tomography // *J Clin Med Ka*. 2014; 2(32): 21-25.
- [5] Esentaeva S.E. Terapevticheskiy jeffekt ezhenedel'nogo rezhima "Paklitaksel+karboplatin" u bol'nyh s "trojnym negativnym" metastaticheskim rakom molochnoj zhelezy // *Medicina*. 2010. N 2. P. 41-43.
- [6] Tit Albreht, Josep Borrás, Fiona Conroy, Miriam Dalmas et al. European Guide for Quality National Cancer Control Programmes, 2014, 89 p, <http://www.epaac.eu/images/WP>
- [7] Statistika zlokachestvennyh novoobrazovaniy v Rossii i stranah SNG v 2008 g. / Pod red. M. I. Davydova i E. M. Aksel' // *Vestn. RONC im. N. N. Blohina RAMN*. 2010. Vol. 21. 158 p.
- [8] Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2007 g. (Zabolevaemost' i smertnost') / Red. V. I. Chissov, V. V. Starinskij, G. V. Petrova. M., 2009. 252 p.
- [9] Nurgaziev K.Sh. Sejtказина G.D., Bapeisov D.M. i soavt. Pokazateli onkologicheskoy sluzhby Respubliki Kazahstan za 2012 god. (Statisticheskie materialy). Almaty, 2012. 108 p.
- [10] Semiglazov V.F. Strategicheskie i prakticheskie podhody k resheniju problemy raka molochnoj zhelezy // *Voprosy onkologii*. 2012. Vol. 58, N2. P. 148-152.
- [11] Warner E., Messersmith H., Causer P., Eisen A., Shumak R., Plewes D. Magnetic Resonance Imaging Screening of Women at High Risk for Breast Cancer Toronto (ON): A Quality Initiative of the Program in Evidence – Based Care (PEBC). Cancer Care Ontario (CCO), 2013, Evidence – based Series 15–11. Version 2.
- [12] Ostapenko V., Ostapenko A. Znachenie i osobennosti operativnogo lechenija mestnorasprostranennogo raka molochnoj zhelezy // *Voprosy onkologii*. 2011. Vol. 57, N 5. P. 578-583.
- [13] Semiglazov V.F. Strategija lechenija raka molochnoj zhelezy, osnovannaja na vydelenii biologicheskikh podtipov // *Voprosy onkologii*. 2011. Vol. 57, N 5. P. 542-552.
- [14] Semiglazov V.F., Semiglazov V.V., Kletsel' A.E. Neoad#juvantnaja himioterapija raka molochnoj zhelezy // *Materialy II mezhdunarodnoj ezhegodnoj konferencii: Problemy diagnostiki i lechenija raka molochnoj zhelezy*. SPb., 2005. P. 78-84.
- [15] Gradishar W.J. Emerging approaches for treating HER2-positive metastatic breast cancer beyond trastuzumab // *Annals of Oncology*. 2013. N 24. P. 2492-2500
- [16] Portnoj S.M. Mestnorasprostrannyy rak molochnoj zhelezy (taktika lechenija) // *Voprosy onkologii*. 2011. Vol. 57, N 5. P. 553-558.
- [17] Semiglazov V.V., .Donskih R.V., Semiglazova T.Ju. i dr. Taksoter v neoad#juvantnom lechenii raka molochnoj zhelezy // *Voprosy onkologii*. 2011. Vol. 57, N 4. P. 645-650.
- [18] Swain S.M., Baselga J., Miles D. et al. Incidence of central nervous system metastases in patients with HER2-positivemetastatic breast cancer treated with pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel: results from the randomized phase III study CLEOPATRA, *Annals of Oncology*, 2014, Advance Access published March 31.
- [19] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: meta-analysis of individual patient data for 10,801 women in 17 randomized trials // *Lancet*. 2011. N 378. P. 1707-1716.
- [20] Bozhok A.A., Semiglazov V.F., Semiglazov V.V. i dr. Faktory prognoza pri rake molochnoj zhelezy // *Sovremennaja onkologija*. 2005. N 1. P. 4-9.
- [21] Antipov M.S., Kostenko T.I. Fibrozno-kistochnaja mastopatiya // *Zhurnal prjektich. vracha akush.-gin*. 2003. N 1. P. 3-6.
- [22] Bepalov V.G. Mastopatiya i lekarstvennyj preparat mamoklam. Metodicheskoe posobie dlja vrachej. SPb.: Izdatel'stvo «Igra sveta», 2008. 68 p.
- [23] Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2006 godu (zabolevaemost' i smertnost') / Pod red. V. I. Chissova, V. V. Starinskogo, G. V. Petrovoj. M.: FGU «MNIOI im. P. A. Gercena Rosmedtehnologij», 2008. 248 p.
- [24] Zotov A.S., Velik E.O. Mastopagii i rak molochnoj zhelezy. M.: MEDpress-inform, 2005. 112 p.
- [25] Huang H., Zheng Y., Zhu J., Zhang J., Chen H., Chen X. An Updated Meta-Analysis of Fatal Adverse Events Caused by Bevacizumab Therapy in Cancer Patients *PLoS ON*, 2014, No. 9, Issue 3, e89960: Published March 5. 37. National Medical Policy. Adoptive Immunotherapy for Cancer. Policy Number: NMP265. Effective Date: May 2014. 38. Geller MA, Cooley S, Judson PL, Ghebre R, Carson LF, Argenta PA. et al. A phase II study of allogeneic natural killer cell therapy to treat patients with recurrent ovarian and breast cancer, *Cytotherapy*. 2011. No.13(1). P. 98-107.

- [26] Il'in A.B., Beskrovnyj S.V. Molochnaja zheleza kak organ reproduktivnoj sistemy zhenshhiny // Akush. i zhen.bol. 2000. N 2. P. 51-52.
- [27] Kokolina V.F., Fomina M.A. Zabolevanija molochnyh zhelez u devochek v peri-od sozrevanija reproduktivnoj sistemy // Ros. vestnik akush-gin. 2006. N 4. P. 17-22.
- [28] Kulakov V.I., Volobuev A.I., Sinicyn V.A. i dr. Taktika vedenija bol'nyh s sochetannymi dobrokachestvennymi giperplazijami molochnyh zhelez i zhen'skih polovyh organov // Mammolog. 2005. N 3. P. 4-7.
- [29] Letjagin V.P., Vysockaja I.V., Kim E.A. Faktory riska razvitija raka molochnoj zhelezy // Mammologija. 2006. N 4. P. 10-12.
- [30] Makarenko N.P. Fibrozno-kistoznaja bolezn' // Rus. med. zhurnal. 2005. N 13. P. 875-878.
- [31] Prilepskaja V.N., Shvecova O.B. Dobrokachestvennye zabolevanija molochnyh zhelez: principy terapii // Mammolog. 2005. N 4. P. 19-25.
- [32] Radginskij V.J., Ordijanc I.M., Zubkin V.I., Ivanova T.N. Lechenie fibrozno-kistoznoj mastopatii // Farmateka. 2003. N 11. P. 46-49.
- [33] Semiglazov V.F., Semiglazov V.V., Klecel' A.E. Neinvazivnye i invazivnye opuholi molochnoj zhelezy. SPb., 2006. P. 6-60.
- [34] Sidorenko L.N. Mastopatija. SPb.: Gippokrat, 2007. 432 p.
- [35] Deissler R., Kafka A., Schuster A. et al. Spectrum of p53 mutations in biopsies from breast cancer patients selected for preoperative chemotherapy analysed by the functional yeast assay to predict therapeutic response // Oncol. Rep. 2004. N 4. P. 281-286.
- [36] Hsieh CY1, Chen Ch. Rhabdomyolysis and pancreatitis associated with coadministration of danazol 600 mg/d and lovastatin 40 mg/d. Clin Ther. 2008 Jul;30(7): 1330-5.
- [37] Mayo Clinic Staff. "Breast cysts Symptoms". MayoClinic. Archived from the original on. 2015.
- [38] Daniel J. Dronkers; J. H. C. L. Hendriks. Practice of Mammography: Pathology - Technique - Interpretation - Adjunct Modalities. Thieme. 2010. P. 130.
- [39] Daly C.P., Bailey J.E., Klein K.A., Helvie M.A. Complicated breast cysts on sonography: is aspiration necessary to exclude malignancy? 2010. Acad Radiol. 15 (5): 610-7.
- [40] Dixon J.M., McDonald C., Elton R.A., Miller W.R. Risk of breast cancer in women with palpable breast cysts: a prospective study. Edinburgh Breast Group // Lancet. 2011. P. 1742-5.
- [41] Jin M., Yang F., Yang I., Yin Y., Luo J.J., Wang H., Yang X.F. Uric acid, hyperuricemia and vascular diseases // Front Biosci (Landmark Ed). 2012,17: 656-669.
- [42] Long C.L., Qin X.C., Pan Z.Y., Chen K., Zhang Y.F., Cui W.Y., Liu G.S., Wang H. Activation of ATP-sensitive potassium channels protects vascular endothelial cells from hypertension and renal injury induced by hyperuricemia // J Hypertens. 2008. 26: 2326-2338.
- [43] Schretlen D.J., Inscore A.B., Vannorsdall T.D., Kraut M., Pearlson G.D., Gordon B., Jinnah H.A. Serum uric acid and brain ischemia in normal elderly adults // Neurology. 2007. 69: 1418-1423.
- [44] B L, T W, Hn Z, Ww Y, Hp Y, Cx L, J Y, Ry J, Hw N. The prevalence of hyperuricemia in China: a meta-analysis // BMC Public Health, 2011. 11: 832.

Б. Г. Есжан^{1,2}, З. С. Орынбаева², С. Т. Тулеуханов¹

¹Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан,

²Университет Дрексель, Филадельфия, США

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФИБРОЗНО-КИСТОЗНОЙ БОЛЕЗНИ И РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Аннотация. Рассмотрены сравнительные особенности фиброзно-кистозной мастопатии и рака молочной железы. По литературным данным, встречаются материалы, которые подтверждают возникновение рака молочной железы при фиброзно-кистозном заболевании данного органа. Особенности фиброзно-кистозной мастопатии являются: нарушение гормонального баланса, снижение работоспособности, узловые формы могут стимулировать рак молочной железы. Особенности рака молочной железы являются: мутационные изменения в генах BRCA-1 или BRCA-2, радиационные излучения, возрастные ограничения, несоблюдение здорового образа жизни, высокая смертность и т.д.

Ключевые слова: рак молочной железы, фиброзно-кистозная мастопатия, даназол, эндометриоз.

Авторлар туралы мәлімет:

Есжан Бану Ғазизқызы – әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, PhD студент, banu.23@mail.ru.

Орынбаева Зүлфия Сейфоллақызы – PhD, профессор, Дрексел университеті, АҚШ;

Төлеуханов Сұлтан Төлеуханұлы – б.ғ.д., профессор, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 112 – 117

E. A. Oleinikova, T. V. Kuznetsova, M. G. Saubenova, A. A. Aytzhanova, M. M. Shormanova

Republican State Enterprise "Institute of Microbiology and Virology",
Committee of Science, Ministry of Education and Science, Almaty, Kazakhstan.
E-mail: physiol_lab@bk.ru

ADAPTATION OF ETHANOL PRODUCING YEAST TO INCREASED OSMOTIC PRESSURE OF THE MEDIUM

Abstract. The aim of this work is the adaptation of ethanol producing yeast *Saccharomyces cerevisiae* to increasing osmotic pressure of the medium to improve cells resistance to high concentrations of ethanol. Adaptation was performed by successive cultivation in media with increasing NaCl content of 5 to 15%. The growth activity was evaluated by the optical density of yeast suspensions for 96 hours of culturing. With increasing concentration of sodium chloride in the medium the number of actively growing variants was reduced, lag phase elongation was observed. Two variants of the 18 adapted cultures with the highest resistance to increased osmotic pressure of the medium, characterized by changes in cell permeability, were selected. These variants had a high fermentation activity when cultured in the wort with 10% (according to the volume) of ethanol in the absence of CO₂ emission by initial cultures in these conditions. Thus, alcohol yeast adaptation to elevated concentrations of sodium chloride in the medium contributes to modify their cell walls and to enhance their stability to the final product of fermentation ethanol. Using selected variants will allow intensifying the process of bioethanol production and increasing its economic efficiency by increasing the yield of the final product at the same manufacturing costs.

Keywords: yeast, bioethanol, osmotic pressure, adaptation, ethanol tolerance, fermentative activity.

УДК 579.6

Е. А. Олейникова, Т. В. Кузнецова, М. Г. Саубенова, А. А. Айтжанова, М. М. Шорманова

РГП "Институт микробиологии и вирусологии" КН МОН РК, Алматы, Казахстан

АДАПТАЦИЯ ЭТАНОЛ ПРОДУЦИРУЮЩИХ ДРОЖЖЕЙ К ПОВЫШЕННОМУ ОСМОТИЧЕСКОМУ ДАВЛЕНИЮ СРЕДЫ

Аннотация. Целью работы была адаптация спиртовых дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* к возрастающему осмотическому давлению среды для повышения устойчивости клеток к высоким концентрациям этанола. Адаптация проведена путем последовательного культивирования на средах с повышающимся содержанием NaCl от 5 до 15%. Об активности роста дрожжей судили по оптической плотности суспензий в течение 96 ч культивирования. С повышением концентрации хлорида натрия в среде количество активно растущих вариантов снижалось, отмечено удлинение лаг фазы. Из 18 адаптированных культур отобраны два варианта с наиболее высокими показателями устойчивости к повышенному осмотическому давлению среды, характеризующиеся измененной клеточной проницаемостью. Полученные варианты обладали высокой бродительной активностью при культивировании на сусле с 10% (по объему) этилового спирта при отсутствии выделения CO₂ исходными культурами в этих условиях. Таким образом, адаптация спиртовых дрожжей к повышенным концентрациям хлорида натрия в среде способствует модификации их клеточных стенок и повышению устойчивости к конечному продукту брожения этанолу. Использование отобранных вариантов позволит интенсифицировать процесс продукции биоэтанола и повысить его экономическую эффективность за счет повышения выхода конечного продукта при одинаковых производственных затратах.

Ключевые слова: дрожжи, биоэтанол, осмотическое давление, адаптация, толерантность к этанолу, бродительная активность.

Продукция биоэтанола вызывает огромный интерес в связи с потребностью в возобновляемых источниках энергии и сокращении отрицательного воздействия выхлопных газов на окружающую среду. В качестве основного возобновляемого биотоплива рассматривают биодизель и биоэтанол [1-3]. Даже довольно незначительная добавка этанола к топливу, используемому для двигателей внутреннего сгорания, существенно экономит энергоресурсы и снижает токсичность выхлопных газов. В настоящее время уже более половины мирового производства этанола используется в качестве добавки к бензину и только 15% для производства спиртных напитков [4]. При этом топливный биоэтанол имеет наибольший потенциал по сравнению с биодизелем, поскольку характеризуется неисчерпаемыми источниками получения. Ими могут быть как различные растительное сырье, так и отходы сельского хозяйства и деревообрабатывающей промышленности.

Основным направлением развития спиртовой промышленности является поиск путей снижения производственных затрат сырья и энергоресурсов. При этом одним из наиболее эффективных и не требующих капитальных затрат способов решения этой проблемы выступает использование технологии сбраживания высококонцентрированного суслу. Увеличения продуктивности в производстве этанола достигают как путем усовершенствования технологии [5-7], так и повышением эффективности микробиологического процесса. Среди технологических решений большое внимание уделяется в последние годы иммобилизации дрожжевых клеток на различных носителях [7-11], что позволяет использовать культуру продуцента биоэтанола до четырех-семи циклов.

Тем не менее, периодичность процесса спиртового брожения вызывает необходимость возобновления ферментации после накопления около 8-10% этанола из-за его высокой токсичности для дрожжей. Поэтому важнейшим аспектом интенсификации микробиологической промышленности является повышение устойчивости штамма-продуцента. Актуальна селекция штаммов спиртовых дрожжей для сбраживания высококонцентрированного суслу, устойчивых к повышенной кислотности и температуре [12-14], толерантных к этанолу [15-19]. Рассматривается также возможность подбора новых субстратов для сбраживания и использования дрожжей другой таксономической принадлежности, способных к утилизации гемицеллюлоз, пентоз и др. как отдельно, так и в смешанных культурах [20-23].

В процессе спиртового производства клетки дрожжей подвергаются воздействию гиперосмотического и этанольного стресса. Повышение концентрации этанола, как и любое другое неблагоприятное воздействие, вызывает ряд неспецифических реакций клетки на раздражение. В начале практически у всех клеток при действии повреждающих агентов наблюдается резкое увеличение проницаемости клеточных мембран для ионов с последующей активацией различных внутриклеточных систем. Затем в ответ на стресс запускаются механизмы адаптации клеток к повреждению, в частности уменьшения выраженности или устранения дисбаланса ионов и активации процессов энергетического обеспечения ионных насосов. Адаптация клеток в условиях повреждения происходит не только на метаболическом и функциональном уровнях. Длительное, повторное или значительное повреждение ведёт к существенным структурным перестройкам в клетке, имеющим адаптивное значение [24-26]. Такая адаптация к действию повреждающих факторов происходит путём стереотипных приспособительных изменений клетки или клеточной системы.

Целью настоящей работы была адаптация спиртовых дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* к возрастающей концентрации хлорида натрия в среде для повышения устойчивости клеток к воздействию конечного продукта брожения этилового спирта.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования служили 18 штаммов спиртовых дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, два из которых являются производственными штаммами, используемыми ТОО «Талгар-Спирт».

Спиртовые дрожжи выращивали на жидкой среде Ридер с постепенно повышающейся концентраций хлорида натрия от 5% до 15% (при увеличении концентрации хлорида натрия на 1%). В колбу со 100 мл среды вносили 5% чистой культуры дрожжей (10^8 КОЕ/мл). Инкубирование проводилось при температуре 30⁰С в течение 72 ч в условиях периодической культуры. Далее производили засев в среду с более высокой концентрацией NaCl. Сразу после засева и по истечении 24, 48, 72 ч отбирали пробы для определения оптической плотности (ОП) суспензии дрожжей нефелометрическим методом (при длине волны $\lambda = 540$ нм и зеленом светофилтре). Для контроля брали среду Ридер с таким же содержанием хлорида натрия, что и в опыте.

Бродильную активность отобранных и исходных вариантов исследовали в трубках Дунбара на сусле из тритикале с концентрацией сухого вещества 16,4% и pH 4,3. Культивирование производили в течение 24 ч при 28⁰С.

Эксперименты проводили в трех повторностях. Результаты исследований статистически обрабатывали по стандартной методике с использованием критерия Стьюдента. Для замеров оптической плотности уровень значимости составил $p < 0,001$, для определения бродильной активности уровень значимости составил $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение. Проведено повышение осмотолерантности спиртовых дрожжей путем их адаптации к постепенно повышающейся концентрации хлорида натрия в среде. Для отбора штаммов, обладающих модифицированной клеточной проницаемостью, определяли накопление ими биомассы через каждые 24 часа в течение 4 суток культивирования с изменением в среде концентрации хлорида натрия от 5% до 15%.

В таблице 1 представлены результаты исследования динамики роста дрожжей на среде с 5% NaCl. Из полученных данных видно, что оптическая плотность засеваемых культур была примерно одинаковой и колебалась в пределах 0,381-0,430 единиц при 0,357 ед. в контроле. Через 24 ч культивирования ОП составила 0,407-0,714 ед. Через 48 ч культивирования оптическая плотность достигала у некоторых вариантов 0,600-0,700 ед. По истечении трех-четырех суток ОП варьировала в пределах 0,507-0,796 ед. и 0,559-0,896 ед. соответственно. Наибольшие показатели оптической плотности и ее увеличения за каждые сутки культивирования выделены жирным шрифтом. Разница в длительности лаг фазы исследуемых вариантов хорошо заметна по кратности увеличения оптической плотности суспензий. У наиболее толерантных к NaCl вариантов (№№ 1, 2, 6, 7, 8, 12, 15, 16, 17) лаг фаза короче и максимальное увеличение плотности суспензий отмечено через одни сутки культивирования. У вариантов №№ 3, 4 и 5 наибольший прирост биомассы отмечен через двое суток культивирования. Увеличение прироста оптической плотности за четвертые сутки культивирования у ряда вариантов (10, 11, 15, 17, 18) по сравнению с третьими сутками связано с их адаптацией к повышенному осмотическому давлению. Тем не менее, несмотря на активизацию роста некоторых вариантов после удлиненной лаг фазы, наибольшие показатели оптической плотности при культивировании на среде с 5% NaCl выявлены через 96 ч культивирования у вариантов с короткой лаг фазой.

Таблица 1 – Динамика роста спиртовых дрожжей на среде с 5% NaCl

№	ОП, ед		24ч/0ч	ОП, ед		48ч/24ч	ОП, ед	72ч/48ч	ОП, ед	
	0 ч	24 ч		48 ч	72 ч				96 ч	96ч/72ч
1	0,381±0,002	0,541±0,005	1,42	0,690±0,002	1,28	0,747±0,004	1,08	0,896±0,003	1,2	
2	0,407±0,004	0,562±0,007	1,38	0,694±0,004	1,23	0,706±0,005	1,02	0,745±0,001	1,06	
3	0,410±0,001	0,448±0,005	1,09	0,589±0,002	1,31	0,676±0,007	1,15	0,706±0,001	1,04	
4	0,384±0,001	0,413±0,001	1,08	0,510±0,001	1,23	0,664±0,004	1,30	0,710±0,002	1,07	
5	0,387±0,002	0,439±0,004	1,13	0,651±0,001	1,48	0,702±0,003	1,08	0,739±0,007	1,05	
6	0,382±0,007	0,554±0,008	1,45	0,616±0,005	1,11	0,688±0,001	1,12	0,747±0,005	1,09	
7	0,408±0,005	0,714±0,002	1,75	0,786±0,001	1,10	0,796±0,001	1,01	0,875±0,004	1,10	
8	0,402±0,004	0,614±0,003	1,53	0,740±0,004	1,21	0,756±0,002	1,02	0,816±0,009	1,08	
9	0,404±0,003	0,407±0,004	1,01	0,484±0,003	1,19	0,507±0,005	1,05	0,548±0,004	1,08	
10	0,397±0,002	0,418±0,005	1,05	0,443±0,008	1,06	0,516±0,007	1,16	0,664±0,003	1,29	
11	0,430±0,001	0,490±0,001	1,14	0,549±0,004	1,12	0,591±0,006	1,08	0,678±0,004	1,15	
12	0,409±0,004	0,610±0,002	1,49	0,715±0,007	1,17	0,753±0,001	1,05	0,788±0,007	1,05	
13	0,409±0,002	0,501±0,002	1,22	0,520±0,006	1,04	0,542±0,003	1,04	0,583±0,007	1,08	
14	0,384±0,002	0,473±0,007	1,23	0,520±0,001	1,10	0,537±0,004	1,03	0,559±0,005	1,04	
15	0,404±0,001	0,528±0,004	1,31	0,603±0,001	1,14	0,635±0,007	1,05	0,765±0,001	1,20	
16	0,386±0,005	0,580±0,005	1,50	0,600±0,005	1,03	0,767±0,004	1,28	0,858±0,001	1,12	
17	0,382±0,003	0,537±0,001	1,41	0,667±0,007	1,24	0,680±0,003	1,02	0,789±0,003	1,16	
18	0,381±0,001	0,445±0,001	1,17	0,495±0,005	1,11	0,520±0,001	1,05	0,622±0,004	1,20	
К	0,357±0,001	0,357±0,003	1,00	0,357±0,001	1,00	0,357±0,005	1,00	0,357±0,001	1,00	

При дальнейших пересевах спиртовых дрожжей на среду Ридер с последовательно повышающейся концентрацией хлорида натрия от 6 до 10% количество активно растущих вариантов постепенно снижалось. Наиболее устойчивыми к воздействию этанола были варианты № 3, 7, 15, 16. Эти варианты характеризовались наиболее короткой лаг фазой и более высоким накоплением биомассы на протяжении всего периода культивирования на среде с 10% хлорида натрия (таблица 2). Наиболее высокие показатели оптической плотности отмечены у варианта №7.

Таблица 2 – Динамика роста спиртовых дрожжей на среде с 10% NaCl

№	ОП, ед		24ч/0ч	ОП, ед	48ч/24ч	ОП, ед	72ч/48ч	ОП, ед	96ч/72ч
	0 ч	24 ч		48 ч		72 ч		96 ч	
1	0,541±0,004	0,556±0,001	1,03	0,568±0,004	1,02	0,591±0,006	1,04	0,608±0,003	1,03
2	0,562±0,004	0,584±0,003	1,04	0,597±0,001	1,02	0,675±0,001	1,13	0,693±0,005	1,03
3	0,446±0,002	0,534±0,002	1,20	0,675±0,006	1,26	0,706±0,001	1,05	0,778±0,003	1,10
4	0,397±0,005	0,423±0,004	1,07	0,467±0,004	1,10	0,501±0,002	1,07	0,518±0,005	1,03
5	0,501±0,001	0,547±0,007	1,09	0,593±0,002	1,08	0,605±0,003	1,02	0,628±0,007	1,04
6	0,410±0,003	0,457±0,006	1,11	0,483±0,007	1,06	0,512±0,001	1,06	0,538±0,006	1,05
7	0,419±0,007	0,571±0,002	1,36	0,630±0,002	1,10	0,762±0,005	1,21	0,812±0,001	1,07
8	0,388±0,001	0,384±0,007	0,99	0,457±0,001	1,19	0,578±0,002	1,26	0,678±0,003	1,17
9	0,384±0,003	0,403±0,009	1,05	0,425±0,003	1,05	0,471±0,001	1,11	0,518±0,004	1,10
10	0,405±0,002	0,458±0,005	1,13	0,504±0,004	1,10	0,520±0,001	1,03	0,548±0,007	1,05
11	0,547±0,002	0,559±0,004	1,02	0,584±0,005	1,04	0,613±0,008	1,05	0,642±0,002	1,05
12	0,446±0,008	0,479±0,007	1,07	0,518±0,004	1,08	0,527±0,005	1,02	0,545±0,003	1,03
13	0,384±0,006	0,419±0,008	1,09	0,452±0,006	1,08	0,493±0,003	1,09	0,522±0,001	1,06
14	0,396±0,007	0,420±0,001	1,06	0,475±0,002	1,13	0,510±0,007	1,07	0,549±0,005	1,08
15	0,401±0,002	0,481±0,005	1,20	0,599±0,002	1,25	0,654±0,001	1,09	0,712±0,007	1,09
16	0,425±0,004	0,540±0,007	1,27	0,652±0,004	1,21	0,694±0,004	1,06	0,714±0,003	1,03
17	0,400±0,001	0,447±0,004	1,12	0,475±0,001	1,06	0,489±0,003	1,03	0,530±0,004	1,08
18	0,381±0,003	0,449±0,008	1,18	0,492±0,006	1,10	0,503±0,001	1,02	0,586±0,004	1,17
К	0,359±0,002	0,359±0,004	1,00	0,359±0,001	1,00	0,359±0,006	1,00	0,359±0,003	1,00

При дальнейшем повышении содержания хлорида натрия в среде наблюдалось еще большее растягивание лаг фазы, накопление оптической плотности дрожжами снижалось. При содержании NaCl в среде 15% (таблица 3) через 48 ч культивирования наибольшая ОП суспензий составляла 0,524-0,581ед., через 72 ч - 0,646-0,647 ед. и лишь к 96 ч достигала

0,686-0,747 ед. (варианты №7 и №15). У большинства штаммов ОП через 96 ч составляла 0,450-0,598 ед.

Исходя из полученных данных, были отобраны варианты №7 и 15 и исследована их бродильная активность в сравнении с исходными вариантами и с неадаптированным штаммом спиртовых дрожжей с ТОО "ТалгарСпирт", полученным в 2014 году. Отобранные адаптированные варианты характеризовались высокой бродильной активностью при отсутствии выделения CO₂ исходными культурами и производственным штаммом спиртовых дрожжей через 24 часа культивирования на сусле с 10% (по объему) этилового спирта.

Таким образом, адаптация спиртовых дрожжей к повышенным концентрациям хлорида натрия в среде способствует модификации их клеточных стенок и повышению устойчивости к конечному продукту брожения этанолу. Отобранные варианты будут способствовать интенсификации процесса продукции этилового спирта и повышению рентабельности производства за счет повышения выхода этанола при одинаковых затратах.

Таблица 3 – Динамика роста спиртовых дрожжей на среде с 15% NaCl

№	ОП, ед		24ч/0ч	ОП, ед	48ч/24ч	ОП, ед	72ч/48ч	ОП, ед	96ч/72ч
	0 ч	24 ч		48 ч		72 ч		96 ч	
1	0,426±0,001	0,432±0,002	1,01	0,489±0,006	1,13	0,587±0,005	1,2	0,598±0,004	1,02
2	0,428±0,004	0,441±0,001	1,03	0,485±0,002	1,1	0,562±0,003	1,16	0,582±0,002	1,04
3	0,395±0,003	0,410±0,004	1,04	0,457±0,004	1,12	0,502±0,001	1,1	0,567±0,006	1,13
4	0,374±0,001	0,406±0,003	1,09	0,430±0,002	1,06	0,428±0,001	1	0,450±0,007	1,05
5	0,431±0,002	0,434±0,005	1,01	0,442±0,003	1,02	0,449±0,002	1,02	0,454±0,002	1,01
6	0,475±0,004	0,481±0,001	1,01	0,486±0,004	1,01	0,506±0,004	1,04	0,521±0,001	1,03
7	0,402±0,005	0,476±0,008	1,18	0,524±0,004	1,1	0,646±0,005	1,23	0,747±0,003	1,16
8	0,493±0,007	0,506±0,007	1,03	0,518±0,002	1,02	0,532±0,004	1,03	0,549±0,001	1,03
9	0,367±0,002	0,371±0,005	1,01	0,387±0,003	1,04	0,409±0,003	1,06	0,413±0,005	1,01
10	0,420±0,001	0,435±0,008	1,04	0,462±0,004	1,06	0,480±0,001	1,04	0,491±0,001	1,02
11	0,510±0,003	0,516±0,003	1,01	0,538±0,008	1,04	0,576±0,004	1,07	0,594±0,001	1,03
12	0,433±0,004	0,439±0,007	1,01	0,442±0,006	1,01	0,449±0,002	1,02	0,451±0,006	1
13	0,478±0,002	0,482±0,005	1,01	0,486±0,001	1,01	0,491±0,003	1,01	0,500±0,004	1,02
14	0,346±0,001	0,387±0,002	1,12	0,410±0,003	1,06	0,503±0,004	1,23	0,527±0,006	1,05
15	0,496±0,001	0,514±0,004	1,04	0,581±0,004	1,13	0,647±0,007	1,11	0,686±0,002	1,06
16	0,394±0,003	0,405±0,001	1,03	0,451±0,002	1,11	0,502±0,004	1,11	0,548±0,001	1,09
17	0,516±0,005	0,534±0,001	1,04	0,552±0,001	1,03	0,594±0,005	1,08	0,627±0,001	1,06
18	0,391±0,002	0,447±0,007	1,14	0,480±0,001	1,07	0,524±0,002	1,09	0,573±0,005	1,09
K	0,361±0,003	0,361±0,002	1	0,361±0,001	1	0,361±0,002	1	0,361±0,001	1

REFERENCES

- [1] Lopes M., Serrano L., Ribeiro I., Cascão P., Pires N., Rafael S., Tarelho L., Monteiro A., Nunes T., Evtugina M., Nielsen O.J., Gameiro S.M., Miranda A.I., Borrego C. (2014) Emissions characterization from EURO 5 diesel / biodiesel passenger car operating under the new European driving cycle, *Atmos Environ*, 84:339-348. DOI:10.1016/j.atmosenv.2013.11.071.
- [2] Ajanovic A., Haas R. (2014) On the future prospects and limits of biofuels in Brazil, the US and EU, *Appl Energ*, 135:730-737. DOI: 10.1016/j.apenergy.2014.07.001.
- [3] Feofilova E.P., Sergeeva Ja.Je., Ivashechkin A.A. (2010) Applied biochemistry and microbiology [Прикладная биохимия и микробиология] 46: 405-415. (In Russian)
- [4] Sato A.G., Silva C.D., Paganin V.A., Biancolli L.G., Ticianelli A.E. (2015) New, efficient and viable system for ethanol fuel utilization on combined electric/internal combustion engine vehicles, *J Power Sources*, 294:569-573. DOI: 10.1016/j.jpowsour.2015.06.086.
- [5] Baeyens J., Kang Q., Appels L., Dewil R., Lv Y., Tan T. (2015) Challenges and opportunities in improving the production of bio-ethanol, *Prog Energ Combust*, 47:60-88. DOI: 10.1016/j.pecs.2014.10.003.
- [6] Kopsahelis N., Bosnea L., Bekatorou A., Tzia C., Kanellaki M. (2012) Alcohol production from sterilized and non-sterilized molasses by *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on brewer's spent grains in two types of continuous bioreactor systems, *Biomass Bioenerg*, 45:87-94. DOI: 10.1016/j.biombioe.2012.05.015.
- [7] Wu H., He A., Kong X., Jiang M., Chen X., Zhu D., Liu G., Jin W. (2015) Acetone-butanol-ethanol production using pH control strategy and immobilized cells in an integrated fermentation-pervaporation process, *Process Biochem*, 50:614-622. DOI: 10.1016/j.procbio.2014.12.006.
- [8] Tran T.H., Neil Nosworthy N.T., Bilek M.M., McKenzie D.R. (2015) Covalent immobilization of enzymes and yeast: Towards a continuous simultaneous saccharification and fermentation process for cellulosic ethanol, *Biomass Bioenerg*, 81:234-241. DOI: 10.1016/j.biombioe.2015.07.009.
- [9] Ariyajaroenwong P., Laopaiboon P., Laopaiboon L. (2015) Capability of sweet sorghum stalks as supporting materials for yeast immobilization to produce ethanol under various fermentation processes, *Journal of the Taiwan Institute of chemical engineers*, 49:79-84. DOI:10.1016/j.jtice.2014.11.016.
- [10] El-Dalatony M.M., Kurade M.B., R.A.I. Abou-Shanab, Hoo Kim, El-Sayed Salama, B.-H. Jeon. (2016) Long-term production of bioethanol in repeated-batch fermentation of microalgal biomass using immobilized *Saccharomyces cerevisiae*, *Bioresour Technol*, 219:98-105. DOI:10.1016/j.biortech.2016.07.113.

- [11] Mulko L., Rivarola C.R., Barbero C.A., Acevedo D.F. (2016) Bioethanol production by reusable *Saccharomyces cerevisiae* immobilized in a macroporous monolithic hydrogel matrices, *J Biotechnol*, 233:56-65. DOI:10.1016/j.jbiotec.2016.07.004.
- [12] Davydenko S.G., Ustinova A.S., Meledina T.V., Barakova N.V. (2012) Scientific Journal ITMO. Series. Processes and devices of food manufactures [Nauchnyj zhurnal NIU ITMO. Ser. Processy i apparaty pishhevyh proizvodstv]. N 2: 42.
- [13] Mitsumasu K., Liu Ze-Shen, Tang Yue-Qin, Akamatsu T., Taguchi H., Kida K. (2014) Development of industrial yeast strain with improved acid- and thermo-tolerance through evolution under continuous fermentation conditions followed by haploidization and mating, *J Biosci Bioeng*, 118:689-695. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2014.05.012.
- [14] Gao L., Liu Y., Sun H., Li C., Zhao Z., Liu G. (2016) Advances in mechanisms and modifications for rendering yeast thermotolerance, *J Biosci Bioeng*, 121:599-606. DOI:10.1016/j.jbiosc.2015.11.002.
- [15] Zhao X.Q., Bai F.W. (2009) Mechanisms of yeast stress tolerance and its manipulation for efficient fuel ethanol production, *J Biotechnol*. 144:23-28. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2009.05.001.
- [16] Zheng D.Q., Wu X.C., Tao X.L., Wang P.M., Li P., Chi X.Q., Li Y.D., Yan Q.F., Zhao Y.H. (2011) Screening and construction of *Saccharomyces cerevisiae* strains with improved multi-tolerance and bioethanol fermentation performance, *Bioresource Technol*, 102:3020-3027. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.09.122.
- [17] Zhang Min, Zhu R, Zhang Minfeng, Wang S. (2014) Creation of an ethanol-tolerant *Saccharomyces cerevisiae* strain by 266 nm laser radiation and repetitive cultivation, *J Biosci Bioeng*, 118:508-513. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2014.04.016.
- [18] Dong S.-J., Yi C.-F., Li' H. (2015) Changes of *Saccharomyces cerevisiae* cell membrane components and promotion to ethanol tolerance during the bioethanol fermentation, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 69:196-203. DOI: 10.1016/j.biocel.2015.10.025.
- [19] Ohta E., Nakayama Y., Mukai Y., Bamba T., Fukusaki E. (2016) Metabolomic approach for improving ethanol stress tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*, *J Biosci Bioeng*, 121:399-405. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2015.08.006.
- [20] Ryabova O.B., Chmil O.M., Sibirny A.A. (2003) Xylose and cellobiose fermentation to ethanol by the thermotolerant methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha*, *FEMS Yeast Res*, 4:157-164. DOI: 10.1016/S1567-1356(03)00146-6.
- [21] Suriyachai N., Weerasaia K., Laosiripojana N., Champreda V., Unrean P. (2013) Optimized simultaneous saccharification and co-fermentation of rice straw for ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* and *Scheffersomyces stipitis* co-culture using design of experiments, *Bioresource Technol*, 142:171-178. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.05.003.
- [22] Gutiérrez-Rivera B., Ortiz-Muñiz B., Gómez-Rodríguez J., Cárdenas-Cágal A., Domínguez González J.M., Aguilar-Uscanga M.G. (2015) Bioethanol production from hydrolyzed sugarcane bagasse supplemented with molasses "B" in a mixed yeast culture, *Renew Energ*, 74:399-405. DOI: 10.1016/j.renene.2014.08.030.
- [23] Deesuth O., Laopaiboon P., Laopaiboon L. (2016) High ethanol production under optimal aeration conditions and yeast composition in a very high gravity fermentation from sweet sorghum juice by *Saccharomyces cerevisiae*, *Ind Crop Prod*, 92:263-270. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.07.042.
- [24] Hohmann S. (2002) Osmotic Stress Signaling and Osmoadaptation in Yeasts, *Microbiol Mol Biol R*, 66: 300-372. DOI:10.1128/MMBR.66.2.300-372.2002.
- [25] Los D.A., Murata N. (2004) Membrane fluidity and its roles in the perception of environmental signals, *BBA-Biomembranes*, 1666: 142-157. DOI: 10.1016/j.bbamem.2004.08.002.
- [26] Le Gall H., Philippe F., Domon J-M., Gillet F., Pelloux J., Rayon C. (2015) Cell Wall Metabolism in Response to Abiotic Stress, *Plants (Basel)*. 4: 112-166. DOI:10.3390/plants4010112.

Е. А. Олейникова, Т. В. Кузнецова, М. Г. Саубенова, А. А. Айтжанова, М. М. Шорманова

РМК «Микробиология және вирусология институты» ҒК БҒМ ҚР, Алматы, Қазақстан

ЭТАНОЛ ӨНДІРУШІ АШЫТҚЫЛАРДЫ ЖОҒАРЫ ОСМОСТЫҚ ҚЫСЫМДЫ ҚОРЕКТІК ОРТАҒА БЕЙІМДЕУ

Аннотация. Жұмыстың мақсаты *Saccharomyces cerevisiae* ашытқысын, жасушалардың жоғары концентрациялы этанолға тұрақтылығын арттыру үшін, қоректік ортаның үдеуші осмостық қысымына бейімделуі болды. Бейімделу 5-тен 15% -ға дейінгі NaCl бар қоректік орталарда біртіндеп өсіру бойынша жүргізілді. Ашытқылардың өсу белсенділігін 96 сағат ішінде суспензияның оптикалық тығыздығына байланысты талдадық. Қоректік ортада натри хлоридінің концентрациясы жоғарылауынан, белсенді өсіп жатқан нұсқалар төмендеп, лаг фазасы созылғаны анықталды. Жасуша өткізгіштігінің өзгерістерімен сипатталатын, қоректік ортаның осмостық қысымына жоғары көрсеткіштік тұрақтылыққа ие болған, 18 бейімделген культуралардың ішінен екі нұсқасы іріктеліп алынды. Алынған нұсқалар қалыпты жағдайда алдыңғы культураларда CO₂-нің бөлінуі болмаған кезде сыра ашытқысында 10% (көлемі бойынша) этил спиртімен өсіргенде жоғары ашыту белсенділігіне ие болды. Осылайша, спиртті ашытқылардың қоректік ортадағы натрий хлориді концентрациясына бейімделуі, олардың клеткалық қабырғаларының орнықтылығын жоғарылатып және соңғы өнімге этанолдың ашуына ықпал етеді. Іріктелген нұсқаларды пайдалану, биоэтанол өнімінің жүйесін қарқынды және оның бірдей өндірістік шығынында, соңғы өнімін жоғарылатып, оның экономикалық тиімділігін арттырады.

Түйін сөздер: ашытқылар, биоэтанол, осмостық қысым, бейімделу, этанолға толеранттылық, ашыту белсенділігі.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 118 – 126

**O. A. Sapko, O. V. Chebonenko, A. K. Tursunova, A. O. Abaildayev,
Zh. D. Beskempirova, B. Tilegen, Y. M. Dyo, A. Sh. Utarbayeva**

M. A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry, CS MES RK, Almaty, Kazakhstan.
E-mail: olessjachebonenko@mail.ru

AN ISOENZYME COMPOSITION AND SOME PROPERTIES OF POTATO CHITINASE

Abstract. Chitinase (EC 3.2.1.14) belong to the family of PR-proteins and they are important component of the protective mechanism in plant pathogenic attack and other stress. Despite intensive research and achievements, the role of chitinase in normal plant metabolism still remains unknown. The aim of this paper is to study the isoenzyme composition, localization and some physical and chemical properties of chitinase potato *Solanum tuberosum*, a significant level of constitutive activity of chitinase and polymorphism. It shows specificity of the localization of various isoforms of the enzyme. It has been established that extracellular acidic chitinase presented (pI 3,6–4,4) and alkaline (pI 8,2–7,5) isoforms. Using specific affinity sorbent installed isoenzymes containing chitin-binding domain (pI 8,7; 8,0; 6,5 and 5,8), predominantly localized intracellularly. Exochitinase identified potatoes having acidic pI (3,6–4,9), localized in the extracellular space and inside the cells. There has been determined thermal stability of chitinase isoforms. The most thermolabile attributed acidic apoplast exochitinases (pI 3,6–4,4). The maximal thermostability alkaline isoforms (pI 7,7–8,2) was characterized. The obtained data can be used as identification markers enzymatic stability *S. tuberosum* to pathogens and other stress conditions.

Keywords: *Solanum tuberosum*, chitinase, isoenzymes, localization, exochitinase, chitin-binding domain.

УДК 581.143.6; 547.9; 581.19

**О. А. Сапко, О. В. Чебоненко, А. К. Турсунова, А. О. Абайлдаев,
Ж. Д. Бескемпирова, Б. Тилеген, Ю. М. Де, А. Ш. Утарбаева**

РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М. А. Айтхожина» КН МОН РК,
Алматы, Казахстан

ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СОСТАВ И НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА ХИТИНАЗЫ КАРТОФЕЛЯ

Аннотация. Хитиназы (EC 3.2.1.14) принадлежат к семейству PR-белков и являются важным компонентом защитного механизма растений при патогенной атаке и других стрессах. Несмотря на интенсивные исследования и достигнутые успехи, по-прежнему остается невыясненной роль хитиназы в нормальном метаболизме растений. Целью исследования было изучение изоферментного состава, локализации и некоторых физико-химических свойств хитиназы картофеля *Solanum tuberosum*. Установлен значительный уровень конститутивной активности и полиморфизма хитиназы. Показана специфичность локализации различных изоформ фермента. Установлено, что внеклеточные хитиназы представлены кислыми (pI 3,6–4,4) и щелочными (pI 8,2–7,5) изоформами. С использованием специфического аффинного сорбента установлены изоферменты, содержащие хитин-связывающий домен (pI 8,7; 8,0; 6,5 и 5,8), локализованные преимущественно внутри клетки. Идентифицированы экзохитиназы картофеля, имеющие кислые ИЭТ (3,6–4,9), локализованные как в межклеточном пространстве, так и внутри клеток. Определена термостабильность изоформ хитиназы. К наиболее термолабильным отнесены кислые апопластные экзохитиназы (pI 3,6–4,4). Максимальной термостабильностью характеризовались щелочные изоформы (pI 7,7–8,2). Полученные данные могут быть

использованы в идентификации ферментативных маркеров устойчивости *S.tuberosum* к патогенам и другим стрессовым условиям.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, хитиназа, изоферменты, локализация, экзохитиназы, хитин-связывающий домен.

Растения реагируют на стрессовые воздействия окружающей среды активацией множества генов, кодирующих различные белки. Среди них накопление связанных с патогенезом (PR) белков в ответ на атаку патогена и/или другой стресс играет важную роль. Особым звеном защитного механизма являются хитиназы, группа семейства PR-белков, изучению которых уделяется большое внимание [1-3]. Хитиназы (ЕС 3.2.1.14) катализируют гидролитическое расщепление β -1,4-гликозидной связи хитина, который является основным структурным компонентом клеточных стенок многих грибов и экзоскелета членистоногих. Хитиназы широко распространены в природе, включая бактерии, грибы, животных и растения. Растительные хитиназы характеризуются множественностью изоформ, которые различаются по локализации, молекулярной структуре и субстратной специфичности [4-6]. Ферменты могут быть представлены конститутивно на низких уровнях, но их активность резко повышается в ответ на многие абиотические и биотических стрессы [5-7].

Хитиназы подразделяются на две категории, экзо- и эндохитиназы. Эндохитиназы расщепляют хитин случайным образом внутри полимера с образованием растворимых, низкомолекулярных олигомеров N-ацетилглюкозамина, таких как хитотриоза, хитотетроза и диацетилхитобиоза. Экзохитиназы разделяются на две группы: хитобиозидаз, катализирующих высвобождение диацетилхитобиоз от невозстанавливающегося конца микрофибриллы хитина и β -1,4-N-ацетилглюкозаминидаз, которые расщепляют олигомерные продукты эндохитиназ и хитобиозидаз с образованием мономера N-ацетилглюкозамина [8]. На основании их первичных структур хитиназы растений были разделены на семь классов, I-VII [2-4]. Различные классы хитиназ не имеют явной корреляции с присутствием в конкретных видах растений, органах или тканях. I-VII классы хитиназ, в настоящее время классифицированы в 4 группы, что соответствует 4-м семействам PR-белков, а именно Chia, Chib, Chic и Chid. Эта классификация основана на наличии или отсутствии N-концевого домена и сходства аминокислотных последовательностей в архетипических каталитических доменах [9].

Общая индукция хитиназ в растениях, подвергающихся различным стрессовым факторам, может свидетельствовать о том, что хитиназы являются частью неспецифического общего ответа на стресс. Тем не менее, это не исключает их значения в системе специфической защиты растений от патогенов, в частности дифференциально регулируемых изоформ фермента, имеющих разные роли. Роль растительных хитиназ в защите против патогенов была показана на многих примерах [4-6, 10]. Растительные хитиназы способны разлагать хитин и тормозить рост грибов [11, 12]. Некоторые хитиназы класса I локализованы в вакуоле, другие хитиназы, в том числе хитиназы III класса, находятся вне клетки [13]. Внеклеточные хитиназы могут непосредственно блокировать вторжение и рост гифов в межклеточное пространства и, возможно, высвобождать грибковые элиситоры, которые вызывают дальнейшие защитные реакции в организме хозяина [14, 15]. Наряду с многочисленными данными участия хитиназ в стрессовых ответах, установлено, что хитиназы вовлечены в процессы регуляции роста и развития растений [1, 3]. Растительные гликопротеины клеточной стенки, содержащие N-ацетилглюкозамин, считаются эндогенным субстратом для хитиназы растений [16]. Хитиназы играют роль в прорастании, воздействуя на хитоолигосахариды в клеточных стенках оболочек семян, и могут участвовать в генерации сигнальных молекул, которые регулируют процесс органогенеза [10].

Картофель – одна из важнейших продовольственных культур в мире, восприимчивая ко многим патогенным микроорганизмам и другим стрессовым факторам, ведущим к значительным потерям урожайности и качества продукции. Изучение механизмов его устойчивости является актуальным направлением исследований. Во всех растениях, проанализированных на сегодняшний день, хитиназы представлены множественными изоформами, для многих из которых молекулярная структура была установлена [7]. В листьях картофеля хитиназы также представлены множественными изоформами и их активность сильно увеличивалась после заражения *Phytophthora infestans* [17, 18]. Мажорные изоформы, которые обуславливают большую часть соответствующей

ферментативной активности в инфицированных листьях, являются основными хитиназами с М.м. от 32 кДа до 34 кДа (класс I), хотя незначительные количества кислых (класс II) изоферментов также были обнаружены. Основные хитиназы являются группой изоферментов, которые преимущественно локализованы внутриклеточно, но также были обнаружены в значительных количествах во внеклеточном пространстве зараженного или обработанного элиситором листа картофеля [17, 18].

Несмотря на интенсивные исследования растительных хитиназ и достигнутые успехи, по-прежнему остается невыясненной роль хитиназы в метаболизме растений в норме. Неоднозначной остается роль фермента в устойчивости растений [19, 20]. Разнообразие изоформ хитиназы, а также специфическая экспрессия, зависящая от стадии развития растения, органо- и клеточной локализации, может означать, что хитиназы имеют дополнительные, пока еще неизвестные биологические функции в процессе роста и развития растений.

Целью исследования было изучение изоферментного состава, локализации и некоторых физико-химических свойств хитиназы картофеля *S. tuberosum* в норме.

Объекты и методы исследований

Объектами исследования служили клубни и 4-х недельные проростки картофеля сорта Ушканыр. Активность хитиназы определяли с помощью субстрата коллоидного хитина (Sigma-Aldrich, США) по методу [21] с модификациями. Для этого к 0,1 мл растительного экстракта добавляли 0,2 мл коллоидного хитина и инкубировали при 37 °С в термостате 4 часа. Реакцию останавливали добавлением 1 мл ДНС. Пробирки кипятили 5 мин. Образцы центрифугировали 10 мин при 5000 об./мин для осветления образца и измеряли оптическую плотность при 545 нм. Активность фермента рассчитывали по калибровочной кривой с N-ацетилглюкозамином (20–500 мкг/мл).

Нативное изоэлектрофокусирование (ИЭФ) хитиназы проводили в пластинах 5% ПААГ толщиной 1 мм с помощью прибора Multiphor II (LKB, Швеция). В качестве амфолитов использовали Servalyt 3–10 (Serva, Германия). Время фокусирования 5 часов при конечном напряжении 500 V. Окрашивание пластины ПААГ на хитиназную активность проводили по методу [22]. Субстратом являлась полиакриламидная «реплика» с заподимеризованным 0,02% гликоль хитином (Sigma-Aldrich, США).

Внутриклеточную (вакуолярную) и внеклеточную (апопластную) хитиназу выделяли одним из общепринятых способов [23]. Для получения апопластной фракции в колбу Бунзена помещали 250–300 мл дистиллированной воды и 15–20 г листьев картофеля. Содержимое колбы выдерживали при вакуумном разряжении (20 мбар) 30 мин. После этого листья картофеля помещали в 50 мл пробирки и центрифугировали 20 мин при 4 °С со скоростью не выше 3000 г. Жидкость, скапливающаяся на дне пробирок, содержала апопластный фермент, а экстракт из «выжатых» листьев – вакуолярный фермент.

Для выявления экзохитиназ в общем составе хитиназ проводили ИЭФ экстракта стебля с последующим обнаружением зон активности в геле с помощью специфического хромогенового субстрата 4-метилумбеллиферил-N-ацетил-глюкозаминада (Sigma-Aldrich, США) по методу [20].

Хитиназы, содержащие хитин-связывающий центр, очищали аффинной хроматографией на нерастворимом хитине (New England BioLabs, США) по методу [25]. Для этого белки из экстракта листьев осаждали сульфатом аммония (от 30 до 70%), диализовали против 0,05 М фосфатного буфера pH 7,4 и наносили на колонку размером 1,2x4 см со специфическим сорбентом. Несвязавшиеся белки промывали сначала стартовым буфером, затем 0,05 М ацетатным буфером pH 5,1. Связавшийся белок элюировали 20 мМ уксусной кислотой (pH 3,0), которую быстро нейтрализовали 0,5 М фосфатным буфером до нейтрального pH.

Результаты и их обсуждение

Изучали конститутивный состав хитиназ картофеля. Хитиназа картофеля характеризовалась высоким уровнем исходной активности и множественностью изоформ, имеющих различную тканевую и субклеточную локализацию. Хитиназный комплекс был представлен 12–14 изоформами фермента с ИЭТ от 3,5 до 9,4. Тканевая и клеточная локализация изоформ фермента и уровень удельной активности приведены на рисунке 1.

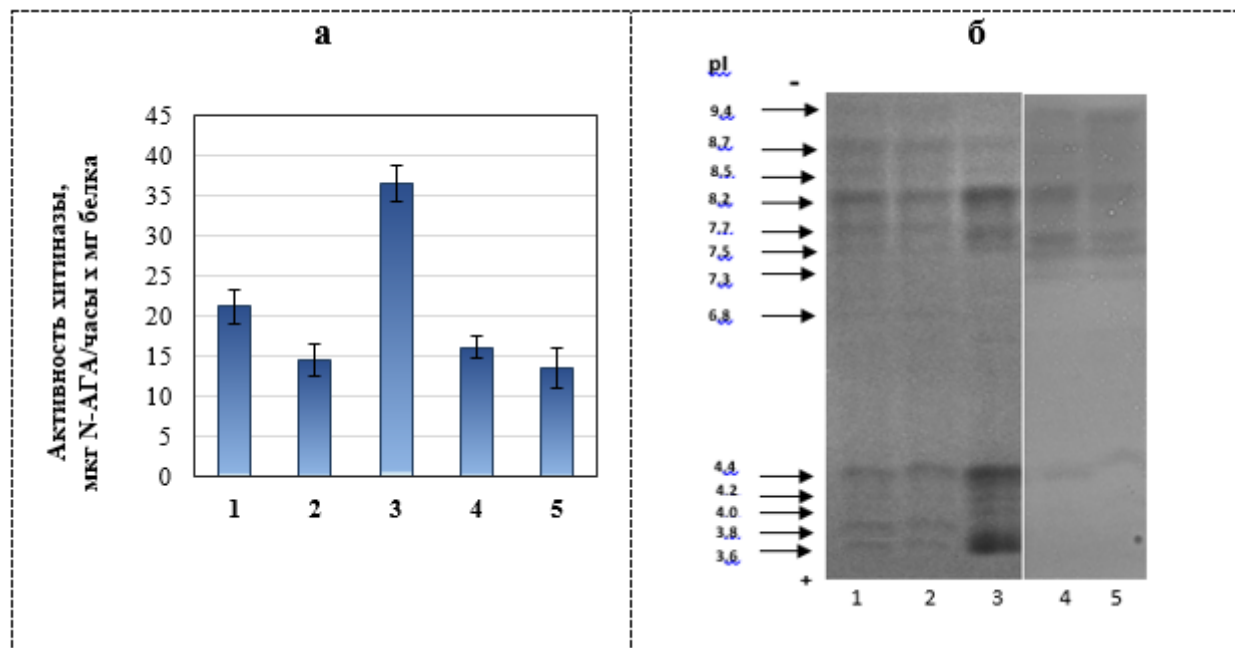


Рисунок 1 – Удельная активность (а) и локализация изоформ хитиназы (б) в картофеле (сорт Ушкониър).
1-3 – лист: 1 – общий спектр; 2 – внутриклеточные хитиназы; 3 – апопластные хитиназы; 4 – стебель; 5 – клубень

По данным ИЭФ в норме максимальное количество изоформ фермента детектируется в тканях листа (12-14). Мажорными являются две щелочные (pI 7,7 и 8,2) и две кислые изоформы (pI 3,6 и 4,4). Ткани стебля и клубня не отличались от листьев изоферментным составом, но имели меньшую суммарную удельную активность и отличия в активности отдельных представленных изоформ. В спектре стебля мажорными были изоформы с pI 8,2 и 7,7, в клубне – изоформы с pI 9,4; 8,2 и 7,7. Внеклеточные (апопластные) хитиназы были представлены двумя мажорными кислыми (pI 3,6 и 4,4) и щелочными (pI 8,2; 7,7 и 7,5) изоформами. Внутриклеточные хитиназы листьев картофеля содержали не менее 8 кислых и щелочных изоформ с преобладанием последних. Хитиназы найдены в здоровых листьях многих других растений. Предполагается, что хитиназы в норме могут участвовать в регуляции роста и развития растений [16, 26], хотя сегодня общепринятой считается их защитная функция [1, 6]. Клеточные и секреторные хитиназы предположительно имеют разные роли в защитных реакциях. Апопластные хитиназы считаются частью ранней, индуцированной реакции, так как эти хитиназы действуют непосредственно, блокируя рост гиф, вторгшихся в межклеточное пространство. Кроме того, указывается, что апопластные хитиназы, возможно, действуют косвенно, высвобождая грибковые элиситоры, которые, в свою очередь, способны вызывать каскад других защитных ответов. При дальнейшем развитии инфекционного процесса, когда гифы проникают внутрь клеток, высвобождаются внутриклеточные хитиназы [3]. Установлено, что вакуолярные хитиназы более эффективно подавляют рост болезнетворных микроорганизмов [5].

Для выявления изоформ хитиназ картофеля с ХСД использовали аффинную хроматографию с нерастворимым коммерческим хитином (chitin resin). На рисунке 2 представлены спектры изоформ фермента, связавшихся и не связавшихся с хитином. На основании сродства к аффинному сорбенту в листьях картофеля были установлены изоформы хитиназы, имеющие ХСД, с ИЭТ в щелочной и нейтральной области (pI 8,5; 8,0; 6,8 и 6,0). Мажорные конститутивные кислые (pI 3,6 и 4,4) и щелочные (pI 7,7 и 8,2) изоформы, накапливающиеся в листьях картофеля, не содержали ХСД.

Установлено, что самую высокую противогрибковую активность проявляют хитиназы класса I, что, возможно, связано с наличием в их структуре ХСД [27]. Класс I хитиназ встречается только в растениях. Большинство хитиназ класса I синтезируется с С-концевым расширением, обеспечивающим их локализацию в вакуоле. В то время как хитиназы I класса встречаются только в растениях, класс II также встречается у грибов и бактерий. Они аналогичны классу I, но не

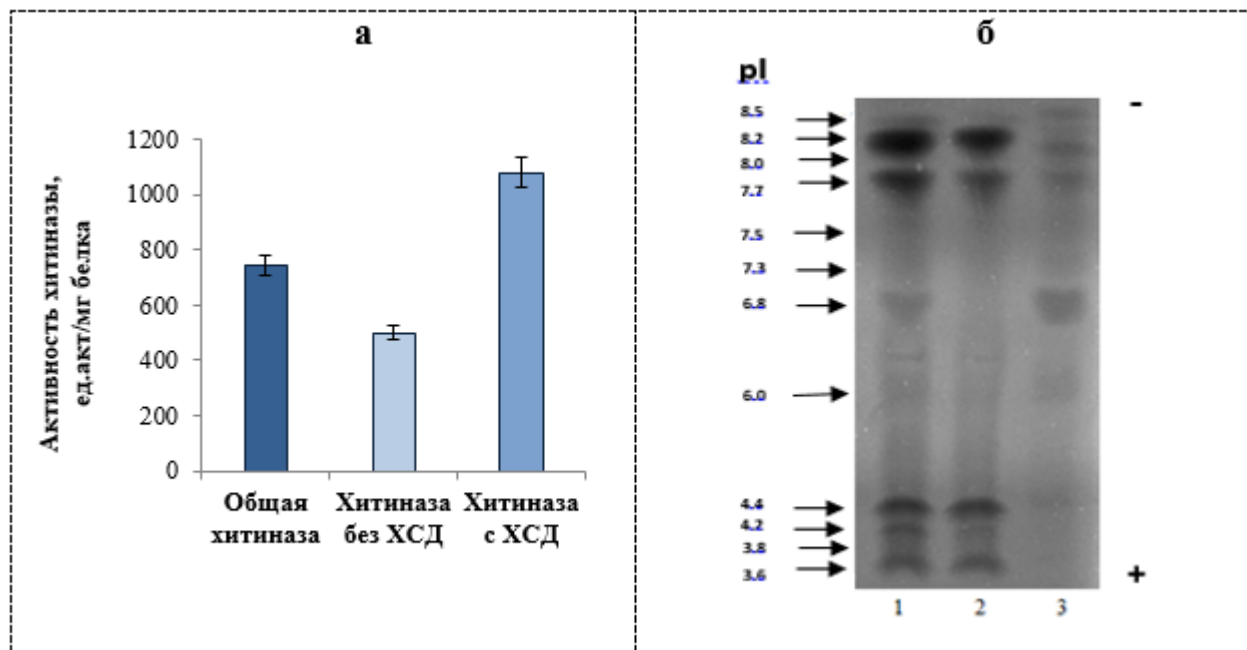


Рисунок 2 – Удельная активность (а) и ИЭФ спектр (б) хитиназ листа картофеля, содержащих и не содержащих ХСД: 1 – общий спектр хитиназы; 2 – хитиназа без ХСД; 3 – хитиназа с ХСД

имеют N-концевого ХСД и шарнирной области и имеют кислые свойства. Оба I и II класса индуцируются как часть местной гиперчувствительной реакции. С другой стороны, хитиназы класса II индуцируются при системном ответе [1].

По способу действия на субстрат хитиназы подразделяются на 2 типа: экзохитиназы и эндохитиназы. Экзохитиназы детектировали с использованием хромогенного субстрата 4-метилумбеллиферил-N-ацетил-глюкозаминада. Спектр общей хитиназы выявляли геле-репликой с гликоль хитином (рисунок 3). Полученные результаты показывают, что экзохитиназы картофеля представлены кислыми изоформами (pI 3,6–4,9), локализованными в апопласте и в незначительном количестве – внутриклеточно.

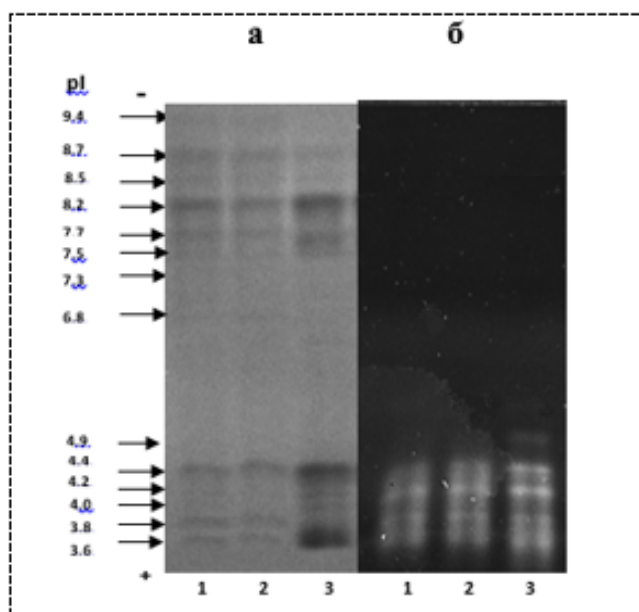


Рисунок 3 – ИЭФ спектр общей хитиназы (а) и экзохитиназы (б) 4-х недельных листьев картофеля: 1 – общий спектр; 2 – внутриклеточные хитиназы, 3 – апопластные хитиназы

Большинство установленных в картофеле индуцированных хитиназ являются эндохитиназами с молекулярной массой 32–38 кДа и ИЭТ выше 7 [28], хотя незначительные количества кислых (класс II) изоформ также были обнаружены [17].

Важной характеристикой ферментных белков является их термостабильность. Растительные хитиназы показывают широкий диапазон изоэлектрических точек, активности pH и температурной стабильности. Термоустойчивость хитиназы и ее отдельных изоформ определяли 10-минутным прогревом тотального фермента при 50, 60 и 70 °C с 1мМ Ca²⁺. После прогрева образцы быстро охлаждали и центрифугировали для удаления денатурированных белков. Контролем являлся непрогретый фермент (рисунок 4). ИЭФ и анализ активности позволил установить в составе хитиназ картофеля относительно термостабильные и термолабильные изоферменты (рисунок 4).

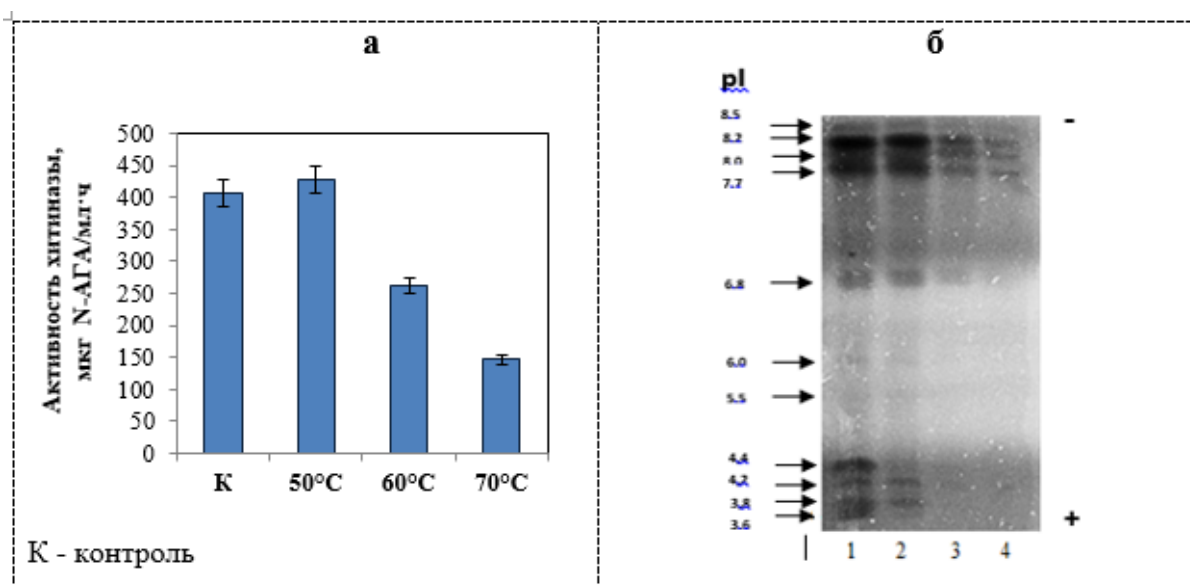


Рисунок 4 – Влияние температуры на активность (а) и ИЭФ спектр (б) хитиназы листа картофеля. б: 1 – исходная хитиназа (контроль); 2-4 – после 10 мин прогрева при 50°C (1), 60°C (2) и 70°C (3)

Наименьшей устойчивостью к нагреванию характеризовались кислые экзохитиназы картофеля, локализованные в апопласте, активность которых значительно снизилась уже при 50 °C. Максимальной термоустойчивостью характеризовались щелочные изоформы фермента (pI 7,7–8,2), частично сохранившие свою активность и после прогрева при 70 °C.

Таким образом, проведенные исследования позволили установить, что конститутивный пул хитиназ картофеля включает не менее 14 изоформ фермента. В составе хитиназ были идентифицированы изоформы, различающиеся по структуре (содержащие и не содержащие ХСД), локализации (апопластные и внутриклеточные), субстратной специфичности (экзо- и эндохитиназы) и термостабильности. Полученные данные могут быть использованы в идентификации белковых маркеров устойчивости *S.tuberosum* к патогенам и другим стрессовым условиям.

Источник финансирования исследований. НТП О.0657 МОН РК «Разработка научных основ повышения устойчивости пшеницы и картофеля к фузариозу и виридам на основе методов молекулярной и клеточной биологии и создание на их основе исходных линий и диалогистиков для ускоренной селекции». Задание: Биохимические показатели устойчивости пшеницы и картофеля к фузариозу для создания улучшенных линий.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Grover A. Plant chitinases: genetic diversity and physiological roles // Crit. Rev. Plant Sci. – 2012. – Vol. 31. – P. 57-73.
 [2] Saboki Ebrahim, K. Usha, Bhupinder Singh. Pathogenesis related (PR) proteins in plant defense mechanism // Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. A. Méndez-Vilas (Ed.). – 2011. – Vol. 2(3). – P. 1043-1054.

- [3] Sharma V. Pathogenesis related defence functions of plant chitinases and β -1,3-glucanases // *Vegetos.* – 2013. – Vol. 26. – P. 205-218.
- [4] Collinge D.B., Kragh K.M., Mikkelsen J.D., Nielsen K.K., Rasmussen U. Vad K. Plant chitinases // *Plant J.* – 1993. – Vol. 3(1). – P. 31-40.
- [5] Kasprzewska A. Plant chitinases – regulation and function // *Cell. Mol. Biol. Lett.* – 2003. – Vol. 8(3). – P. 809-824.
- [6] Sharma N., Sharma K.P., Gaur R.K., Gupta V.K. Role of chitinase in plant defense // *Asian J. Biochem.* – 2011. – Vol. 6(1). – P. 29-37.
- [7] Graham L.S., Sticklen M.B. Plant chitinases // *Can J. Bot.* – 1994. – Vol. 72(8). – P. 1057-1083.
- [8] Cohen-Kupiec R., Chet I. The molecular biology of chitin digestion // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 1998. – Vol. 9. – P. 270-277.
- [9] Neuhaus J.M. Plant chitinases (PR-3, PR-4, PR-8, PR-11). In: Datta S.K., Mathukrishnan S., eds. Pathogenesis related proteins in plants // CRC Press, Boca Raton, FL. – 1999. – P. 77-105.
- [10] Van Loon L.C., Rep M., Pieterse C.M.J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants // *Annu. Rev. Phytopathol.* – 2006. – Vol. 44. – P. 135-162.
- [11] Broekaert W.F., Van Parijs J., Allen A.K., Peumans W.J. Comparison of some molecular, enzymatic and antifungal properties of chitinases from thorn-apple, tobacco and wheat // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* – 1988. – Vol. 33. – P. 319-331.
- [12] Schlumbaum A., Mauch F., Vogeli U., Boller T. Plant chitinases are potent inhibitors of fungal growth // *Nature.* – 1986. – Vol. 324. – P. 365-367.
- [13] Neuhaus J.M., Fritig B., Linthorst H.J.M., Meins F., Mikkelsen J.D., Ryals J. A revised nomenclature for chitinase genes // *Plant Mol. Biol. Reporter.* – 1996. – Vol. 14. – P. 102-104.
- [14] Barber M.S., Bertram R.E., Ride J.P. Chitin oligosaccharides elicit lignifications in wounded wheat leaves // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* – 1989. – Vol. 34. – P. 3-12.
- [15] Mauch F., Staehelin L.A. Functional implication of the subcellular localization of ethylene-induced chitinase and β -1,3-glucanase in bean leaves // *Plant Cell.* – 1989. – Vol. 1. – P. 447-457.
- [16] Dyachok J.V., Wiweger M., Kenne L., Von Arnold S. Endogenous Nod-factor-like signal molecules promote early somatic embryo development in Norway spruce // *Plant Physiol.* – 2002. – Vol. 128. – P. 523-533.
- [17] Beerhues L., Kombrink E. Primary structure and expression of mRNAs encoding basic chitinase and 1,3- β -glucanase in potato // *Plant Mol. Biol.* – 1994. – Vol. 24. – P. 353-367.
- [18] Schroder M., Hahlbrock K., Kombrink E. Temporal and spatial patterns of 1,3- β -glucanase and chitinase induction in potato leaves infected by *Phytophthora infestans* // *Plant J.* – 1992. – Vol. 2. – P. 161-172.
- [19] Broglie K., Chet I., Holliday M., Cressnan R., Biddle P., Knowlton S., Mauvais C.J., Broglie R. Transgenic plants with enhanced resistance to the fungal pathogen *Rhizoctonia solani* // *Science.* – 1991. – Vol. 254. – P. 1194-1197.
- [20] Neuhaus J.M., Ahl-Goy P., Hint U., Flores S., Meins F. High-level expression of a tobacco chitinase gene in *Nicotiana sylvestris*. Susceptibility of transgenic plants to *Cercospora nicotianae* infection // *Plant Mol. Biol.* – 1991. – Vol. 16(1). – P. 141-151.
- [21] Fink W., Liefland M., Mendgen K. Chitinases and β -1,3-glucanases in the apoplastic compartment of oat leaves (*Avena sativa* L.) // *Plant Physiol.* – 1988. – Vol. 88. – P. 270-275.
- [22] Trudel J., Asselin A. Detection of chitinase activity after polyacrylamide gel electrophoresis // *Anal. Biochem.* – 1989. – Vol. 178. – P. 362-366.
- [23] Rohringer R., Ebrahim-Nesbat F., Wolf G. Proteins in intercellular washing fluids from leaves of barley (*Hordeum vulgare* L.) // *J. Exp. Bot.* – 1983. – Vol. 34. – P. 1589-1605.
- [24] Dušková J., Tishchenko G., Ponomareva E., Šimůnek J., Koppová I., Skálová T., Štěpánková A., Hašek J., Dohnálek J. Chitinolytic enzymes from bacterium inhabiting human gastrointestinal tract – critical parameters of protein isolation from anaerobic culture // *Acta Biochim. Polonica.* – 2011. – Vol. 58(2). – P. 261-263.
- [25] Sørensen H.P., Madsen L.S., Petersen J., Andersen J.T., Hansen A.M., Beck H.C. Oat (*Avena sativa*) seed extract as an antifungal food preservative through the catalytic activity of a highly abundant class I chitinase // *Appl. Biochem. Biotechnol.* – 2010. – Vol. 160. – P. 1573-1584.
- [26] Jitonnom J., Lee V.S., Nimmanpipug P., Rowlands H.A., Mulholl A.J. Quantum mechanics/molecular mechanics modeling of substrate assisted catalysis in family 18 chitinases: conformational changes and the role of Asp142 in catalysis in ChiB // *Biochemistry.* – 2011. – Vol. 50. – P. 4697-4711.
- [27] Sela-Buurlage M.B., Ponstein A.S., Bres-Vloemans S.A., Melchers L.S., Van Den Elzen P.J.M., Cornelissen B.J.C. Only specific tobacco (*Nicotiana tabacum*) chitinases and β -1,3-glucanases exhibit antifungal activity // *Plant Physiol.* – 1993. – Vol. 101. – P. 857-863.
- [28] Kombrink E., Schroder M., Hahlbrock K. Several pathogenesis-related proteins in potato are 1,3- β -glucanases and chitinases // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1988. – Vol. 85. – P. 782-786.

REFERENCES

- [1] Grover A. Plant chitinases: genetic diversity and physiological roles. *Crit. Rev. Plant Sci.* 2012. Vol. 31. P. 57-73 (in Eng.)
- [2] Saboki Ebrahim, K. Usha, Bhupinder Singh. Pathogenesis related (PR) proteins in plant defense mechanism. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. A. Méndez-Vilas (Ed.)*. 2011. Vol. 2(3). P. 1043-1054 (in Eng.)
- [3] Sharma V. Pathogenesis related defence functions of plant chitinases and β -1,3-glucanases. *Vegetos*. 2013. Vol. 26. P. 205-218 (in Eng.)
- [4] Collinge D.B., Kragh K.M., Mikkelsen J.D., Nielsen K.K., Rasmussen U. Vad K. Plant chitinases. *Plant J.* 1993. Vol. 3(1). P. 31-40 (in Eng.)
- [5] Kasprzewska A. Plant chitinases – regulation and function. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 2003. Vol. 8(3). P. 809-824 (in Eng.)
- [6] Sharma N., Sharma K.P., Gaur R.K., Gupta V.K. Role of chitinase in plant defense. *Asian J. Biochem.* 2011. Vol. 6(1). P. 29-37 (in Eng.)
- [7] Graham L.S., Sticklen M.B. Plant chitinases. *Can J. Bot.* 1994. Vol. 72(8). P. 1057-1083 (in Eng.)
- [8] Cohen-Kupiec R., Chet I. The molecular biology of chitin digestion. *Curr. Opin. Biotechnol.* 1998. Vol. 9. P. 270-277 (in Eng.)
- [9] Neuhaus J.M. Plant chitinases (PR-3, PR-4, PR-8, PR-11). In: Datta S.K., Mathukrishnan S., eds. Pathogenesis related proteins in plants. *CRC Press, Boca Raton, Fl.* 1999. P. 77-105 (in Eng.)
- [10] Van Loon L.C., Rep M., Pieterse C.M.J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2006. Vol. 44. P. 135-162 (in Eng.)
- [11] Broekaert W.F., Van Parijs J., Allen A.K., Peumans W.J. Comparison of some molecular, enzymatic and antifungal properties of chitinases from thorn-apple, tobacco and wheat. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 1988. Vol. 33. P. 319-331 (in Eng.)
- [12] Schlumbaum A., Mauch F., Vogeli U., Boller T. Plant chitinases are potent inhibitors of fungal growth. *Nature*. 1986. Vol. 324. P. 365-367 (in Eng.)
- [13] Neuhaus J.M., Fritig B., Linthorst H.J.M., Meins F., Mikkelsen J.D., Ryals J. A revised nomenclature for chitinase genes. *Plant Mol. Biol. Reporter*. 1996. Vol. 14. P. 102-104 (in Eng.)
- [14] Barber M.S., Bertram R.E., Ride J.P. Chitin oligosaccharides elicit lignifications in wounded wheat leaves. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 1989. Vol. 34. P. 3-12 (in Eng.)
- [15] Mauch F., Staehelin L.A. Functional implication of the subcellular localization of ethylene-induced chitinase and β -1,3-glucanase in bean leaves. *Plant Cell*. 1989. Vol. 1. P. 447-457 (in Eng.)
- [16] Dyachok J.V., Wiweger M., Kenne L., Von Arnold S. Endogenous Nod-factor-like signal molecules promote early somatic embryo development in Norway spruce. *Plant Physiol.* 2002. Vol. 128. P. 523-533 (in Eng.)
- [17] Beerhues L., Kombrink E. Primary structure and expression of mRNAs encoding basic chitinase and 1,3- β -glucanase in potato. *Plant Mol. Biol.* 1994. Vol. 24. P. 353-367 (in Eng.)
- [18] Schroder M., Hahlbrock K., Kombrink E. Temporal and spatial patterns of 1,3- β -glucanase and chitinase induction in potato leaves infected by *Phytophthora infestans*. *Plant J.* 1992. Vol. 2. P. 161-172 (in Eng.)
- [19] Broglie K., Chet I., Holliday M., Cressman R., Biddle P., Knowlton S., Mauvais C.J., Broglie R. Transgenic plants with enhanced resistance to the fungal pathogen *Rhizoctonia solani*. *Science*. 1991. Vol. 254. P. 1194-1197 (in Eng.)
- [20] Neuhaus J.M., Ahl-Goy P., Hint U., Flores S., Meins F. High-level expression of a tobacco chitinase gene in *Nicotiana glauca*. Susceptibility of transgenic plants to *Cercospora nicotianae* infection. *Plant Mol. Biol.* 1991. Vol. 16(1). P. 141-151 (in Eng.)
- [21] Fink W., Liefland M., Mendgen K. Chitinases and β -1,3-glucanases in the apoplastic compartment of oat leaves (*Avena sativa* L.). *Plant Physiol.* 1988. Vol. 88. P. 270-275 (in Eng.)
- [22] Trudel J., Asselin A. Detection of chitinase activity after polyacrylamide gel electrophoresis. *Anal. Biochem.* 1989. Vol. 178. P. 362-366 (in Eng.)
- [23] Rohringer R., Ebrahim-Nesbat F., Wolf G. Proteins in intercellular washing fluids from leaves of barley (*Hordeum vulgare* L.). *J. Exp. Bot.* 1983. Vol. 34. P. 1589-1605 (in Eng.)
- [24] Dušková J., Tishchenko G., Ponomareva E., Šimůnek J., Koppová I., Skálová T., Štěpánková A., Hašek J., Dohnálek J. Chitinolytic enzymes from bacterium inhabiting human gastrointestinal tract – critical parameters of protein isolation from anaerobic culture. *Acta Biochim. Polonica*. 2011. Vol. 58(2). P. 261-263 (in Eng.)
- [25] Sørensen H.P., Madsen L.S., Petersen J., Andersen J.T., Hansen A.M., Beck H.C. Oat (*Avena sativa*) seed extract as an antifungal food preservative through the catalytic activity of a highly abundant class I chitinase. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2010. Vol. 160. P. 1573-1584 (in Eng.)
- [26] Jitonnom J., Lee V.S., Nimmanpipug P., Rowlands H.A., Mulholl A.J. Quantum mechanics/molecular mechanics modeling of substrate assisted catalysis in family 18 chitinases: conformational changes and the role of Asp142 in catalysis in ChiB. *Biochemistry*. 2011. Vol. 50. P. 4697-4711 (in Eng.)
- [27] Sela-Buurlage M.B., Ponstein A.S., Bres-Vloemans S.A., Melchers L.S., Van Den Elzen P.J.M., Cornelissen B.J.C. Only specific tobacco (*Nicotiana tabacum*) chitinases and β -1,3-glucanases exhibit antifungal activity. *Plant Physiol.* 1993. Vol. 101. P. 857-863 (in Eng.)
- [28] Kombrink E., Schroder M., Hahlbrock K. Several pathogenesis-related proteins in potato are 1,3- β -glucanases and chitinases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1988. Vol. 85. P. 782-786 (in Eng.)

О. А. Сапко, О. В. Чебоненко, А. К. Тұрсынова, А. О. Абайлдаев,
Ж. Д. Бескемпірова, Б. Тілеген, Ю. М. Дё, А. Ш. Отарбаева

ҚР БҒМ ҒК «М. Ә. Айтқожин атындағы Молекулалық биология және биохимия институты»,
Алматы, Қазақстан

КАРТОБЫ ХИТИНАЗАСЫНЫҢ ИЗОФЕРМЕНТТІК ҚҰРАМЫ МЕН КЕЙБІР ҚАСИЕТТЕРІ

Аннотация. Хитиназалар (ЕС 3.2.1.14) PR-ақуыздар тобына жатады және патогендік шабуыл және басқа стрестік жағдайларда өсімдіктердің қорғаныс механизмінің маңызды компоненті болып табылады. Белсенді зерттеулер мен жетістіктерге қарамастан, өсімдіктердің қалыпты метаболизміндегі хитиназаның рөлі анықталмаған болып қалады. Зерттеудің мақсаты *Solanum tuberosum* картобы хитиназасының изоферменттік құрамы, локализациясы және кейбір физико-химиялық қасиеттерін зерттеу болды. Хитиназаның конститутивті белсенділігі мен полиморфизмінің айтарлықтай деңгейі анықталды. Ферменттің түрлі изоформаларының локализация арнайылығы көрсетілген. Жасушадан тыс хитиназалар қышқылдық (pI 3,5–4,4) және сілтілік (pI 8,2–7,5) изоформалармен көрінетіндігі анықталды. Арнайы аффиндік сорбентті қолдану арқылы көбіне жасуша ішінде локализован құрамы хитин-байланыстырушы доменнен (pI 8,7; 8,0; 6,5 и 5,8) тұратын изоферменттер көрсетілген. Жасушааралық кеңістікпен қатар жасуша ішінде де локализован қышқылдық ИЭН-ге ие (3,5–5,1) картоп экзохитиназалары идентификацияланған. Хитиназа изоформаларының термотұрақтылығы анықталған. Термоллабильділігі жоғары болып қышқылды апопластты экзохитиназалар (pI 3,5–4,4) жатқызылды. Максималды термотұрақтылығымен жасушаішілік сілтілі изоформалар (pI 8,7–8,2) сипатталды. Алынған мәліметтерді *S.tuberosum*-ның патогендер мен басқа стрестік жағдайларға төзімділігінің ферментативті маркерлерін идентификациялауда қолдануға болады.

Түйін сөздер: *Solanum tuberosum*, хитиназа, изоферменттер, локализация, экзохитиназа, хитин-байланыстырушы домен.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 127 – 135

I. E. Smirnova, A. M. Nurmuhambetova, A. Zh. Sultanova

Institute of Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: iesmirnova@mail.ru

**THE EFFECT OF ASSOCIATIONS
OF AGRONOMICAL VALUABLE MICROORGANISMS
TO THE PLANTS OF PASTURE PHYTOCENOSIS**

Abstract. At the present time in Kazakhstan, as in the whole the world, much of the pasture ecosystem is seriously degraded. As a result of anthropogenic impact, pasture phytocenosis is severely depleted and does not meet requirements of pasture livestock. One of the most promising decisions of degraded pasture phytocenosis is biological or organic farming. Organic farming is based on the use of associations of agronomical valuable microorganisms (EM Association). It is well known that EM Association has a protective and stimulating effect to the plants, increasing their productivity and improving the quality of food products. When introducing EM Associations into the soil, they enrich soil readily available nutrition substrates, making it more fertile and supply plants with necessary biologically active substances (enzymes, vitamins, amino acids, etc.). We will plan the use of EM Associations for restore degraded pasture phytocenosis. In this connection, the aim of this study is to investigate the phytotoxicity of the EM Associations to the plants, the research of their effect on the main pasture's meadow grasses and selection of the most perspective EM Associations for restoration of degraded pastures phytocenosis. The study of phytotoxicity EM Associations to the plants showed their complete absence. The research of the effect of EM Associations to the pasture's meadow grasses of the phytocenosis showed their high positive effect. Application of EM Associations increases the length stem and root of the meadow grasses to 2.0-3.0 times, yield of green mass - to 2.0-2.2 times, and the crude protein content in dry weight of the plants - to 1,5-1,7 times. Four perspective EM Associations were selected. At the present time these EM Associations are tested under field conditions in the Almaty region.

Keywords: association of agronomical valuable microorganisms (EM Association), meadow grasses, phytocenosis, growth stimulation, pastures, soil degradation.

УДК 579.64

И. Э. Смирнова, А. М. Нурмуханбетова, А. Ж. Султанова

Институт микробиологии и вирусологии, Алматы, Казахстан

**ВЛИЯНИЕ АССОЦИАЦИЙ АГРОНОМИЧЕСКИ
ЦЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ
НА РАСТЕНИЯ ПАСТБИЩНЫХ ФИТОЦЕНОЗОВ**

Аннотация. В настоящее время в Казахстане, как и во всем мире, большая часть пастбищных экосистем серьезно нарушена. Фитоценоз, определяющий продуктивность многолетних пастбищ, в результате антропогенного влияния сильно истощен и не отвечает требованиям пастбищного животноводства. Одним из наиболее перспективных решений восстановления фитоценоза деградированных пастбищ является биологическое или органическое земледелие, которое основывается на применении ассоциаций агрономически ценных микроорганизмов (ЭМ-ассоциации). Известно, что ЭМ-ассоциации обладают защитно-стимулирующим действием по отношению к растениям, повышают урожайность и улучшают качество конечной продукции. При

внесении их в почву они обогащают ее легкодоступными элементами питания, делают почву более плодородной и поставляют растениям необходимые биологически активные вещества (ферменты, витамины, аминокислоты и пр.). Для восстановления деградированных фитоценозов пастбищ нами планируется применение ЭМ-ассоциаций. В этой связи, целью данного исследования было изучение фитотоксичности ЭМ-ассоциаций по отношению к высшим растениям, исследование их влияния на основные луговые травы пастбищ и отбор наиболее перспективных для восстановления фитоценозов деградированных пастбищных. Изучение фитотоксичности ЭМ-ассоциаций по отношению к высшим растениям показало полное отсутствие фитотоксичности. Исследование влияние ЭМ-ассоциаций на развитие луговых трав пастбищного фитоценоза выявило высокий положительный эффект. При применении ЭМ-ассоциаций длина стебля и корня луговых трав увеличилась в 2,0-3,0 раза, урожайность зеленой массы трав – в 2,0-2,2 раза, содержание сырого протеина в сухой массе растений – в 1,5-1,7 раза. Отобрано четыре наиболее перспективных ЭМ-ассоциаций. В настоящее время ЭМ-ассоциации проходят полевые испытания в Алматинской области.

Ключевые слова: ассоциация агрономически ценных микроорганизмов (ЭМ-ассоциации), луговые травы, фитоценоз, деградация почв, пастбища, ростостимулирующая способность.

Введение. Исторически и традиционно Республика Казахстан является территорией пастбищного животноводства. Эта отрасль сельского хозяйства приносит стране значительное количество мяса и шерсти. Благополучие и развитие пастбищного животноводства всецело определяется состоянием и продуктивностью природных пастбищ. Почвенный покров Казахстана отличается от почв других стран низкой устойчивостью к антропогенным нагрузкам и подверженностью к процессам деградации и опустынивания [1].

В настоящее время как в Республике, так и во всем мире большая часть пастбищных экосистем серьезно нарушена, ряд ценных кормовых трав исчезли или стали редкими, почвы сильно истощены. Фитоценоз, определяющий продуктивность многолетних пастбищ, в результате антропогенного влияния сильно истощен, существующий ассортимент многолетних трав не отвечает требованиям пастбищного животноводства [2, 3]. Особенно выраженное проявление деградации растительности наблюдается вокруг колодцев, где сокращается видовой состав и происходит замена поедаемых трав на непоедаемые [4, 5]. Нарушенные фитоценозы не устойчивы к процессам эрозии и опустынивания земель, что также отрицательно сказывается на состоянии пастбищ [6, 7]. Потери гумуса в них составляют 25-30% и они не восполняются. Ветровой эрозии подвержены 60% пастбищных земель, более 50% почв в той или иной степени засолены [8-10]. Все эти негативные процессы вызывают обеднение биоразнообразия, снижение продуктивности природных пастбищных экосистем и, как следствие, ухудшение кормовой базы пастбищного животноводства и качества жизни населения [11-13].

Одним из наиболее перспективных решений восстановления деградированных пастбищ является биологическое или органическое земледелие, при котором решающим становится поддержание почвы в биологически активном состоянии, обеспечивающем ее плодородие. Биологическое земледелие основывается на использовании восстановительного потенциала микроорганизмов, являющихся главным экологическим фактором почвообразования, и состоит в применении ассоциаций агрономически ценных микроорганизмов (ЭМ-ассоциации) [14-16]. При этом не применяются минеральные удобрения, пестициды и другие химические средства, продукция становится экологически чистой и безопасной для человека и сельскохозяйственных животных [17-19].

ЭМ-ассоциации представляют многовидовую, полифункциональную композицию или искусственно созданное сообщество микроорганизмов (ЭМ-микроорганизмы). В основном в их состав входят азотфиксирующие, фосфатмобилизующие, целлюлолитические и силикатные группы микроорганизмов. Именно эти группы создают основу плодородия почв, их присутствие в микрофлоре почв определяет нормальный состав микробоценоза плодородной почвы.

Установлено, что ЭМ-ассоциации обладают защитно-стимулирующим действием на растения, повышают урожайность и улучшают качество конечной продукции. При внесении их в почву они обогащают ее легкодоступными элементами питания, делают почву плодородной и поставляют растениям необходимые продукты своей жизнедеятельности (ферменты, витамины, аминокислоты и пр.) [20-23].

Поскольку нами планируется практическое применение ЭМ-ассоциаций для восстановления фитоценозов деградированных пастбищ, необходимо установить наличие или отсутствие их

фитотоксичности по отношению к высшим растениям, изучить их влияние на основные луговые травы пастбищ и провести отбор наиболее перспективных ЭМ-ассоциаций для восстановления продуктивности деградированных пастбищных фитоценозов. Это и послужило целью данного исследования.

Методы исследований. Объектами исследования служили азотфиксирующие, фосфатмобилизирующие и целлюлолитические бактерии, выделенные из высокопродуктивных почв пастбищ Алматинской, Кызылординской и Южно-Казахстанской областей Казахстана. Сбор почвенных образцов для выделения бактерий проводили в соответствии с методическими рекомендациями [24].

Культивирование микроорганизмов проводили в жидких средах на качалке при скорости 180 об/мин и на твердых питательных средах. Азотфиксирующие бактерии культивировали на средах Эшби, №79, фосфатмобилизирующие – на среде Муромцева и NBRIP, целлюлолитические на среде Гетчинсона [25-29].

Для изучения фитотоксичности штаммов бактерий по отношению к высшим растениям использовали методику Петухова и др. [30].

Модельные лабораторные опыты по влиянию ЭМ-ассоциаций на развитие луговых трав проводили в климатической камере (Constant Climate Chamber HPP-750, «Memmert», Germany). Параметры влажности, освещенности и температуры в камере соответствовали усредненным показателям весеннего периода года Алматинской области Казахстана. В качестве посевного материала использовали семена основных луговых трав естественных высокопродуктивных пастбищ Алматинской области Казахстана. В состав травосмеси входили злаковые травы: тимофеевка луговая (*Phleum pratense L.*), овсяница луговая (*Festuca pratensis L.*), райграсс многолетний (*Lolium perenne L.*) и бобовые: донник желтый (*Melilotus officinalis L.*) и люцерна синяя (*Medicago sativa L.*).

Для инокуляции семян использовали бактериальные суспензии ассоциаций с титром 10^6 – 10^7 кл/мл. Обработанные семена высевали в вегетационные сосуды объемом 250 мл. Количество семян составляло 10 г на сосуд. В опытах использовали почву, собранную на деградированных пастбищах в Илийском районе Алматинской области. Длительность опытов составляла 30 суток. Контролем служили необработанные семена. Повторность опытов была 5-ти кратная.

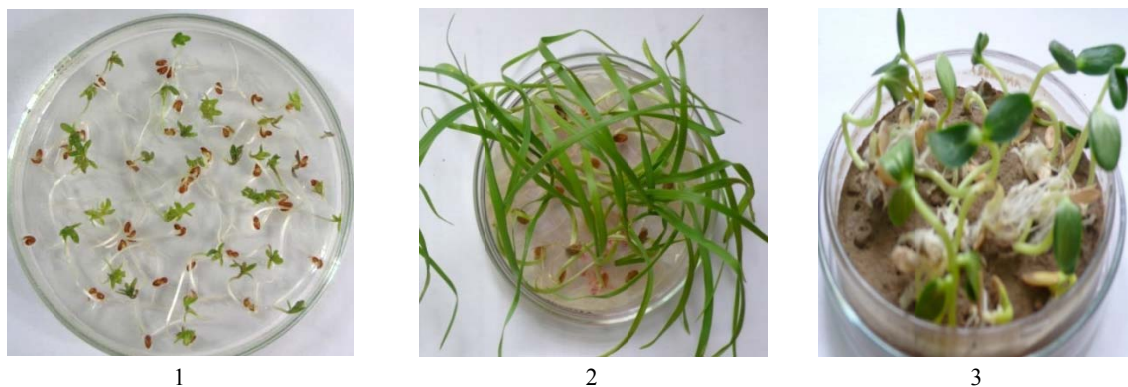
Общий азот и сырой протеин в растениях определяли на приборе Turbotherm TT125M («Gerhardt», Germany) в соответствии с протоколом, прилагаемом к прибору.

При статистической обработке результатов находили средние геометрические логарифмы при основании два [31] с помощью программного обеспечения «Microsoft Excel 97».

Результаты исследований. Ранее из почв высокопродуктивных естественных пастбищ Алматинской, Южно-Казахстанской и Кызылординской областей Казахстана были выделены аборигенные эффективные микроорганизмы (ЭМ) и создана их коллекция. Для разработки ЭМ-ассоциаций из коллекции были отобраны штаммы, относящиеся к различным физиологическим группам бактерий: фосфатмобилизирующие, целлюлолитические и свободноживущие азотфиксирующие бактерии. Критерием отбора служила высокая биологическая активность штаммов и наличие у них производственно-ценных показателей (повышенное накопление биомассы, высокая популяционная устойчивость).

В результате проведенной работы было отобрано 9 штаммов бактерий – три штамма азотфиксирующих (Azp6, Azp22, Azp24), три штамма фосфатмобилизирующих (Ф12, Ф7А, Ф22) и три штамма целлюлолитических бактерий (21(8), 82, 22TN). Штаммы характеризовались отсутствием антагонизма по отношению друг к другу, высокой азотфиксирующей, целлюлазной и фосфатмобилизирующей активностью, а также повышенным накоплением биомассы. Их них было создано 84 различных варианта ассоциаций с разным соотношением и различным сочетанием штаммов бактерий. Для дальнейшей работы было отобрано восемь наиболее эффективных ЭМ-ассоциаций.

Фитотоксичность ЭМ-ассоциаций исследовали по методике Петухова и др. [29]. Семена тест-культур растений обрабатывали клеточной суспензией бактерий ЭМ-ассоциаций и высевали в чашки Петри на среду Ковровцева и в почву. В качестве тест-культур растений использовали семена однодольных (пшеница) и двудольных (кресс-салат, огурцы) растений. На рисунке 1 показано влияние ЭМ-ассоциаций на тест-культуры растений.

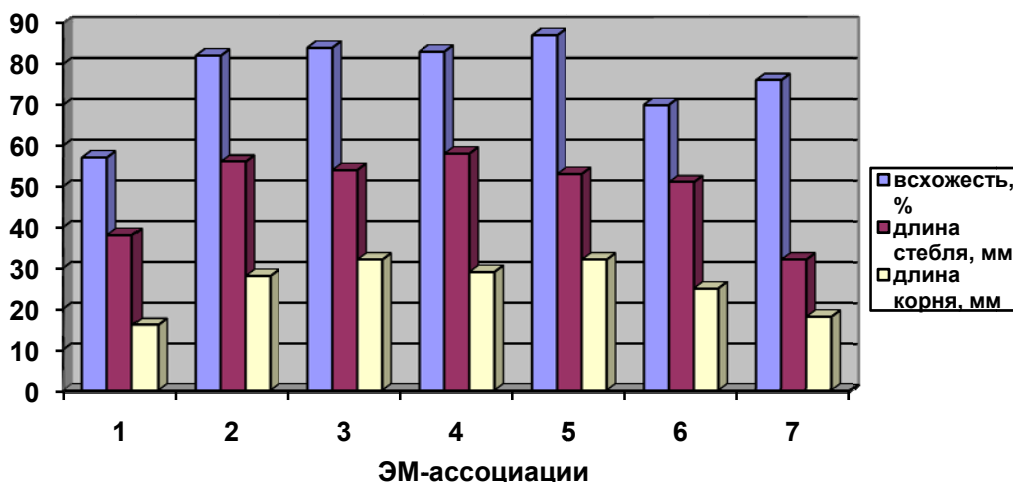


1 – обработка семян кресс-салата (1), пшеницы (2) и огурцов ЭМ-ассоциацией № 32.

Рисунок 1 – Отсутствие фитотоксичности ЭМ-ассоциации по отношению к растениям

В результате проведенных исследований установлено полное отсутствие фитотоксичности у исследуемых ЭМ-ассоциаций, ни в одном из вариантов опытов не наблюдали подавление роста и развития проростков растений. В то же время, практически во всех вариантах опыта отмечали стимулирующее влияние ЭМ-ассоциаций на всхожесть и развитие проростков растений.

На рисунке 2 приведены данные по влиянию ЭМ-ассоциаций на всхожесть семян, рост и развитие проростков огурцов.



1 – контроль; 2-7 – ЭМ-ассоциации (слева на право: № 11, 28, 32, 47, 56, 59, 66)

Рисунок 2 – Стимулирующее влияние ЭМ-ассоциаций на всхожесть семян и рост проростков огурцов

На рисунке 2 видно стимулирующее влияние ЭМ-ассоциаций на всхожесть семян и рост проростков огурцов. Установлено, что исследуемые ЭМ-ассоциации повышали всхожесть семян в среднем на 12-16%, увеличивали длину стебля на 34-35%, длину корней – на 31-84% по сравнению с контролем. Аналогичные результаты были получены и для других тест-культур растений.

С целью отбора наиболее перспективных ЭМ-ассоциаций были проведены лабораторные модельные опыты по изучению их влияния на основные луговые травы. В опытах использовали почву деградированных пастбищ Алматинской области. В качестве посевного материала были взяты семена злаковых луговых трав (тимфеевка, овсяница, райграс и мятлик), также бобовых растений (донник, люцерна). Перед посадкой семена обрабатывали бактериальными суспензиями ЭМ-ассоциаций с определенным титром и затем высевали в вегетационные сосуды с почвой. Эксперименты проводили в климатической камере, длительность эксперимента составляла 30 суток. В качестве контроля использовали семена без обработки.

В таблице 1 приведены данные по влиянию ЭМ-ассоциаций на биометрические показатели роста луговых трав и их урожайность.

Таблица 1 – Влияние ЭМ-ассоциаций на биометрические показатели и урожайность луговых трав

Варианты опыта	Средняя длина стебля, см	Средняя длина корня, см	Вес сухой массы растения, г	Урожайность зеленой массы, г/сосуд
Контроль	5,6±0,08	2,2±0,1	0,2±0,01	8,1±0,1
Ассоциация №11	10,3±0,1	4,7±0,2	0,4±0,01	17,5±0,3
Ассоциация №28	11,1±0,2	5,4±0,1	0,5±0,02	16,8±0,2
Ассоциация №32	11,0±0,1	6,8±0,2	0,5±0,03	16,6±0,2
Ассоциация №47	11,4±0,2	4,3±0,1	0,5±0,01	15,4±0,1
Ассоциация №56	9,0±0,1	4,6±0,2	0,4±0,01	14,5±0,1
Ассоциация №59	10,1±0,1	3,9±0,1	0,3±0,02	14,8±0,1
Ассоциация №66	10,0±0,1	3,6±0,1	0,3±0,01	13,4±0,1
Ассоциация №62	9,6±0,1	4,0±0,1	0,3±0,01	14,5±0,1

Примечание. Уровень доверительной вероятности $p \leq 0,05$.

Из результатов таблицы 1 видно, что обработка семян ЭМ-ассоциациями оказывает высокое стимулирующее влияние на рост и развитие луговых трав. При этом длина стебля растений увеличилась в 1,6-2,0 раза, корня – в 1,8-3,1 раза, сухая масса одного растения – в 1,5-2,5 раза, а урожайность зеленой массы растений возросла в 1,7-2,2 раза по сравнению с контрольным вариантом. По результатам исследований отобрано четыре ЭМ-ассоциации (№11, 28, 32 и 47), оказывающие наиболее высокое положительное влияние на развитие и урожайность луговых трав. При обработке семян этими ЭМ-ассоциациями, урожайность зеленой массы трав увеличилась в 2,0-2,2 раза по сравнению с контролем. Визуальные наблюдения выявили заметные различия в вариантах опыта и контроля. Растения, выращенные с использованием этих ЭМ-ассоциаций, выглядели более крепкими, характеризовались темно-зеленой окраской и значительно большей площадью листовой пластинки, чем растения контрольного варианта.

Для оценки качества травостоя и пищевой ценности луговых трав пастбищ важным показателем является содержание азота в растениях. Были проведены исследования по влиянию ЭМ-ассоциаций на накопление азота и белка в растениях.

Для этого в лабораторных условиях были поставлены модельные опыты. В качестве ассоциаций использовали три ЭМ-ассоциации (№ 11, 28, 32), ранее показавшие наиболее высокие результаты по ростостимулирующему влиянию на луговые травы. Семена перед посадкой обрабатывали, как описано выше, и высевали в вегетационные сосуды с почвой деградированных пастбищ, которые помещали в климатическую камеру. После 20 суток опыта растения промывали от почвы, высушивали до сухого веса и определяли накопление общего азота и сырого протеина. В качестве контроля использовали растения без обработки ассоциациями.

В таблице 2 приведены результаты влияния ЭМ-ассоциаций на изменение содержания азота и сырого протеина в растениях.

Таблица 2 – Влияние ЭМ-ассоциаций на содержание белка и азота в сухой биомассе растений

Варианты опыта	Азот, %	Сырой протеин, % АСВ
Контроль (без обработки)	0,11±0,001	0,69±0,001
Ассоциация №11	0,16±0,002	1,03±0,001
Ассоциация №28	0,17±0,002	1,06±0,003
Ассоциация №32	0,19±0,003	1,20±0,004

Примечание. Уровень доверительной вероятности $p \leq 0,01$.

Из данных таблицы 2 следует, что при обработке семян ЭМ-ассоциациями количество азота и содержание сырого протеина в сухой массе растений увеличилось в 1,5-1,7 раза. Наиболее высокое накопление азота и сырого протеина в растениях отмечали в варианте, где семена обрабатывали ЭМ-ассоциацией №32.

Обсуждение результатов

Применение ЭМ-ассоциаций для повышения плодородия истощенных и нарушенных почв основано на интродукции эффективных микроорганизмов (ЭМ-микроорганизмов) в виде суспензии клеток. В состав ЭМ-ассоциаций включают основные группы микроорганизмов (азотфиксирующие, целлюлолитические и фосфатмобилизующие), которые выполняют почво-восстановительную функцию. Эти микроорганизмы способны фиксировать молекулярный азот атмосферы, переводить труднодоступные соединения азота, фосфора и калия в легкодоступные для растений формы. Также они продуцируют фитогормоны, витамины, органические кислоты, антибиотики и другие биологически активные вещества, положительно влияющие на фитоценозы деградированных почв. Кроме того, внесение ЭМ-ассоциаций в почву значительно повышает активность биологических процессов, способствует восстановлению и сохранению плодородия почв.

Несмотря на значительный интерес исследователей к вопросу о влиянии ЭМ-ассоциаций на плодородие почв, в литературе крайне мало сведений о применении ЭМ-ассоциаций для восстановления агрофитоценозов. Нами планируется применение ЭМ-ассоциаций для восстановления фитоценозов деградированных пастбищ. В этой связи необходимо было провести изучение фитотоксичности ЭМ-ассоциаций по отношению к высшим растениям, изучить их влияние на основные луговые травы пастбищного фитоценоза и провести отбор наиболее перспективных.

Из почв высокопродуктивных естественных пастбищ были выделены аборигенные агрономически ценные микроорганизмы (ЭМ) и создана их коллекция. Для разработки ЭМ-ассоциаций из коллекции было отобрано девять штаммов бактерий – три штамма азотфиксирующих (Azp6, Azp22, Azp24), три штамма фосфатмобилизирующих (Ф12, Ф7А, Ф22) и три штамма целлюлолитических бактерий (21(8), 82, 22ТН). Критерием отбора служила высокая биологическая активность штаммов и наличие у них высоких производственно-ценных показателей. Из этих штаммов было создано 84 различных варианта ассоциаций с разным соотношением и различным сочетанием групп бактерий. Для дальнейшей работы было отобрано восемь наиболее эффективных.

При практическом использовании ЭМ-ассоциаций очень важно изучить их влияние на растения и отобрать ассоциации, которые не обладают фитотоксичностью по отношению к двудольным и однодольным высшим растениям. В результате проведенных исследований установлено отсутствие фитотоксичности у всех исследуемых ЭМ-ассоциаций по отношению к тест-культурам растений.

Изучение влияния ЭМ-ассоциаций на развитие трав пастбищного фитоценоза показало, что обработка семян луговых трав ЭМ-ассоциациями оказывает стимулирующее влияние на их рост и развитие. При этом длина стебля и корня растений увеличилась в 2,0-3,0 раза, а урожайность зеленой массы трав в 2,0-2,2 раза по сравнению с контролем. Визуальные наблюдения выявили заметные различия в вариантах опыта и контроля. Растения, выращенные с использованием ЭМ-ассоциаций, выглядели более крепкими, характеризовались темно-зеленой окраской и значительно большей площадью листовой пластинки, чем растения контрольного варианта. Наличие ростостимулирующей активности по отношению к основным луговым травам пастбищного фитоценоза у исследуемых ЭМ-ассоциаций свидетельствует о способности штаммов, входящих в их состав, к фиксации молекулярного азота атмосферы, способности к улучшению фосфорного питания растений и синтезу биологически активных веществ.

Для оценки качества травостоя и пищевой ценности луговых трав пастбищ используется такой показатель, как содержание азота в растениях. В то же время, известно, что содержание свободного азота в почве очень мало (до 1 кг на 1 т почвы) и большая часть его входит в состав органических соединений недоступных для растений. Только за счет деятельности бактерий молекулярный азот атмосферы и органические соединения азота превращаются в минеральные – аммонийные соли, нитраты и нитриты, которые затем легко усваиваются растениями, что приводит к

снабжению растений дополнительным азотом. В этой связи было изучено влияние ЭМ-ассоциаций на содержание азота в растениях. Полученные результаты показали, что применение ЭМ-ассоциаций значительно повышает кормовую ценность луговых трав, количество азота и содержание сырого протеина в сухой массе растений возросло в 1,5-1,7 раза по сравнению с контролем. Это свидетельствует о том, что бактерии, входящие в состав ЭМ-ассоциаций способны переводить молекулярный азот атмосферы и органические соединения азота почвы в доступные для растений формы, то есть снабжать их дополнительным азотом. По результатам исследований отобрано четыре наиболее перспективных ЭМ-ассоциаций.

Результаты проведенных исследований показывают, что использование ЭМ-ассоциаций агрономически ценных микроорганизмов для восстановления фитоценозов деградированных пастбищ является весьма перспективным. Кроме того, их практическое применение отвечает требованиям биобезопасности и охраны окружающей среды, так микроорганизмы, входящие в состав ассоциаций, не обладают фитотоксичностью и являются аборигенными природными агентами, благоприятно влияющими на почвенные процессы. В настоящее время ЭМ-ассоциации проходят полевые испытания в Алматинской области.

Выводы. Из почв высокопродуктивных пастбищ Казахстана были выделены аборигенные агрономически ценные микроорганизмы (ЭМ) и создана их коллекция. На их основе было получено восемь эффективных ЭМ-ассоциаций. Изучение фитотоксичности ЭМ-ассоциаций по отношению к высшим растениям показало полное отсутствие фитотоксичности. Исследование влияние ЭМ-ассоциаций на развитие луговых трав пастбищного фитоценоза выявило высокий положительный эффект. При применении ЭМ-ассоциаций длина стебля и корня луговых трав увеличилась в 2,0-3,0 раза, урожайность зеленой массы трав – в 2,0-2,2 раза и содержание сырого протеина в сухой массе растений – в 1,5-1,7 раза. Отобрано четыре наиболее перспективных ЭМ-ассоциаций. В настоящее время ЭМ-ассоциации проходят полевые испытания в Алматинской области.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Крыгин В. Казахстан: Необходимо повышать плодородие почвы. – 2014. – <http://kazakhstan.zerno.kz/novosti/agrarnye-novosti-kazakhstan/207665-kazakhstan-neobkhodimo-povyshat-plodorodie-pochvy> 10.06.2014.
- [2] Сыдык Д.А. Ресурсосберегающие технологии возделывания сельскохозяйственных культур на юге Казахстана. Шымкент: Жебе-дизайн, 2009. – 156 с.
- [3] Кузьмин Т.В., Трешкин С. Е., Мамутов Н.К. Результаты опытного формирования естественной растительности на засоленных землях обсыхающего дна Аральского моря // Аридные экосистемы. – 2006. – № 12(29). – С. 27-40.
- [4] Angassa A., Oba G. Effect of grazing pressure, age of enclosures and seasonality on bush cover dynamics and vegetation composition in Southern Ethiopia // J. Arid. Environ. – 2010. – N 74(8). P. 111-120.
- [5] Сухарев Ю.И. Подбор фитомелиорантов для восстановления деградированных пастбищ Калмыкии // Природообустройство. – 2011. – № 5. – С. 25-31.
- [6] Ahmad S., Islam M., Sarwat N.M. Rangeland degradation and management approaches in Balochistan, Pakistan // Pak. J. Bot. – 2012. N 44. P. 127-136.
- [7] Добровольский Г.В. и др. Деградация и охрана почв. – М.: Мир, 2002. – 360 с.
- [8] Зайдельман Ф.Р. () Мелиорация почв. – М.: МГУ, 2006. – 87 с.
- [9] Ходжаева А.К. и др. Диагностика биологических свойств почвы при органической и традиционной системе земледелия // Агрохимия. – 2010. – № 5. – С. 3-12.
- [10] Kunzer M., Kelgenbaeva K., Khasankhanova G. ADB CACILM SLMIS. Regional GIS Datasets for Central Asia. Soils. – Bishkek, 2010. – 296 p.
- [11] Squires V.R. Rangeland stewardship in Central Asia: balancing improved livelihoods, biodiversity conservation and land protection. Springer Science&Business Media. – New York; London, 2012. – 547 p.
- [12] Абсеитов А.К. Центральная Азия: концепции, методология и новые подходы // Матер. междунар. науч. конф. по развитию сельскохозяйственных наук в Центральной Азии. – Алматы: Дайк-Пресс, 2012. – С. 21-25.
- [13] Лебедь Л.В., Беленкова З.С. Методические указания по оценке и прогнозу урожайности природных кормовых угодий Казахстана. Алматы: Бастау, 2005. – 30 с.
- [14] Афанасьев Е.Н., Афанасьев Н.Е., Тюменцева И.С. Эффективные микроорганизмы в сельскохозяйственном производстве // Матер. Междунар. науч-практ. конф. Животноводство - продовольственная безопасность страны. – Ставрополь, 2006. – С. 101-104.
- [15] Higa T., James F.P. Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment. Atami, 1994. – 140 p.
- [16] Condor A.F., Gonzalez P.P., Lokare C. Effective Microorganisms: Myth or reality? // Rev. peru. boil. – 2007. – N 14(2). – P. 315-319.
- [17] Javaid T., Hussain T., Jilani G., Abbas M.A. Research and extension activities for the development of EM-Technology in Pakistan // Proc. 4-th Conf. on Effective Microorganisms (EM). – Saraburi, 1995. – P. 119-131.

- [18] Yamada K. et al. Investigation on the properties of EM - Bokashi and Development of its application technology // 11-th IFOAM Intl. Scientific Conf. Copenhagen. – 1996. – P. 1112-1118.
- [19] Sharifuddin H.A. et al. Nature farming research in Malaysia: effect of organic amendment and EM on crop production // Proc. 7-rd Int. Conf. on Kyusei Nature Farming. – Santa Barbara, 2003. – P. 145-150.
- [20] Jamal T., Hasruman H., Anwer A.R., Saad M.S., Shariffuddin H.A. Effect of EM and fertilization on soil physical properties under sweet potato cultivation // Paper presented at the 14-th EM-Technology Conf. – Saraburi, 2013. – P. 295-302.
- [21] Yan Pei-Sheng, Xu Hui-Lian. Influence of EM Bokashi on Nodulation, Physiological Characters and Yield of Peanut in Nature Farming Fields // J. Sust. Agr. – 2002. – N 19(4). – P. 105-112.
- [22] Tokeshi H., Jorge M.J.A., Sanches A.B., Harada D.Y. Interaction between microorganisms, soil physical structure and plant diseases // Paper presented at the 14-th EM-Technology Conf. – Saraburi, 2007. – P. 234-239.
- [23] Mayer J., Scheid S., Widmer F., Fliebach A., Oberholzer H.-R. How effective are Effective microorganisms (EM). Results from a field study in temperate climate // Appl. Soil. Ecol. – 2010. – N 46(2). – P. 230-239.
- [24] Методы микробиологического контроля почвы и вод. Методические рекомендации ГосЭпиднадзора РФ от 24 декабря 2004 г. N ФЦ/4022 (Д). – М.: Госиздат. – 89 с.
- [25] Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. – М.: МГУ, 1991. – 304 с.
- [26] Егоров Н.С. Практикум по микробиологии. М.: МГУ, 1976. – 307 с.
- [27] Ившина И.Б. Большой практикум по микробиологии. СПб.: Проспект Науки, 2014. – 112 с.
- [28] Carter M.R., Gregorich E.G. Soil sampling and methods of analysis. – USA: CRC Press-Taylor & Francis Group, 2014. – 587 p.
- [29] Аристовская Т.В. и др. Большой практикум по микробиологии. – М.: Высшая школа, 2012. – 491 с.
- [30] Петухов В.Н., Фольченков В.М., Чугунов В.А., Холоденко В.П. () Биотестирование почвы и воды с помощью растений // Прикл. биох. и микроб. – 2000. – N 36(6). – P. 652-655.
- [31] Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. – М.: Наука, 1975. – 295 с.

REFERENCES

- [1] Krygin V. (2014) Kazakhstan: It is necessary to increase the fertility of the soil [Kazakhstan: Neobhodimo povyshat' plodorodie pochvy]:<http://kazakh-zerno.kz/novosti/agnarye-novosti-kazakhstana/207665-kazakhstan-neobkhodimo-povyshat-plodorodie>. Accessed 10. 06. 2014. (in Russ.).
- [2] Sydyk D.A. (2009) Resource-saving technologies of cultivation of crops in the South Kazakhstan [Resursosberegajushhie tehnologii vozdeljvanija sel'skohozjajstvennyh kul'tur na Juge Kazakhstana] Shimkent: Zhebe-dizajn. 156 p. (in Russ.).
- [3] Kuzmin T.V., Treshkin S.E., Mamutov N.K. (2006) The results of experimental formation of natural vegetation on saline lands of the Aral Sea dries [Rezultaty opytnogo formirovanija estestvennoj rastitel'nosti na zasolennyh zemljah obsyhajushhego dna Aral'skogo morja] *Arid ecosystems*. 12(29):27-40. (in Russ.).
- [4] Angassa A., Oba G. (2010) Effect of grazing pressure, age of enclosures and seasonality on bush cover dynamics and vegetation composition in Southern Ethiopia. *J. Arid. Environ.*, 74(8): 111–120. (in Eng.).
- [5] Suharev Y.I. (2011) Selection phytomeliorants to restore degraded pastures of Kalmykia. [Podbor fitomeliorantov dlja vosstanovlenija degradirovannyh pastbishh Kalmykii] *Env. Engin.*, 5:25-31. (in Russ.).
- [6] Ahmad S., Islam M., Sarwat N.M. (2012) Rangeland degradation and management approaches in Balochistan, Pakistan. *Pak. J. Bot.*, 44:127-136 (in Eng.).
- [7] Dobrovolsky G.V. et al. (2002) The degradation and soil protection [Degradacija i ohrana pochv] M.: Mir. 360 p. (in Russ.).
- [8] Zaydelman F.R. (2006) Soil melioration [Melioracija pochv] M.:MGU, 87 p. (in Russ.).
- [9] Hodzhaeva A.K. et al. (2010) Diagnosis of the biological properties of the soil with organic and traditional farming system. [Diagnostika biologicheskikh svojstv pochvy pri organicheskoj i tradicionnoj sisteme zemledelija] *Agrochem*. 5:3-12. (in Russ.).
- [10] Kunzer M., Kelgenbaeva K., Khasankhanova G. (2010) ADB CACILM SLMIS. Regional GIS Datasets for Central Asia. Soils. Bishkek. 296 p. (in Eng.).
- [11] Squires V.R. (2012) Rangeland stewardship in Central Asia: balancing improved livelihoods, biodiversity conservation and land protection. Springer Science & Business Media. New York-London. 547 p. (in Eng.).
- [12] Abseitov A.K. (2012) Central Asia: the concept, methodology and new approaches. Proc. Int. scient. Conf. on the development of agricultural sciences in Central Asia [Central'naja Azija: koncepcii, metodologija i novye podhody]. Proc. Int. sci. conf. on the development of agricultural sciences in Central Asia. Almaty: Dayk-Press. P.21-25. (in Russ.).
- [13] Lebed L.V., Belenkova Z.S. (2005) Guidelines for the assessment and forecast productivity of natural forage lands of Kazakhstan [Metodicheskie ukazanija po ocenke i prognozu urozhajnosti prirodnyh kormovyh ugodij Kazakhstana] Almaty:Bastau. 30 p. (in Russ.).
- [14] Afanasyev E.N., Afanasyev N.E., Tyumenceva I.S. (2006) Effective microorganisms in agricultural production [Jefektivnye mikroorganizmy v sel'skohozjajstvennom proizvodstve] Int. sci.-pract. conf. on livestock - food safety of the country. Stavropol. P.101-104. (in Russ.).
- [15] Higa T., James F.P. (1994) Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment. Atami. 140 p. (in Eng.).
- [16] Condor A.F., Gonzalez P.P., Lokare C (2007) Effective Microorganisms: Myth or reality? *Rev. Peru. boil.* 14(2), P. 315-319. (in Eng.).
- [17] Javaid T., Hussain T., Jilani G., Abbas M.A. (1995) Research and extension activities for the development of EM-Technology in Pakistan. Proc. 4-th Conf. on Effective Microorganisms (EM). Saraburi, P. 119-131. (in Eng.).
- [18] Yamada K. et al. (1996) Investigation on the properties of EM - Bokashi and Development of its application technology. 11-th IFOAM Intl. Scientific Conf. Copenhagen, P. 1112-1118. (in Eng.).

- [19] Sharifuddin H.A. et al. (2003) Nature farming research in Malaysia: effect of organic amendment and EM on crop production. Proc. 7-rd Int. Conf. on Kyusei Nature Farming. Santa Barbara. P. 145-150. (in Eng.).
- [20] Jamal T., Hasruman H., Anwer A.R., Saad M.S., Shariffuddin H.A. (2013) Effect of EM and fertilization on soil physical properties under sweet potato cultivation. Paper presented at the 14-th EM-Technology Conf. Saraburi, P. 295-302. (in Eng.).
- [21] Yan Pei-Sheng, Xu Hui-Lian (2002) Effect of EM Bokashi on Nodulation, Physiological Characters and Yield of Peanut in Nature Farming Fields. *J. Sust. Agr.* 19(4):P. 105-112. (in Eng.).
- [22] Tokeshi H., Jorge M.J.A. Sanches A.B., Harada D.Y. (2007) Interaction between microorganisms, soil physical structure and plant diseases. Paper presented at the 14-th EM- Technology Conf. Saraburi. P. 234-239. (in Eng.).
- [23] Mayer J., Scheid S., Widmer F., Fliebach A., Oberholzer H.-R. (2010) How effective are Effective microorganisms (EM). Results from a field study in temperate climate. *Appl. Soil. Ecol.* 46(2):230-239. (in Eng.).
- [24] Methods of microbiological control of soil and water. Guidelines of the State Epidemiological Surveillance of the Russian Federation (2004) [Metody mikrobiologicheskogo kontrolja pochvy i vody. Metodicheskie rekomendacii GosJepidnadzora RF] from 24.12.2004. N FC/4022 (D). M.: Gosizdat. 89 p. (in Russ.).
- [25] Zvyagincev D.G. (1991) Methods of Soil Microbiology and Biochemistry. [Metody pochvennoj mikrobiologii i biohimii] M.: MGU. 304 p. (in Russ.).
- [26] Egorov N.S. (1976) Practical works on microbiology [Praktikum po mikrobiologii] M.: MGU. 307 p. (in Russ.).
- [27] Ivshina I.B. (2014) Large practical works on microbiology [Bol'shoj praktikum po mikrobiologii]. SPb.: Prospekt Nauki. 112 p. (in Russ.).
- [28] Carter M.R., Gregorich E.G. (2014) Soil sampling and methods of analysis. USA: CRC Press-Taylor&Francis Group. 587 p. (in Eng.).
- [29] Aristovskaya T.V. et al. (2012) Large practical works on microbiology [Bol'shoj praktikum po mikrobiologii]. M.: Vysshaya shkola. 491 p. (in Russ.).
- [30] Petuhov V.N., Folchenkov V.M., Chugunov V.A., Holodenko V.P. (2000) The bioassay of soil and water by plants [Biotestirovanie pochvy i vody s pomoshh'ju rastenij] *Appl. Biochem. & Microbiol.* 36(6): 652-655. (in Russ.).
- [31] Urbah V.Y. (1975) Statistical analysis in biological and medical research [Statisticheskij analiz v biologicheskikh i medicinskih issledovaniyah] M.: Mir. 295 p. (in Russ.).

И. Э. Смирнова, А. М. Нурмуханбетова, А. Ж. Султанова

Микробиология және вирусология институты, Алматы, Қазақстан

АГРОНОМИЯЛЫҚ БАҒАЛЫ МИКРООРГАНИЗМДЕР ҚАУЫМДАСТЫҒЫНЫҢ ЖАЙЫЛЫМДЫҚ ФИТОЦЕНОЗ ӨСІМДІКТЕРІНЕ ӘСЕРІ

Аннотация. Қазіргі таңда бүкіл әлемдегі сияқты Қазақстанда да жайылым жерлердің көп бөлігінің экожүйесі қатты бүлінген. Көпжылдық жайылымдардың өнімділігін анықтайтын фитоценоз, антропогендік әсердің нәтижесінде қатты азғындаған, және мал шаруашылығының жайылымының талаптарына сай келмейді. Деградияланған жайылымдардың фитоценозын қалпына келтірудің ең перспективалы шешімдердің бірі болып биологиялық немесе органикалық егін шаруашылығы болып табылады, ол агрономиялық бағалы микроорганизмдердің қауымдастығын (ТМ-қауымдастығы) пайдаланумен негізделген. ТМ-қауымдастықтары өсімдіктерге қатысты қорғаныш-ынталандырғыш әсерге ие екені белгілі, олар өнімділікті ұлғайтады және түпкілікті өнімнің сапасын жақсартады. Оларды топыраққа енгізу нәтижесінде оны оңай жетімді қоректік элементтермен байытады, топырақты құнарландырады және өсімдікке керекті биологиялық белсенді заттарды жеткізеді (ферменттер, дәрумендер, аминқышқылдары және т.б.). Деградияланған жайылымдардың фитоценозын қалпына келтіру үшін ТМ-қауымдастығын пайдалануды жоспарлаудамыз. Бұл зерттеу жұмысының мақсаты жоғары сатылы өсімдіктерге ТМ-қауымдастығының фитотоксиндігін зерттеу, жайылымның негізгі шабындық шөптерге әсерін зерттеу және деградияланған жайылымның фитоценозын қалпына келтіру үшін ең перспективалы ТМ-қауымдастықарын іріктеп алу. ТМ-қауымдастығының жоғары сатылы өсімдіктерге қатысты фитотоксиндігін зерттеу нәтижесінде оның жоқтығы байқалды. Жайылымдық шабындық шөптердің фитоценозының дамуына ТМ-қауымдастығының әсерін зерттеу нәтижесінде жоғары оң нәтиже көрсететіндігі анықталды. ТМ-қауымдастығын пайдалану нәтижесінде шабындық шөптердің тамырлары мен сабағының ұзындығы 2,0-3,0 есеге, егін көгінің өнімділігі 2,0-2,2 есеге және өсімдіктердің құрғақ массасындағы шикі протеиннің мөлшері 1,5-1,7 есеге артқан. Ең перспективалы 4 ТМ-қауымдастығы іріктеп алынды. Қазіргі таңда ТМ-қауымдастықтары Алматы облысында далалық сынақтан өткізілуде.

Түйін сөздер: агрономиялық бағалы микроорганизмдер қауымдастығы (ТМ-қауымдастығы), шалғындық шөп, фитоценоз, топырақ деградиясы, жайылым, дамуын ынталандыратын қабілет.

Сведения об авторах:

Смирнова Ирина Эльевна – главный научный сотрудник лаборатории экологии микроорганизмов, доктор биологических наук, РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, iesmirnova@mail.ru

Нурмуханбетова Арай Муратовна – младший научный сотрудник лаборатории экологии микроорганизмов, РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК

Султанова Айша Женисбаевна – лаборант лаборатории экологии микроорганизмов, РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 136 – 143

A. C. Myrkasimova

National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic, Bishkek, Kyrgyzstan.

E-mail: donka_af@mail.ru

**HARMFULNESS OF CHAFER ROSE *Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)
AND GREEN CHAFER *Potosia aeruginosa* (Drury, 1770)
IN ALMATY CITY PARKS**

Abstract. This article discusses the bugs chafer rose (*Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)) and the green chafer (*Potosia aeruginosa* (Drury, 1770)) as pests of deciduous trees on the example in the district "Almagul" park. Their larvae are not pests. Pests are adult insects.

The topicality of this work lies in the fact that there is need to control the harmfulness of beetles chafer rose (*Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)) and the green chafer (*Potosia aeruginosa* (Drury, 1770)) and to study their biology. Due to their period of the abundance outbreak the beetles cause significant harm to deciduous tree plantings. This reduces their aesthetic qualities.

The main purpose of this work is to determine the percentage of damage by various deciduous trees pests chafer and the influence of climatic factors on their numbers.

The main results: the percentage of the trees leaf blades damage is calculated, the percentage of damage of inflicted beetles deciduous tree plantations is determined, the beetles' development phenocalendar is presented and the occurrence of pests' frequency in number is given.

Ensuing conclusions from the work results:

1. Various environmental factors influence the insect pests.
2. Climatic factors are decisive for the pests' development, increase and reduction.
3. The main limiting factor impacting on the beetles' low number is the high moisture level in Almaty due to rain and rainy period in spring and summer.

Keywords: chafer golden (*Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)) and the green chafer (*Potosia aeruginosa* (Drury, 1770)), pests, hardwood plantations, ecology, climatic factors, weather, oak, leaf plate, leaf blades.

УДК 695.768

A. C. Мыркасимова

Национальная академия наук Кыргызской Республики, Бишкек-Алматы, Кыргызстан

**ВРЕДНОСНОСТЬ БРОНЗОВКИ ЗОЛОТИСТОЙ
(*Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)) И БРОНЗОВКИ ЗЕЛЕННОЙ
(*Potosia aeruginosa* (Drury, 1770)) В ПАРКАХ ГОРОДА АЛМАТЫ**

Аннотация. Рассматриваются жуки бронзовка золотистая (*Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)) и бронзовка зеленая (*Potosia aeruginosa* (Drury, 1770)) как вредители лиственных пород на примере парка микрорайона «Алмагуль» г. Алматы. Личинки их не являются вредителями. Вредителями являются взрослые насекомые.

Актуальность работы заключается в том, что необходим контроль над вредоносностью жуков бронзовка золотистая (*Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)) и бронзовка зеленая (*Potosia aeruginosa* (Drury, 1770)) и изучения их биологии. В связи с тем, что в период всплеска численности жуки бронзовки наносят существенный вред лиственным древесным насаждениям. Это приводит к снижению их эстетических качеств.

Главная цель работы – определить процент поврежденности различных лиственных деревьев вредителями бронзовками и влияние климатических факторов на их численность.

Основные результаты работы: подсчитан процент повреждения листовой пластинки деревьев, определен процент нанесённого вреда бронзовками лиственным древесным насаждениям, составлен фенокалендар развития бронзовок и определен встречаемость и вредоносность вредителей в баллах.

Вытекающие выводы из результатов работы:

- 1) на насекомых вредителей влияют различные факторы внешней среды
- 2) климатические факторы являются определяющим для развития, увеличения и сокращения численности вредителей.
- 3) главный лимитирующий фактор воздействия на низкое количество бронзовок – это высокий уровень влаги в г. Алматы в связи дождливым и ливневым весенне-летним периодом.

Ключевые слова: бронзовка золотистая (*Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)) и бронзовка зеленая (*Potosia aeruginosa* (Drury, 1770)), вредоносность, вредители, лиственные породы, лиственные насаждения, экология, климатические факторы, погода, дуб, листовая пластинка.

Введение. Бронзовка золотистая (*Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)) и бронзовка зеленая (*Cetonischema aeruginosa* (Drury, 1770)) – представители отряда жесткокрылых или жуков (*Coleoptera* Linnaeus, 1758) семейства пластинчатоусых (*Scarabaeidae* Latreille, 1802). Повреждения лиственных насаждений, в частности, дубов и различных лиственных древесных пород в парках города Алматы листья грызущими вредителями, в частности, жуками бронзовками снижают естественную сезонную декоративность и привлекательность древесных насаждений [1]. Бронзовки не являются серьезными вредителями для листьев древесных пород. Но при их массовой численности они могут нанести ощутимый вред лиственным насаждениям, подгрызая листья по краям [2]. Поэтому целью исследования являлось определить процент повреждения листовой пластинки деревьев, в частности, дуба черешчатого (*Quercus robur* L., 1753.) и процент вреда наносимой бронзовкой золотистой или бронзовкой обыкновенной (*Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)) и бронзовкой зеленой (*Potosia aeruginosa* (Drury, 1770)) листьям различных древесных пород в парке микрорайона Алмагуль и в во многих парках города Алматы. А также влияние факторов погоды в баллах на численность бронзовки золотистой (*Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)) и бронзовки зеленой (*Potosia aeruginosa* (Drury, 1770)) [3].

Особенные отличия жуков-бронзовок (*Cetoniinae*) от других пластинчатоусых заключается в том, что у них на надкрыльях имеется впереди на боковом крае выемка, через которую при полете выпускаются крылья, тогда как надкрылья остаются сложенными на спине. Таким образом, им присуще такое свойство, при котором во время полета жуков их надкрылья не расправляются, а лишь только задние крылья высовываются в стороны из-под надкрылий. Большинство бронзовок окрашены в яркие с металлическим отливом цвета [4]. Другая особенность состоит в том, что их личинки передвигаются на спине за счёт сокращения мышц, несмотря на то, что у них есть короткие ножки.

Личинки бронзовок не являются вредителями, потому что они питаются перегнивающими остатками и являются изготовителями чернозема. Вред приносят взрослые бронзовки, так как они подгрызают соцветия, высасывают соки из цветков, поедают плоды плодовых деревьев и кустарников, объедают листья [5].

Материалы и методы исследований. *Задачами* исследования являлись подсчитать процент повреждения листовой пластинки деревьев и процент нанесённого вреда бронзовками различным лиственным древесным насаждениям, составить фенокалендарь развития бронзовок и определить встречаемость и вредоносность вредителей в баллах.

Объектами исследования были бронзовка золотистая или бронзовка обыкновенная (*Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)) и бронзовка зеленая (*Potosia aeruginosa* (Drury, 1770)); различные виды лиственных деревьев и их листовые пластинки.

Сборы материалов производились в парке «Аллея выпускников» микрорайона «Алмагуль» расположенном по улице Жарокова и Ходжанова. Обследования проводились по всей территории парка «Аллея выпускников» микрорайона «Алмагуль» и во многих парках города.

При сборе бронзовок были использованы различные стандартные энтомологические методики: кошение сачком, встряхивание насекомых с веток в энтомологический сачок, ручной сбор

материала с помощью пинцета [6]. Личинки жуков собирались благодаря просмотру гниющих пней и стволов деревьев. Для собирания личинок производились почвенные раскопки возле древесных пород на площадках размером 40 x 50 см и глубиной в 20 см и просеивание почвы через сито для обнаружения личинок

Площадь повреждения листьев посчитали по формуле Пика:

$$S = \frac{M}{2} + N - 1,$$

M – количество узлов на границе треугольника (на стороне и вершинах); N – количество узлов внутри треугольника.

Под узлами имеется в виду пересечение линий.

Процент повреждения считается по формуле:

S площадь листа – 100%.

S поврежденная поверхность листа – x %.

Отсюда

$$X \text{ процент повреждения поверхности листика} = \frac{S \text{ поврежденная поверхность листа} \times 100}{S \text{ площадь листа}}.$$

Результаты исследований. В парке «Аллея выпускников» микрорайона «Алмагуль», расположенном по улице Жарокова и Ходжанова и во всех парках, отмечены виды бронзовок: бронзовка золотистая, или бронзовка обыкновенная (*Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)) и бронзовка зеленая (*Potosia aeruginosa* (Drury, 1770)) [7].

Бронзовка золотистая, или бронзовка обыкновенная (*Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)) относится к роду – *Cetonia* Fabricius, 1775 (греч. «металлический жук»). Жук зеленого блестящего цвета с металлическим блеском, сверху бронзовка золотисто-зеленая, нижняя его сторона медно-красного цвета, имеются выемки по бокам надкрыльев, которые позволяют им летать со сложными крыльями [8]. На нижней части надкрыльев жуков имеются тоненькие светлые поперечные линии в виде штрихов.

Бронзовка зеленая (*Cetonischema aeruginosa* (Drury, 1770)) или *Potosia aeruginosa* (Drury, 1770). Данный вид относится к роду *Potosia*. Бронзовка зеленая (*Potosia aeruginosa*) окрашена в зеленый цвет с медным отливом. Переднеспинки бокового края полностью окаймлены. Отросток средней груди голый. В надкрыльях отсутствует продольные вдавления [9].

Бронзовка золотистая (*Cetonia*) и бронзовка зеленая (*Cetonischema aeruginosa* (Drury, 1770)) или *Potosia aeruginosa* (Drury, 1770) обитают в парках г. Алматы и на всей территории города [10]. Они питаются цветами, грызут молодые листья, молодые побеги, плоды яблонь и груш, особенно высасывает сок из деревьев. В местах выхода сока они могут образовывать скопления жуков. Например, в парке в м-на «Алмагуль» отмечено скопление жуков бронзовок на стволе дуба, питающимися соком данного дерева (рисунок 1).

В частности, в парке микрорайона «Алмагуль» бронзовка золотистая (*Cetonia aurata*) и бронзовка зеленая (*Potosia aeruginosa*) питаются, объедая, края листьев дуба черешчатого (*Quercus robur* L., 1753) и других лиственных древесных пород. Они, таким образом, наносят им вред, грубо



Рисунок 1 – Скопления бронзовок на дубе в парке микрорайона «Алмагуль»

Рисунок 2 – поврежденная листовая пластинка дуба черешчатого (*Quercus robur*)

подгрызая, края листовой пластинки дуба. Тип повреждения, наносимый этими жуками листьям дуба черешчатого (*Quercus robur*) – грубое объедание (рисунок 2).

Площадь повреждения листовой пластинки дуба черешчатого (*Quercus robur*) и других лиственных деревьев: клёна остролистного, (*Acer platanoides*), берёзы бородавчатой (*Betula pendula*), тополя пирамидального (*Populus pyramidalis*), тополя белого (*Populus alba* L.), ясеня американского (*Fraxinus americana* L.), боярышника обыкновенного (*Crataegus laevigata*), вяза гладкого (*Ulmus laevis*), вяза мелколистного (*Ulmus parvifolia*) данными вредителями составляет 10% [11]. Процент наносимого вреда этими жуками дубу черешчатому (*Quercus robur*) и выше перечисленным лиственным породам бронзовкой золотистой (*Cetonia aurata*) и бронзовкой зеленой (*Potosia aeruginosa*) варьируют до 15% в парке «Аллея выпускников» микрорайона «Алмагуль», до 7% в целом во многих парках города Алматы [12]. Следовательно, вредоносность этих эстетически красивых насекомых листьям дуба и всем другим лиственным породам в баллах оценивается как низкий уровень (таблица 1).

Таблица 1 – Встречаемость в баллах вредителей бронзовки золотистой *Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758) и бронзовки зеленой *Potosia aeruginosa* (Drury, 1770)

	Встречаемость	Вредоносность
Куколка в коконе	2	0
Имаго	3	3
Яйцекладка	3	0
Личинка	3	0
Куколка	3	0

Примечание. Встречаемость и вредоносность вредителей в баллах: 1 – массовые, 2 – обычные, 3 – редкие, 4 – единичные, 0 – отсутствие.

Биология вредителей бронзовки золотистая (Cetonia aurata) и бронзовки зеленая (Potosia aeruginosa) в г. Алматы такова: с наступлением весны у них происходит лет жуков. В май месяце из колыбельки кокона выходят имаго бронзовок и взлетают.

При повышении температуры в июле до 25 °С происходит яйцекладка яиц (таблица 2).

Таблица 2 – Календарь развития вредителей бронзовки золотистой (*Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)) и бронзовки зеленой (*Potosia aeruginosa* (Drury, 1770))

Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь – март
+	+				
		•			
			~		
				Q	
					⊗

+ – имаго, • – яйцекладка, ~ – личинка, Q – куколка, ⊗ – куколка в коконе.

Развитие личинок возможно при температуре от 20 °С в августе. Личинка дважды линяет и проходит три возраста [13]. К концу своего развития личинка достигает длины тела до 60 мм.

Окукливание происходит в начале осени при температуре 15 °С в сентябре месяце. Фаза куколки не долгая, продолжительность ее примерно составляет до 2 недель [14]. Затем осенью в конце октября куколка одевается в кокон, и куколка в коконе остается зимовать (таблица 2).

Куколка свободная, обычно лежит на спине и одета в прочный овальный ложный кокон – в колыбельку [15]. Колыбельку личинка создает непосредственно перед окукливанием из частичек почвы, собственных экскрементов и из мелких отгрызенных кусочков древесины, склеенных специальным секретом, выделяющейся из задней ее части тела. Она в какой-то степени напоминает взрослого насекомого с укороченными крыльями, и голова, которая подогнута под грудь [16].

Обсуждение результатов исследования

Температура г. Алматы весь весенне-летний период оказался благоприятным для развития жуков-бронзовок [17]. Но в связи с тем, что период с апреля до августа пришелся на сырую и дождливую погоду (дожди шли почти ежедневно), в г. Алматы наблюдалось избыточное количество воды в почве, которое отрицательно повлияло на численность бронзовок на исследуемой территории [18]. Всего выпало осадков за весенне-летний сезон 526 мм, когда норма осадков составляет для города Алматы – 285 мм. Не-маловажное значение имеет отсутствие солнечных дней с апреля по август, которое также оказало отрицательное влияние на жизнедеятельность бронзовок, так как эти насекомые по своему характеру деятельны и активны в жаркие и солнечные дни.

В пасмурную погоду вредители бронзовка золотистая (*Cetonia aurata*) и бронзовка зеленая (*Potosia aeruginosa*) не взлетают, а неподвижно сидят на растениях, в дождливую и прохладную погоду их вовсе очень трудно обнаружить в парках города, активность их совсем снижается, они прячутся под листьями, у корней деревьев, питание этих жуков затормаживается в связи отсутствием их активности [19]. Именно ежедневные дожди и ливни в г. Алматы, т.е. присутствие избыточного количества воды на данный период сыграло доминирующую роль на количестве бронзовок. В частности, массовый выход имаго в мае был низким, встречаемость и вредоносность их в баллах оценивается редким. Кладка яиц, численность личинок, образование куколок в баллах оценивается также как редкий (смотри выше в таблице 1).

Выводы. Наличие избыточного количества воды в городе на данный дождливый и ливневый период воздействовал в сторону уменьшения численности бронзовок. Отсюда их вредоносность определяется как низкая.

Хотя бронзовка золотистая (*Cetonia*) – влаголюбивый вид, но чрезмерно высокий процент влаги вызывает гибель этого насекомого [20]. Большое количество дождей и ливней в весенне-летний период – 526 мм (норма 285), т.е. высокий уровень влаги в городе, а также отсутствие солнечных дней, наличие постоянной пасмурной погоды явились лимитирующими факторами на бронзовку золотистую (*Cetonia aurata*) и бронзовку зеленую (*Potosia aeruginosa*), которые обеспечили их низкую численность и вредоносность (рисунок 3).

Источник финансирования исследований. Материал собирался автором в рамках выполнения дипломной работы по теме «Биоэкологические особенности основных листогрызущих вредителей зеленых насаждений г. Алматы».

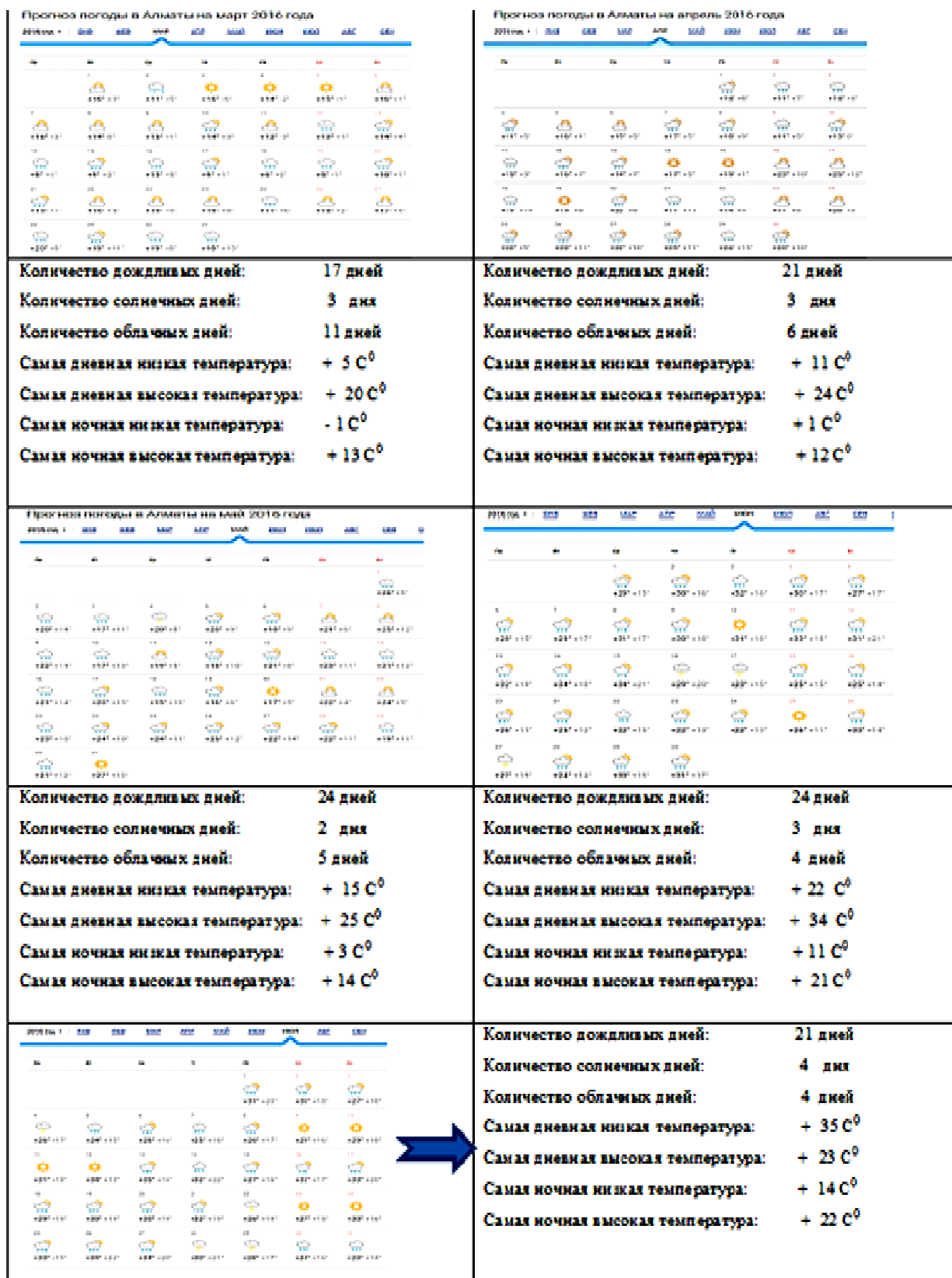


Рисунок 3 – прогноз погоды на март, апрель, май, июнь, июль из сайта по адресу <https://pogoda.mail.ru/prognoz/almaty/march-2016/>

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Николаев Г.В. Пластинчатоусые жуки (Coleoptera, Scarabaeoidea) Казахстана и Средней Азии. – Алма-Ата: Изд-во «Наука» Казахской ССР, 1987. – С. 7.
- [2] Проценко А.И. Пластинчатоусые жуки Киргизии (Coleoptera, Scarabaeidae). Пластинчатоусые жуки Киргизии (Coleoptera, Scarabaeidae). – Фрунзе: Илим, 1968. – С. 253.
- [3] Зенкевич Л.А. Жизнь Животных. Беспозвоночные. Членистоногие – Arthropoda. Онихофоры – Onychophora. – М., 1969. – Т. 3 – С. 168.
- [4] Медведев С.И. Фауна СССР. Жесткокрылые. – Том 10, вып. 5. Пластинчатоусые (Scarabaeidae). – М.; Л.: Наука, 1964. – С. 140.
- [5] Белова Н.К., Галасьева Т.В., Куликова Е.Г., Шарара Т.В. Методические указания по дисциплине «Технология защиты леса». – Раздел 1. Вредители растения. – М., 1994. – С. 7.
- [6] Дунаев Е.А. Методы эколого-энтомологических исследований. – М.: МосгорСИОН, 1997. – С. 4.
- [7] Мамаев Б.М., Медведев Л.Н., Правдин Ф.Н. Определитель насекомых европейской части СССР. – М.: Просвещение, 1976. – 304 с.
- [8] Ендолов В.В., Кувшинкова А.Д. Поведение, экология и эволюция животных: сборник научных трудов кафедры зоологии РГПУ (рус.) / Под ред. Николая Васильевича Чельцова. – Рязань: Рязанский государственный университет, 2002. – Р. 1. – ISBN 5-7943-0118-X.
- [9] Савковский П.П. Атлас вредителей плодовых и ягодных культур. – 5-е издание, дополненное и переработанное. – Киев: Урожай, 1990. – С. 96.
- [10] Маслов А.Д. Вредители ильмовых пород и меры борьбы с ними. – Изд-во "Лесная промышленность", 1970. – С. 22.
- [11] Атлас-определитель беспозвоночных животных города Перми [Электронный ресурс]: монография / Под общ. ред. М. Я. Лямина. – Перм. гос. нац. исслед. ун-т. – Электрон. дан. – Пермь, 2014. – С. 56.
- [12] Воронцов А.И. Лесная энтомология: Учебник для студентов. – М.: Высшая школа, 1982. – С. 79.
- [13] Воронцов А.И., Голубев А.И., Мозолевская В.Г., Белова Н.К., Николаевская Н.Г. Наставления по надзору, учёту и прогнозу хвое- и листогрызущих насекомых в европейской части РСФСР. – М., 1988. – С. 167.
- [14] Ильинский А.И., Тропина И.В. Надзор, учет и прогноз массовых размножений хвое-листогрызущих насекомых в лесах СССР. – М.: Лесная промышленность, 1965. – С. 51.
- [15] Чернышев В.Б. Суточные ритмы активности насекомых. – М.: Издательство МГУ, 1984. – С. 68.
- [16] Добровольский Б.В. Фенология насекомых. – М.: Высшая школа, 1969. – С. 32.
- [17] Дружелюбова Т.С., Макарова Л.А. Погода и прогноз размножения вредных насекомых. – Л.: Гидрометеониздат, 1972. – С. 23.
- [18] Грин Т. Насекомые. Полная энциклопедия / Пер. с англ. Авдониной. – М.: Эксмо, 2007. – С. 111.
- [19] Бигон М., Харлер Дж, Таусенд К. Экология. Особи, популяции и сообщества. – Т. 1. / Пер. с англ. – М.: Мир, 1989. – С. 92.
- [20] Яхонтов В.В. Экология насекомых. – М.: Высшая школа, 1964. – С. 154.

REFERENCES

- [1] Nikolaev G.V. Lamellicorn beetles (Coleoptera, Scarabaeoidea) in Kazakhstan and Central Asia. Almaty: Publishing house "Science" Kazakh SSR, 1987. P. 7.
- [2] Dunaev E.A. Methods of ecological and entomological research. M.: MosgorSYuN, 1997. P. 4.
- [3] Zenkevich L.A. Animal Life. Invertebrates. Arthropods – Arthropoda. Onychophora – Onychophora. M., 1969. Vol. 3. P. 168.
- [4] Medvedev S.I. Fauna of the USSR. Coleoptera. Vol. 10, vyp. 5. Lamellicorn beetles (Scarabaeidae). M.; L.: Science, 1964. P. 140.
- [5] Belov N.K., Galaseva T.V., Kulikova E.G., Sharap T.V. Methodical instructions on the discipline of "Forest protection technology". Section 1: Pests plants. M., 1994. P. 7.
- [6] Mamaev B.M., Medvedev L.N., Pravdin F.N. Qualifier to insects of the European part of the USSR. M.: Education, 1976. P. 300.
- [7] Protsenko A.I. Lamellicorn Kyrgyzstan beetles (Coleoptera, Scarabaeidae). Lamellicorn Kyrgyzstan beetles (Coleoptera, Scarabaeidae). Frunze: Ilim, 1968. P. 253.
- [8] Endolov V.V., Nymphaeaceae A.D. Behavior, ecology and evolution of animals: a collection of scientific works of the Department of Zoology RSPU (Rus.) / Edited by Nikolai Cheltsov. Ryazan: Ryazan State University, 2002. P. 1. ISBN 5-7943-0118-X.
- [9] Savkovskii P.P. Atlas of pests of fruit and berry crops / 5th edition, revised and supplemented. Kiev: Harvest, 1990. P. 96.
- [10] Maslov A.D. Pests elm species and their measures struggle. Publishing house "Timber industry", 1970. P. 22.
- [11] Atlas determinant of the city of Perm invertebrates [electronic resource]: monograph / Under total. ed. M. J. Lyamina; Perm. state. nat. research univ. electron. dat. Perm, 2014. P. 56.
- [12] Vorontsov A.I. Forest Entomology: A Textbook for students. M.: Higher School, 1982. P. 79.
- [13] Voronov A.I., Golubev A.I., Mozolevskaya V.G., Belova N.K., Nikolaev N.G. Instructions on supervision, accounting and forecast hvoe- and leaf-eating insects in the European part of the RSFSR. M., 1988. P. 167.
- [14] AI Ilyinsky, Tropina I.V. Supervision, accounting and the forecast of mass outbreaks of the needle-leaf-eating insects in the forests of the USSR. M.: Forestry, 1965. P. 51.

- [15] Chernyshev V.B. Daily rhythms of insect activity. M.: Publishing house of the Moscow State University, 1984. P. 68.
[16] Dobrovolsky B.V. insect phenology. M.: Higher School, 1969. P. 32.
[17] Druzhelyubova T.S., Makarova L.A. Weather forecast and breeding of harmful insects. L.: Gidrometeoizdat, 1972. P. 23.
[18] Green T. Insects. Complete Encyclopedia. Translation from English. Avdonina. M.: Eksmo, 2007. P. 111.
[19] Bigon M., Harper J.K., Townsend K. Ecology. Individuals, populations and communities. Vol. 1: Trans. from english. M.: Mir, 1989. P. 92.
[20] Yahontov B.B. Ecology of insects. M.: Higher School, 1964. P. 154.

А. С. Мырқасымова

Қырғыз ұлттық ғылым академиясы, Бішкек-Алматы, Қырғызстан

АЛМАТЫ ҚАЛАСЫ САЯБАҒЫНДАҒЫ АЛТЫНДАЙ ЖЫЛТЫР ТАҚТАМҰРТШАЛЫ ҚОҢЫЗ *Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758) ЖӘНЕ ЖАСЫЛ ТАҚТАМҰРТШАЛЫ ҚОҢЫЗДЫҢ *Potosia aeruginosa* (Drury, 1770) ЗИЯНКЕСТІГІ

Аннотация. Мақалада Алматы қаласы Алмагүл ықшам ауданы саябағындағы алтындай жылтыр тақтамұртшалы қоңыз (*Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)) және жасыл тақтамұртшалы қоңыздың (*Potosia aeruginosa* (Drury, 1770)) жапырақты ағаштарға зиянкестігі қарастырылған. Олардың дернәсілдері зиянкес емес. Ересек насекомдары зиянды болып келеді.

Жұмыстың өзектілігі – алтындай жылтыр тақтамұртшалы қоңыз (*Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)) және жасыл тақтамұртшалы қоңыздың (*Potosia aeruginosa* (Drury, 1770)) зиянкестігін бақылауға алу және олардың биологиясын толық зерттеу болып табылады. Тақтамұртшалы қоңыздардың саны жаппай көбейген кезде, жапырақты ағаштарға үлкен зиян келтіреді. Бұл ағаштардың эстетикалық сапасын төмендетеді.

Жұмыстың басты нәтижелері: ағаштардың жапырақ тақтасына зиянкестігінің пайызы есептелген, тақтамұртшалы қоңыздардың жапырақты ағаштарға келтірген зиянкестігінің пайызы анықталған және осы қоңыздардың фенологиялық дамуы мен зиянкестердің кездесуі баллмен есептелген көрсеткіштері берілген.

Жұмыс нәтижесінен шыққан қорытындылар:

- 1) Зиянкес насекомдарға сыртқы ортаның әртүрлі факторлары әсер етеді.
- 2) Климаттық факторлар зиянкестердің дамуына, санының өсуіне және қысқаруына шешуші себеп болып табылады.
- 3) Тақтамұртшалы қоңыздардың санының төмен болуына негізгі шектеуші фактор – Алматы қаласындағы көктемгі-жазғы кезеңдегі жауындарға байланысты жоғарғы деңгейдегі ылғалдылық.

Түйін сөздер: алтындай жылтыр тақтамұртшалы қоңыз (*Cetonia aurata* (Linnaeus, 1758)), жасыл тақтамұртшалы қоңыздың (*Potosia aeruginosa* (Drury, 1770)), зиянкестер, жапырақты ағаштар, жапырақты көшеттер, экология, шектеуші ықпал, ауа райы, емен, жапырақ тақтасы.

Сведения об авторе:

Мырқасымовна Ардак Сағыновна – эколог-исследователь, Национальная академия наук Кыргызской республики, Бишкек-Алматы, e-mail: donka_af@mail.ru

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 144 – 152

A. A. Imanbaeva, M. Y. Ishmuratova, G. B. Kopbaeva

Mangyshlak experimental botanical garden, Aktau, Kazakhstan.
E-mail: imangarden@mail.ru

**TO STUDYING OF SPECIFIC STRUCTURE OF WILD RELATIVES
OF CULTURAL PLANTS OF THE FLORISTIC AREA –
SPURS OF OSHCHY SYRT PLATEAU**

Abstract. In this article the analysis of specific structure and degree of prospects of wild relatives of cultural plants of the floristic area Spurs of Oshchy Syrt Plateau (West Kazakhstan region, Kazakhstan) is carried out. As a result of processing of literary data and own field researches the list of wild relatives of cultural plants of this floristic area has made 127 views from 74 childbirth and 20 families. The most widespread are representatives such as *Poaceae*, *Fabaceae*, *Rosaceae* and *Asteraceae*. According to economic and valuable groups DSKR possessing fodder, food and medicinal properties prevail.

The analysis of priority of DSKR has allowed distributing plants the next way: to the 1st group – 32 species; to the 2nd group – 3 species; to the 3rd group – 19 species; to the 4th group – 3 species; to the 5th group – 70 species.

Keywords: wild relatives of cultural plants, Spurs of Oshchy Syrt Plateau, floristic area, economic properties, prospects, flora.

УДК 634.25/26:631.521.527.5

A. A. Иманбаева, М. Ю. Ишмуратова, Г. Б. Копбаева

Мангышлакский экспериментальный ботанический сад, Актау, Казахстан

**К ИЗУЧЕНИЮ ВИДОВОГО СОСТАВА ДИКИХ СОРОДИЧЕЙ
КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ ФЛОРИСТИЧЕСКОГО РАЙОНА –
ОТРОГИ ОБЩЕГО СЫРТА**

Аннотация. Проведен анализ видового состава и степени перспективности диких сородичей культурных растений флористического района Отроги общего сырта (Западно-Казахстанская область, Казахстан). В результате обработки литературных данных и собственных полевых исследований перечень диких сородичей культурных растений данного флористического района составил 127 видов из 74 родов и 20 семейств. Наиболее широко распространенными являются представители сем. *Poaceae*, *Fabaceae*, *Rosaceae* и *Asteraceae*. По хозяйственно-ценным группам преобладают ДСКР, обладающие кормовыми, пищевыми и лекарственными свойствами.

Анализ приоритетности ДСКР позволил распределить растения следующим образом: к 1-ой группе – 32 вида; к 2-ой группе – 3 вида; к 3-ей группе – 19 видов; к 4-ой группе – 3 вида; к 5-ой группе – 70 видов.

Ключевые слова: дикие сородичи культурных растений, Отроги общего сырта, флористический район, хозяйственные свойства, перспективность, флора.

Введение. Создание новых высокопродуктивных сортов растений, используемых для производства высококачественных пищевых продуктов и кормов, адаптированных к неблагоприятным условиям внешней среды, болезням и вредителям, требует широко выбора исходного материала, важной составляющей которого являются дикие сородичи культурных растений (далее ДСКР) [1-3].

В настоящее время в состав ДСКР включаются не только те виды, которые спонтанно или с помощью человека принимали участие в формировании сортов культурных растений, но и те растения, которые потенциально пригодны для включения в селекционный процесс.

В последние годы возникла настоятельная необходимость подготовки списка ДСКР для Казахстана с разделением по флористическим районам и географическим пунктам, поскольку без специальных исследований, направленных на тщательную инвентаризацию хозяйственно-ценных видов республики, невозможно планировать мероприятия по их охране и практическому использованию.

Исходя из вышесказанного, целью настоящего исследования являлось выявление полного перечня ДСКР на территории флористического района Отроги общего сырта (Западно-Казахстанская область) их ранжирование по жизненным формам, степени перспективности и хозяйственному значению.

Методы исследования. Материалом для составления списка ДСКР Отрогов общего сырта служили республиканские списки флоры [4-12], литературные источники сотрудников Всероссийского института растений (г. Санкт-Петербург) и других авторов [13-15], а также собственные полевые исследования.

Для того чтобы решить вопрос в выборе видов, нуждающихся в первоочередном сохранении *in situ*, во Всероссийском институте растений [16, 17]. По степени приоритетности все ДСКР были ранжированы по нескольким показателям: участие в селекционном процессе (непосредственное участие, участие в гибридизации, использование в качестве доноров полезных признаков, в качестве подвоев и т.д.), систематическая близость к культурному виду, степень использования в хозяйственной деятельности человека. В результате выделено 5 групп: 1 группа – виды, непосредственно представленные в культуре, имеют сорта; 2 группа – виды, непосредственно участвующие в скрещиваниях, используемые как источники генов или подвои; 3 группа – виды близкого родства с введенными в культуру (в составе одной секции или подрода), перспективные для хозяйственного использования; 4 группа – другие полезные виды рода, используемые в садоводстве и народной селекции; 5 группа – все остальные виды данного рода.

Выделение жизненных форм проводили на основе методических указаний И.Г. Серебрякова [18], хозяйственно-ценных групп растений – на основании литературных данных [19].

Результаты исследования

В результате исследований на территории флористического района Отроги общего сырта (Западно-Казахстанская область) было выявлено произрастание 127 видов ДСКР из 74 родов и 20 семейств (таблица 1).

Таблица 1 – Перечень ДСКР флористического района Отроги общего сырта

Семейство	Род	Вид	Жизненная форма	Хозяйственное значение	Группа перспективности
<i>Alliaceae</i>	<i>Allium</i> L.	<i>A.angulosum</i> L.	Многолетник	П, в	5
		<i>A.globosum</i> M.Bieb.ex Redoute	Многолетник	П, в	5
		<i>A.praescissum</i> Reichenb.	Многолетник	П, в	5
<i>Amaranthaceae</i>	<i>Amaranthus</i> L.	<i>A.retroflexus</i> L.	Однолетник	к, д, т, л	1
<i>Asparagaceae</i>	<i>Asparagus</i> L.	<i>A.officinalis</i> L.	Многолетник	К, п, л, д	1
<i>Asteraceae</i>	<i>Artemisia</i> L.	<i>A.dracuncululus</i> L.	Многолетник	К, л, п	1
		<i>A.terrae-albae</i> Krasch.	Многолетник	К, л	4
	<i>Cichorium</i> L.	<i>C.intybus</i> L.	Многолетник	К, п, л, д	1
	<i>Inula</i> L.	<i>I.caspica</i> Blume	Многолетник	К, л	5
		<i>I.britanica</i> L.	Многолетник	К, л	5
		<i>I.germanica</i> L.	Многолетник	К, л	5
<i>I.helenium</i> L.		Многолетник	Л, к, п	3	

	<i>Lactuca</i> L.	<i>L.serriola</i> Torner.ex L. Centur	Однолетник, двулетник	К, п	3
		<i>L.tatarica</i> (L.) C.A. Mey.	Многолетник	К, п	3
	<i>Tragopogon</i> L.	<i>T.capitatus</i> S.Nikit.	Двулетник	К	5
		<i>T.dubius</i> Scop.	Двулетник	К	5
		<i>T.pratensis</i> L.	Двулетник	К	5
<i>Taraxacum</i> Wigg.	<i>T.officinale</i> Wigg.	Многолетник	К,п,л	3	
<i>Brassicaceae</i>	<i>Brassica</i> L.	<i>B.elongata</i> Ehrh.	Двулетник	К,т,п	5
		<i>B.juncea</i> (L.) Czern.	Двулетник	М, к, п, л	5
	<i>Camelina</i> Crantz.	<i>C.micricarpa</i> Andrz.	Однолетник	К, п, т	5
	<i>Crambe</i> L.	<i>C.tatarica</i> Sebeok.	Многолетник	П, к, л	4
	<i>Iruca</i> Adans.	<i>I.sativa</i> Lam.	Однолетник	П	5
<i>Cannabaceae</i>	<i>Cannabis</i> L.	<i>C.ruderalis</i> Janisch.	Однолетник	П, к, т, л	1
	<i>Humulus</i> L.	<i>H.lupulus</i> L.	Многолетник	К, п, л	1
<i>Caprifoliaceae</i>	<i>Lonicera</i> L.	<i>L.microphylla</i> Willd.et Schult.	Кустарник	П,д	4
		<i>L.tatarica</i> L.	Кустарник, дерево	П,д,т	1
<i>Chenopodiaceae</i>	<i>Atriplex</i> L.	<i>A.canada</i> C.A. Mey	Полукустарничек	П, т	5
		<i>A.tatarica</i> L.	Однолетник	К, т	5
	<i>Chenopodium</i> L.	<i>Ch.album</i> L.	Однолетник	К, п, д, л	1
	<i>Ceratocarpus</i> L.	<i>C.arenarius</i> L.	Однолетник	К	5
	<i>Kochia</i> Roth.	<i>K.laniflora</i> (S.G. Gmel.) Bobr.	Однолетник	К, т,д	5
		<i>K.prostrata</i> (L.) Schrad.	Многолетник	К	3
		<i>K.scoparia</i> (L.) Schrad.	Однолетник	К, т,д	1
	<i>Krascheninnikovia</i> Gueldenst.	<i>K.ceratoides</i> (L.) Gueldenst.	Кустарник, полукустарник	К, т, м,л	5
<i>Salsola</i> L.	<i>S.australis</i> R.Br.	Однолетник	К, т	5	
<i>Elaeagnaceae</i>	<i>Elaeagnus</i> L.	<i>E.angustifolia</i> L.	Дерево	Т,м,к,п,д	1
		<i>E.oxycarpa</i> Schlecht.	Дерево	Т,м,к,п,д	1
<i>Fabaceae</i>	<i>Amoria</i> C.Presl	<i>A.fragifera</i> (L.) Roskov	Многолетник	К,м	3
		<i>A.hybrida</i> (L.) C. Presl.	Многолетник	К,м	3
		<i>A.repens</i> (L.) C. Presl.	Многолетник	К,м	3
		<i>Glycyrrhiza</i> L.	<i>G.echiata</i> L.	Многолетник	К, л
	<i>Lathyrus</i> L.	<i>L.pisiformis</i> L.	Многолетник	К	5
	<i>Medicago</i> L.	<i>M.falcata</i> L.	Многолетник	К, м	3
		<i>M.lupulina</i> L.	Однолетник	К	3
	<i>Melilotus</i> Adans.	<i>M.albus</i> Desr.	Двулетник, однолетник	К, м, л	1
		<i>M.officinalis</i> (L.) Desr.	Двулетник	К, м, л	1
	<i>Trifolium</i> L.	<i>T.medium</i> L.	Многолетник	К	1
		<i>T.pratense</i> L.	Многолетник	К, м, д	5
	<i>Vicia</i> L.	<i>V.cracca</i> L.	Многолетник	К,д	5
		<i>V.tenuifolia</i> Roth.	Многолетник	К,м	5
<i>V.sepium</i> L.		Однолетник	К,м	5	
<i>V.tetrasperma</i> (L.) Schreb.		Однолетник	К,м	5	
<i>Grossulariaceae</i>	<i>Ribes</i> L.	<i>R.aureum</i> Pursh	Кустарник	К,п,д,в	1
		<i>R.nigrum</i> L.	Кустарник	П, в	1
		<i>R.saxatile</i> Pall.	Кустарник	П,в	3
<i>Hypericaceae</i>	<i>Hypericum</i> L.	<i>H.perforatum</i> L.	Многолетник	Т,п,к,л	1
<i>Lamiaceae</i>	<i>Mentha</i> L.	<i>M.arvensis</i> L.	Многолетник	П	1
		<i>M.longifolia</i> (L.) Huds.	Многолетник	П	2

Malvaceae	<i>Althaea</i> L.	<i>A. officinalis</i> L.	Многолетник	Т, к, л	3
	<i>Lavatera</i> L.	<i>L. thuringiaca</i> L.	Многолетник	Л,к,д	5
	<i>Malva</i> L.	<i>M. pusilla</i> Smith	Многолетник	К,л	5
Poaceae	<i>Aeleropus</i> Trin.	<i>A. littoralis</i> (Gouan) Parl.	Многолетник	К, м	5
	<i>Agropyron</i> Gaertn.	<i>A. cristatum</i> (L.) Gaertn.	Многолетник	К, п	1
		<i>A. fragile</i> (Roth) Candargy	Многолетник	К	5
		<i>A. pectinatum</i> (Bieb.) Beauv.	Многолетник	К	5
		<i>A. ramosum</i> (Trin.) Richt	Многолетник	К	5
	<i>Agrostis</i> L.	<i>A. alba</i> L.	Многолетник	К	5
	<i>Alopecurus</i> L.	<i>A. aequalis</i> Sobol.	Однолетник	К	5
		<i>A. arundinaceus</i> Poir.	Многолетник	к	5
		<i>A. pratensis</i> L.	Многолетник	К	5
	<i>Anisantha</i> C. Koch.	<i>A. tectorum</i> (L.) Nevski	Однолетник	К	5
	<i>Beckmannia</i> Host	<i>B. eruciformis</i> (L.) Host	Многолетник	К	5
	<i>Bromopsis</i> Fourr.	<i>B. inermis</i> (Leys.) Holub.	Многолетник	К	2
	<i>Bromus</i> L.	<i>B. japonicus</i> Thunb.	Однолетник	К	5
		<i>C. schoenoides</i> (L.) Lam.	Ододетник	К	5
	<i>Cynodon</i> Rich.	<i>C. dactylon</i> (L.) Pers.	Многолетник	К, м	5
	<i>Dactylis</i> L.	<i>D. glomerata</i> L.	Многолетник	К, д	1
	<i>Echinochloa</i> P.B.	<i>E. crusgalli</i> (L.) Roem. et Schult.	Однолетник	К	5
	<i>Elytrigia</i> Desv	<i>E. repens</i> (L.) Neski	Многолетник	К, л	3
	<i>Eremopyrum</i> (Ledeb.) Jaub. et Spach	<i>E. orientale</i> (L.) Jaub. et Spach	Однолетник	К	5
		<i>E. triticeum</i> (Gaertn.) Nevki	Однолетник	К, п	5
	<i>Festuca</i> L.	<i>F. orientalis</i> Kerner ex Hack.	Многолетник	К	5
		<i>F. pseudoovina</i> Hack. ex Wiesb.	Многолетник	К	5
	<i>Hierochloe</i> R.Br.	<i>H. odorata</i> (L.) Wahlb.	Многолетник	П	5
	<i>Helictotrichon</i> Bess.	<i>H. desertorum</i> (Less.) Nevski	Многолетник	К	5
	<i>Hordeum</i> L.	<i>H. bogdanii</i> Wilensky	Многолетник	К	5
		<i>H. brevisibulatum</i> (Trin.) Link	Многолетник	К	5
	<i>Koeleria</i> Pers.	<i>K. delavignei</i>	Многолетник	К	5
		<i>K. gracilis</i> Pers.	Многолетник	К	5
	<i>Melica</i> L.	<i>M. altissima</i> L.	Многолетник	К	5
	<i>Poa</i> L.	<i>P. angustifolia</i> L.	Многолетник	К	5
		<i>P. annua</i> L.	Однолетник, двулетник	К	5
		<i>P. bulbosa</i> L.	Многолетник	К	5
		<i>P. pratensis</i> L.	Многолетник	К	5
<i>P. serotina</i> Ehrh.		Многолетник	К	5	
<i>Phleum</i> L.	<i>Ph. phleoides</i> (L.) Karst.	Многолетник	К, д	5	
<i>Pucinellia</i> Parl	<i>P. distans</i> (Jacq.) Parl.	Многолетник	К	5	
	<i>P. gigantea</i> Grossh.	Многолетник	К	5	
<i>Secale</i> L.	<i>S. sylvestre</i> Host	Однолетник	К, п	3	
<i>Setaria</i> P.B.	<i>S. verticillata</i> (L.) P.B.	Ододетник	К	5	
	<i>S. viridis</i> (L.) P.B.	Ододетник	К	5	
Polygonaceae	<i>Fagopyrum</i> Gaertn.	<i>F. tataricum</i> (L.) Gaertn.	Однолетник	К, п	1
	<i>Polygonum</i> L.	<i>P. aviculare</i> L.	Однолетник	К, п, л, т	3
	<i>Rumex</i> L.	<i>R. acetosa</i> L.	Двулетник	К,п	1
		<i>R. confertus</i> Willd.	Многолетник	К, т, п, л	5
		<i>R. crispus</i> L.	Многолетник	К, п	5
<i>R. maritimus</i> L.		Многолетник	К	5	

		<i>R. marschallianus</i> Reichenb.	Однолетник	К, п, л	5
		<i>R. thyrsoflorus</i> Fingern.	Многолетник	К, п	5
Rosaceae	<i>Amygdalus</i> L.	<i>A. nana</i> L.	Кустарник	Д, п, л	3
	<i>Cerasus</i> Juss.	<i>C. fruticosa</i> (Pall.) G. Woron.	Кустарник	П, д, м	1
		<i>C. sanguinea</i> Pall.	Кустарник, дерево	П, к, д, л, в	1
	<i>Fragaria</i> L.	<i>F. vesca</i> L.	Многолетник	П, к, л, в, м	3
		<i>F. viridis</i> (Duch) Wenston	Многолетник	П, к, л, в, м	1
	<i>Malus</i> Hill	<i>M. baccata</i> (L.) Borkh.	Дерево	П, к, м, д	1
		<i>M. sieversii</i> (Ledeb.) M. Roem.	Дерево	П, к, м, д	1
	<i>Padus</i> Mill.	<i>P. racemosa</i> (Lam.) Gilib.	Кустарник, дерево	П, д, м, т	1
	<i>Prunus</i> Mill	<i>P. spinosa</i> L.	Кустарник, дерево	П, в, д	1
	<i>Rosa</i> L.	<i>R. canina</i> L.	Кустарник	П, в, л, д, м	1
<i>R. glabrifolia</i> C.A. Mey. Ex Rupr.		Кустарник	П, в, л, д, м	2	
<i>Rubus</i> L.	<i>R. caesius</i> L.	Кустарник	П, к, л, в, м	1	
	<i>R. saxatile</i> L.	Многолетник	Л, п, к, м	3	
Solanaceae	<i>Solanum</i> L.	<i>S. dulcamara</i> L.	Полукустарник	П	1
		<i>S. nigrum</i> L.	Однолетник	П	1
Urticaceae	<i>Urtica</i> L.	<i>U. dioica</i> L.	Многолетник	П, к, т, л	3
Viburnaceae	<i>Viburnum</i> L.	<i>V. opulus</i> L.	Кустарник	П, д, м, т	1

Примечание. Группы хозяйственной ценности: п – пищевые, в – витаминные, к – кормовые, л – лекарственные, т – технические, м – медоносные, д – декоративные

Обсуждение результатов

Наибольшее число видов ДСКР отмечено в семействе *Poaceae* (40 видов), *Fabaceae* (15 видов), *Rosaceae* (13 видов) и *Asteraceae* (13 видов) (таблица 2).

Таблица 2 – Таксономический состав ДСКР флористического района Отроги общего сырта

Семейство	Число родов, шт.	Число видов, шт.
<i>Alliaceae</i>	1	3
<i>Amaranthaceae</i>	1	1
<i>Asparagaceae</i>	1	1
<i>Asteraceae</i>	6	13
<i>Brassicaceae</i>	4	5
<i>Cannabaceae</i>	2	2
<i>Caprifoliaceae</i>	1	2
<i>Chenopodiaceae</i>	6	9
<i>Elaeagnaceae</i>	1	2
<i>Fabaceae</i>	7	15
<i>Grossulariaceae</i>	1	3
<i>Hypericaceae</i>	1	1
<i>Lamiaceae</i>	1	2
<i>Malvaceae</i>	3	3
<i>Poaceae</i>	24	40
<i>Polygonaceae</i>	3	8
<i>Rosaceae</i>	8	13
<i>Solanaceae</i>	1	2
<i>Urticaceae</i>	1	1
<i>Viburnaceae</i>	1	1

Нами проведен анализ хозяйственно-ценных групп растений. Так, было определено, что среди ДСКР наибольшее число относится к кормовым растениям – 106 вида, вторую позицию занимают пищевые растения – 56 видов, на третьем месте лекарственные растения – 35 вида. Медоносные растения представлены 27 видами, технические – 16 видами, витаминные – 13 видами, декоративные – 24 видами (рисунок 1).

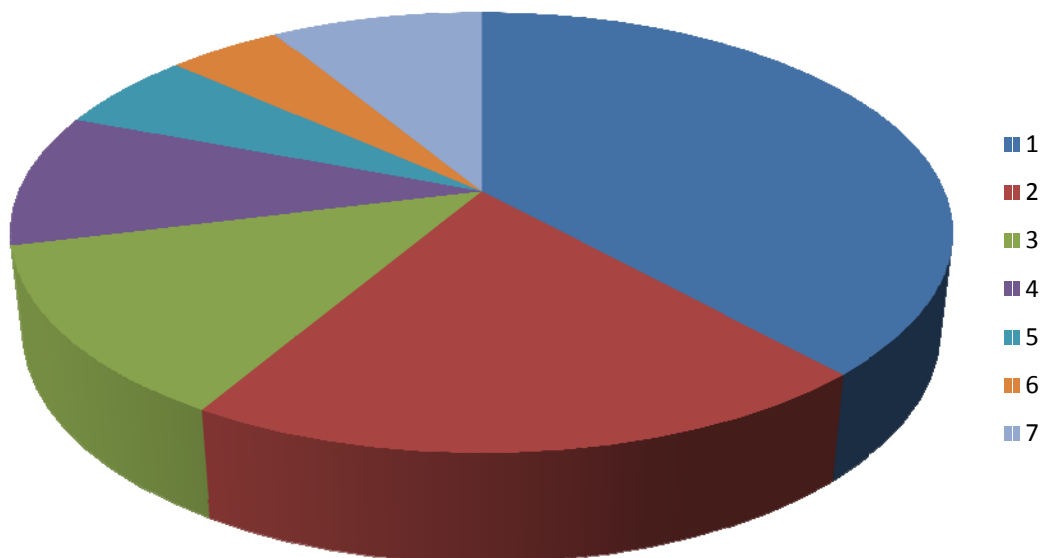


Рисунок 1 – Распределение ДСКР флористического района Остроги общего сырta по хозяйственно-ценным группам: 1 – кормовые, 2 – пищевые, 3 – лекарственные, 4 – медоносные, 5 – технические, 6 – витаминные, 7 – декоративные

По степени приоритетности виды распределились неравномерно. Так, в 1-ую группу ДСКР, которые внедрены в культуру и имеют сорта (*Malus baccata*, *Malus sieversii*, *Rubus caesius*, *Rubus idaeus*, *Padus racemosa*, *Viburnum opulus* и другие), отнесены 32 вида (рисунок 2).

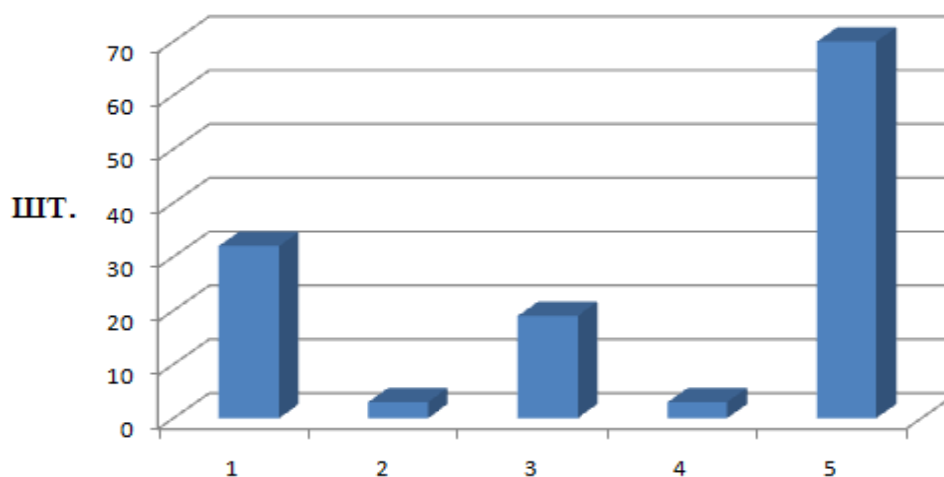


Рисунок 2 – Распределение ДСКР флористического района Остроги общего сырta по степени приоритетности. Группы ДСКР по приоритетности: 1 – виды, представленные в культуре и имеющие сорта, 2 – виды, используемые как источники генов в селекции, 3 – виды близкого родства с культурными, 4 – другие полезные виды рода, используемые в собирательстве и народной медицине, 5 – все остальные виды данного рода

Ко 2-ой группу видов, участвующих в скрещивании, отнесены 3 вида (*Mentha longifolia*, *Bromopsis inermis*, *Rosa grabrifolia*). К третьей группе отнесены 19 видов ДСКР – это близкородственные к культурным растениям. Среди них *Rubus saxatile*, *Urtica dioica*, *Amygdalus nana*, *Elytrigia repens*, *Kochia scoparia* и другие. К 4-ой группе, полезным видам родов, содержащих ДСКР, отнесены 3 растения, в том числе *Lonicera microphyla*, *Crambe edentula*. К 5-ой группе, включающей все остальные виды полезных родов, отнесено наибольшее число растений – 70.

Анализ видов по жизненным формам показал следующее (рисунок 3): травянистые многолетники – 80 видов, двулетние и однолетние растения – 27 видов, деревья – 4 вида, кустарники – 14 видов, полукустарники – 1 вид, полукустарнички – 1 вид.

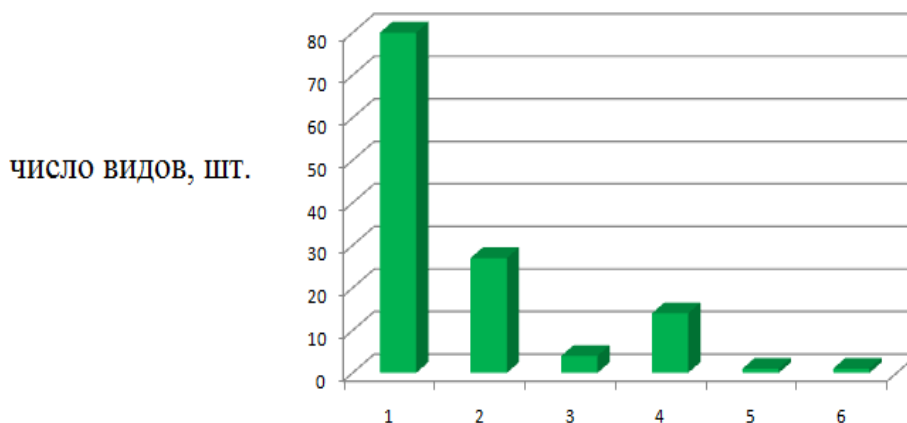


Рисунок 2 – Распределение ДСКР флористического района Отроги общего сырта по жизненным формам.
Жизненные формы: 1 – многолетники, 2 – малолетники, 3 – деревья, 4 – кустарники, 5 – полукустарнички, 6 – полукустарники

Выводы. Таким образом, на территории флористического района Отроги общего сырта произрастает 127 видов ДСКР из 74 родов и 20 семейства. Наиболее широко распространенными являются представители сем. Злаковых, Бобовых, Розоцветных и Сложноцветных. По хозяйственно-ценным группам преобладают ДСКР, обладающие кормовыми, пищевыми и лекарственными свойствами.

Анализ приоритетности ДСКР позволил распределить растения следующим образом: к 1-ой группе – 32 вида; ко 2-ой группе – 3 вида; к 3-ей группе – 19 видов; к 4-ой группе – 3 вида; к 5-ой группе – 70 видов.

Источник финансирования исследований. Исследования выполнены в рамках темы «Ботаническое разнообразие диких сородичей культурных растений Западного Казахстана как источник обогащения и сохранения генофонда агробиоразнообразия для реализации продовольственной программы».

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Коровина О.Н. Природный генофонд дикорастущих родичей культурных растений флоры СССР и его охрана (аннотированный перечень). – Л., 1986. – 126 с.
- [2] Жуковский П.М. Культурные растения и их сородичи. – Л.: Наука, 1969. – 564 с.
- [3] Никитин В.В., Бондаренко О.Н. Дикие сородичи культурных растений и их распространение на территории СССР (конспект). – Л., 1975. – 69 с.
- [4] Флора Казахстана. – Т. 1. – Алма-Ата: Изд-во АН ССР, 1965. – 354 с.
- [5] Флора Казахстана. – Т. 2. – Алма-Ата: Изд-во АН КазССР, 1958. – 290 с.
- [6] Флора Казахстана. – Т. 3. – Алма-Ата: Изд-во АН КазССР, 1960. – 458 с.
- [7] Флора Казахстана. – Т. 4. – Алма-Ата: Изд-во АН КазССР, 1961. – 545 с.
- [8] Флора Казахстана. – Т. 5. – Алма-Ата: Изд-во АН КазССР, 1961. – 515 с.
- [9] Флора Казахстана. – Т. 6. – Алма-Ата: Изд-во АН КазССР, 1963. – 465 с.
- [10] Флора Казахстана. – Т. 7. – Алма-Ата: Изд-во АН КазССР, 1964. – 498 с.

- [11] Флора Казахстана. – Т. 8. – Алма-Ата: Изд-во АН КазССР, 1964. – 279 с.
- [12] Флора Казахстана. – Т. 9. – Алма-Ата: Наука, 1966. – 425 с.
- [13] Смекалова Т.Н., Лебедева Е.Г., Лулева Н.Н., Чухина И.Г. Информационно-поисковая система «Дикорастущие родичи культурных растений» // Ботанические исследования в азиатской России: Материалы XI съезда Русского ботанического общества. – Барнаул, 2003. – С. 116-118.
- [14] Smekalova T. Specific features of in situ conservation strategy in Russia // XXVI International Horticultural Congress and Exhibition. – Toronto, 2002. – P. 526.
- [15] Нухимовская Ю.Д., Смекалова Т.Н., Чухина И.Г. Дикорастущие родичи культурных растений в заповедниках России // В сб. Фундаментальные основы управления биологическими ресурсами. – М.: Изд-во КМК, 2005. – С. 102-113.
- [16] Смекалова Т.Н., Лулева Н.Н., Чухина И.Г. Проблемы сохранения диких родичей культурных растений в составе природных растительных сообществ (insitu) на территории России // В сб.: Генетические ресурсы культурных растений. Проблемы мобилизации, инвентаризации, сохранения и изучения генофонда важнейших сельскохозяйственных культур для решения приоритетных задач селекции. – СПб: Изд-во ВИР, 2001. – С. 57-59.
- [17] Смекалова Т.Н., Чухина И.Г., Лулева Н.Н. Основные аспекты стратегии сохранения диких родичей культурных растений // Материалы 1 межд.науч.-практ.конф. Проблемы ботаников Южной Сибири и Монголии. – Барнаул, 2002. – С. 265-269.
- [18] Серебряков И.Г. Жизненные формы высших растений и их изучение // Полевая геоботаника. – Т. 3. – М.-Л.: Наука, 1964. – С. 146-205.
- [19] Грудзинская Л.М., Есимбекова М.А., Гемеджиева Н.Г., Мукин К.Б. Дикорастущие полезные растения Казахстана (каталог). – Алматы, 2008. – 100 с.

REFERENCES

- [1] Korovina O.N. Prirodnyj genofond dikorastushhijh rodichej kul'turnyh rastenij flory SSSR i ego ohrana (annotirovannyj perechen'). L., 1986. 126 p.
- [2] Zhukovskij P.M. Kul'turnye rastenija i ih sorodichi. L.: Nauka, 1969. 564 p.
- [3] Nikitin V.V., Bondarenko O.N. Dikie sorodichi kul'turnyh rastenij i ih rasprostranenie na territorii SSSR (konspekt). L., 1975. 69 p.
- [4] Flora Kazahstana. Vol. 1. Alma-Ata: Izd-vo AN SSR, 1965. 354 p.
- [5] Flora Kazahstana. Vol. 2. Alma-Ata: Izd-vo AN KazSSR, 1958. 290 p.
- [6] Flora Kazahstana. Vol. 3. Alma-Ata: Izd-vo AN KazSSR, 1960. 458 p.
- [7] Flora Kazahstana. Vol. 4. Alma-Ata: Izd-vo AN KazSSR, 1961. 545 p.
- [8] Flora Kazahstana. Vol. 5. Alma-Ata: Izd-vo AN KazSSR, 1961. 515 p.
- [9] Flora Kazahstana. Vol. 6. Alma-Ata: Izd-vo AN KazSSR, 1963. 465 p.
- [10] Flora Kazahstana. Vol. 7. Alma-Ata: Izd-vo AN KazSSR, 1964. 498 p.
- [11] Flora Kazahstana. Vol. 8. Alma-Ata: Izd-vo AN KazSSR, 1964. 279 p.
- [12] Flora Kazahstana. Vol. 9. Alma-Ata: Nauka, 1966. 425 p.
- [13] Smekalova T.N., Lebedeva E.G., Luneva N.N., Chuhina I.G. Informacionno-poiskovaja sistema «Dikorastushhie rodichi kul'turnyh rastenij» Botanicheskie issledovanija v aziatskoj Rossii: Materialy XI sezda Russkogo botanicheskogo obshhestva. Barnaul, 2003. P. 116-118.
- [14] Smekalova T. Specific features of in situ conservation strategy in Russia XXVI International Horticultural Congress and Exhibition. Toronto, 2002. P. 526.
- [15] Nuhimovskaja Ju.D., Smekalova T.N., Chuhina I.G. Dikorastushhie rodichi kul'turnyh rastenij v zapovednikah Rossii V sb. Fundamental'nye osnovy upravlenija biologicheskimi resursami. M.: Izd-vo KMK, 2005. P. 102-113.
- [16] Smekalova T.N., Luneva N.N., Chuhina I.G. Problemy sohranenija dikih rodichej kul'turnyh rastenij v sostave prirodnyh rastitel'nyh soobshhestv (insitu) na terri-torii Rossii V sb. Geneticheskie resursy kul'turnyh rastenij. Problemy mobilizacii, inventarizacii, sohranenija i izuchenija genofonda vazhnejshih sel'skohoz'jajstvennyh kul'tur dlja reshenija prioritetnyh zadach selekcii. SPb: Izd. VIR, 2001. P. 57-59.
- [17] Smekalova T.N., Chuhina I.G., Luneva N.N. Osnovnye aspekty strategii sohranenija dikih rodichej kul'turnyh rastenij Materialy 1 mezhd.nauch.-prakt.konf. Problemy botanikov Juzhnoj Sibiri i Mongolii. Barnaul, 2002. P. 265-269.
- [18] Serebrjakov I.G. Zhiznennye formy vysshijh rastenij i ih izuchenie Polevaja geobotanika. Vol. 3. M.; L.: Nauka, 1964. P. 146-205.
- [19] Grudzinskaja L.M., Esimbekova M.A., Gemedzhieva N.G., Mukin K.B. Dikorastushhie poleznye rastenija Kazahstana (katalog). Almaty, 2008. 100 p.

А. А. Иманбаева, М. Ю. Ишмуратова, Г. Копбаева

Маңғышлақ эксперименталды ботаникалық бақ, Ақтау, Қазақстан

ЖАЛПЫ СЫРТ СІЛЕМДЕРІ ФЛОРИСТИКАЛЫҚ АУДАННЫҢ МӘДЕНИ ӨСІМДІКТЕРІНІҢ ЖАБАЙЫ ТУЫСТАРЫНЫҢ ҚҰРАМЫН ЗЕРТТЕУ ТУРАЛЫ

Аннотация. Мақалада Жалпы сырт сілемдері флористикалық ауданының (Батыс Қазақстан облысы) мәдени өсімдіктерінің жабайы туыстарының /МӨЖТ/ түр құрамы мен болашығының дәрежесіне талдама көрсетілді. Жарияланған деректер мен өздеріміздің далалық зерттеулер мәліметтерін өңдеу нәтижесінде осы флоралық ауданда мәдени өсімдіктерінің жабайы туыстары 20 тұқымдас пен 74 туыстан тұрайтын 127 түрді құрады. МӨЖТ-ның ең көп түр саны *Poaceae*, *Fabaceae*, *Rosaceae* и *Asteraceae* тұқымдастырында байқалды. МӨЖТ-нің түрлерінің шаруашылық құнды тобына жем-шөптік, тағамдық, дәрілік қасиеттері бар өсімдіктер басымдылық көрсетті МӨЖТ-ні басымдылығына сәйкес талдауда өсімдіктерді келесідей орналастырылды: 1 топқа - 32 түр; 2 топқа- 3 түр; 3 топқа - 19 түр; 4 топқа- 3 түр; 5 топқа-70 түр.

Түйін сөздер: мәдени өсімдіктерінің жабайы туыстары, Жалпы сырт сілемдері, флористикалық аудан, шаруашылық қасиеті, болашағы, флора.

Сведения об авторах:

Иманбаева Акжунис Алтаевна – кандидат биологических наук, ассоциированный профессор, Мангышлакский экспериментальный ботанический сад, e-mail: imangarden@mail.ru

Ишмуратова Маргарита Юлаевна – кандидат биологических наук, ассоциированный профессор, Мангышлакский экспериментальный ботанический сад, e-mail: margarita.ishmur@mail.ru

Копбаева Гульжамал Бектурсуновна – Мангышлакский экспериментальный ботанический сад, e-mail: imangarden@mail.ru

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 153 – 158

G. M. Ablaisanova, T. T. Barakhbayev, D. K. Zharkenov, B. I. Abilov

«Kazakh Research Institute of Fishery» LLP, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: ablai_gulmira@mail.ru

**ASSESSMENT OF CURRENT HYDROECOLOGICAL STATE OF
KAPSHAGAI RESERVOIR AND THE ILE RIVER (UPSTREAM)**

Abstract. This article presents data on current hydroecological state of Kapshagai reservoir and the Ile river, which considered as one of the largest fishery water basin of the country. The study results show that a number of hydro-meliorative works should be carried out with the purpose of creating favorable conditions for reproduction, development and migration of fishes.

Keywords: migration, spawning, larval development, hydro ecology, hydro-melioration works.

ӘОЖ 597

Г. М. Аблайсанова, Т. Т. Барақбаев, Д. Қ. Жаркенов, Б. И. Абилов

«Қазақ балық шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты» ЖШС, Алматы, Қазақстан

**ҚАПШАҒАЙ СУҚОЙМАСЫ МЕН ІЛЕ ӨЗЕНІНІҢ
(ЖОҒАРҒЫ АҒЫСЫ) ҚАЗІРГІ КЕЗДЕГІ
ГИДРОЭКОЛОГИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙЫН БАҒАЛАУ**

Аннотация. Мақалада еліміздегі ірі балықшаруашылық су айдындарының бірі болып саналатын Іле өзені мен Қапшағай суқоймасының қазіргі кездегі гидроэкологиялық жағдайы қарастырылған. Зерттеу нәтижелерінің қорытындысы бойынша балықтардың көбеюі, дамуы мен өрістеуіне қолайлы жағдай туғызатын гидромелиоративтік жұмыстар жүргізу ұсынылып отыр.

Түйін сөздер: өрістеу, ұылдырық шашу, дернәсілдердің дамуы, гидроэкология, гидромелиоративтік жұмыстар.

Кіріспе. Іле өзені мен Қапшағай суқоймасы Қазақстандағы ірі балықшаруашылық су айдындарының бірі болып табылады, экономикада және балық өндірісінде маңызды рөл атқарады. Қазақстан Республикасының балықшаруашылық суайдындарының жеке шығанақтары мен негізгі салаларының гидроэкологиялық жағдайына баға беру, гидромелиоративтік жұмыстар арқылы олардың сумен қамтылуын жақсарту, ондағы балықтардың өсіп-өнуіне қолайлы жағдай туғызып, олардың қорын сақтау және дамыту қажет. Су айдындарында қажетті гидромелиоративтік жұмыстарды жүзеге асыру республикамыздағы өзен-көлдердегі балық қорын айтарлықтай арттыруға және еліміздегі ірі аймақтардың экологиялық және экономикалық жағдайын жақсартуға ықпалын тигізеді.

Зерттеу әдістері мен материалдары. Зерттеу жұмыстары көктем, жаз және күз мезгілдерінде Қапшағай суқоймасы мен Іле өзенінің жоғарғы ағысында, сонымен бірге, суқоймаға келіп құятын өзендермен және олардың сағаларында жүргізілді (өз. Қаскелең, Есік, Талғар, Шелек, Ақтоған, Шарын және Үсек). Зерттеу жұмыстарын жүргізу кешенді түрде (гидрология, гидрохимия, гидробиология және ихтиология) жүзеге асты. Бақылау кезінде балықтардың тіршілік циклінің үш

кезеңі қарастырылды: дернәсілдік, шабақтық және ересек кезеңдері. Дернәсілдерді аулау үшін, ұзындығы 4 м. капрондық газдан жасалған № 9–11 ихтиопланктондық конустық ауды (ИКА (ихтиопланктонды конустық ау) – 50) пайдаланылды. ИКА тарту таңертең және кешкі уақытта жүргізілді, экспозиция 5-10 мин, әрбір 10 күн сайын – тәуліктік сынама алынды (2-3 сағат аралықта). Ал шабақтар жаз мезгілінің шілде-тамыз айларында Қапшағай суқоймасының таяз сулы жағалауы мен Іле өзенінің жайылма суларынан ауланды. Аулау құралы ретінде ұзындығы 5 м., биіктігі 1,5 м, ау көзі 3 мм, қанатында ау көзі 5 мм болатын майда көзді сүзгісі қолданылды. Ересек балықтар ұзындықтары 25 м, ау көздері – 20, 24, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 мм. болатын құрма аумен, ұзындығы 50–100 м, ау көзі 65 мм, 75 мм және 95 мм ығызба аумен, сонымен бірге, ұзындығы 50 м, биіктігі – 2 м болатын қол жылыммен ауланды. Құрма ау 12 сағатқа қойылды.

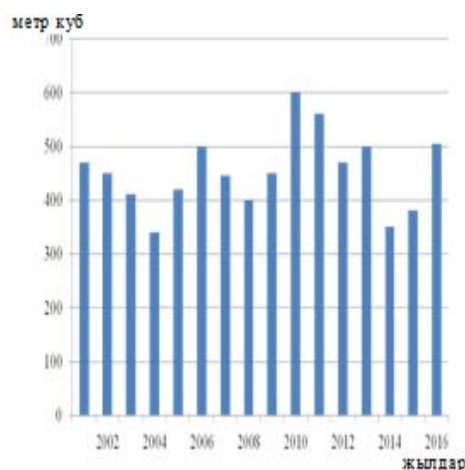
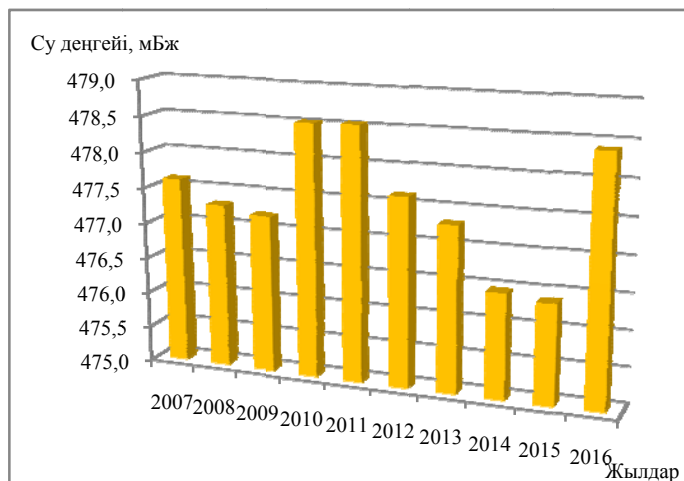
Зерттеу нәтижелері мен талдау. Іле өзені мен Қапшағай суқоймасы еліміздегі ірі балықшаруашылық суайдындарының қатарына жататыны белгілі. Қапшағай суқоймасы Іле өзенінің ортаңғы ағысына салынып, 1970 жылдары толтырылды. Су қойманың ауданы 1850 км², көлемі 28,14 км³, ұзындығы 120 км, ені 22 км., орташа тереңдігі 15,2 м, ең терең жері – 45 м. құрады. Қапшағай суқоймасының суы ең бастысы Іле өзеніне тікелей байланысты, сонымен қоса суқойма Шелек, Лавар, Есік, Саз-Талғар, Қаскелең және т.б өзендер арқылы толады. Іле өзені бастауын Теріскей-Алатауынан алады. Іле өзені мен Қапшағай суқоймасында балықтың 30 түрі кездеседі. Кәсіптік балық ретінде балықтың 10 түрі ауланады, атап айтсақ, тыран, сазан, көксерке, ақ амур, ақ дөңмандай, жайын, мөңке, ақмарка, торта, жыланбасбалық.

Әр балықтың уылдырық шашу жағдайы, мезгілі мен орнының ұқсастықтары да ерекшеліктері де бар. Балықтардың тіршілік етуі барысында өрістеу маңызды рөл атқарады. Өрістеу дегеніміз – балықтардың бір орыннан екінші орынға белгілі бір мезгілде топталып орын ауыстыруы. Олар әдетте уылдырық шашу, жайылым (қоректік) және қыстауға өрістеуге жиналады. Уылдырық шашуға өрістеу анадромды (ағысқа қарсы) және катадромды (ағыс бойымен) деп екі түрге бөлінетіні де белгілі. Әдетте, біздің қарастырып жатқан балықтарымыздың барлығы дерлік анадромды екені мәлім. Балық дернәсілдерінің ылдилауы (пассивті) – балықтардың бірегей өрістеу цикліндегі ең алғашқы бөлігі. Шабақтардың ылдилап өрістеуге бейімделуі, негізі, олардың таралуы мен көлемін ұлғайтуына мүмкіндік береді, соған орай түр санының артуына әкеліп соғады. Балық шабақтарының ылдилап өрістеуі ең қиын экологиялық құбылыс болып табылады. Бұл құбылысты егжей-тегжейлі зерттеу балықтардың ұдайы өндірісінде, балық қорын қорғау мен балық шаруашылығын ұтымды пайдалану ережелерін жасауда өте қажет болып саналады.

Балық шабақтарының тіршілігіне, дамуына ең бастысы гидрологиялық режимнің (су деңгейі, су температурасы және т.б.) маңызы зор екені мәлім. Су деңгейі мен температурасының күрт төмендеуі балықтардың көбеюіне, дернәсілдерінің дамуына кері әсерін тигізеді. Осы тұрғыдан Іле өзені мен Қапшағай суқоймасының гидрологиялық жағдайына тоқталайық. Төменде 1 және 2-суреттерде Қапшағай суқоймасының су деңгейінің режимі мен уылдырық шашу кезіндегі температуралық режимнің динамикасы берілген. Суреттен көріп отырғанымыздай, ағымдағы жылы уылдырық шашу барысында су деңгейі жоғарғы болды (наурыз-маусым айлары), яғни, Қапшағай суқоймасының су деңгейі ағымдағы жылы соңғы 5 жылдағы жоғарғы көрсеткішті (орташа 478,40 БЖм) көрсетті. Су температурасына келер болсақ, уылдырық шашу кезінде мамыр-маусым айларында су температурасы 18–24 °С қа дейін жетті.

Сонымен, 2016 ж. Іле өзені мен Қапшағай суқоймасының гидрологиялық жағдайы балықтардың уылдырық шашуына қолайлы болды.

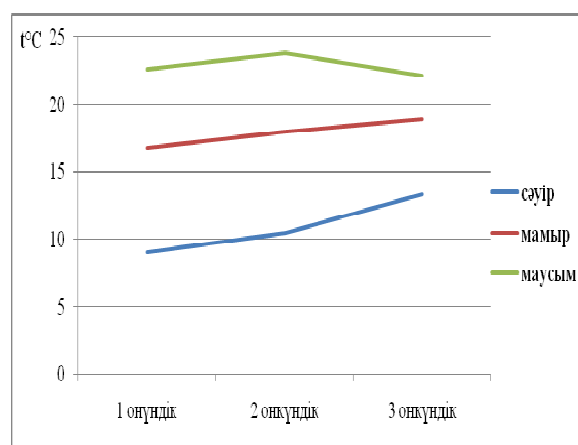
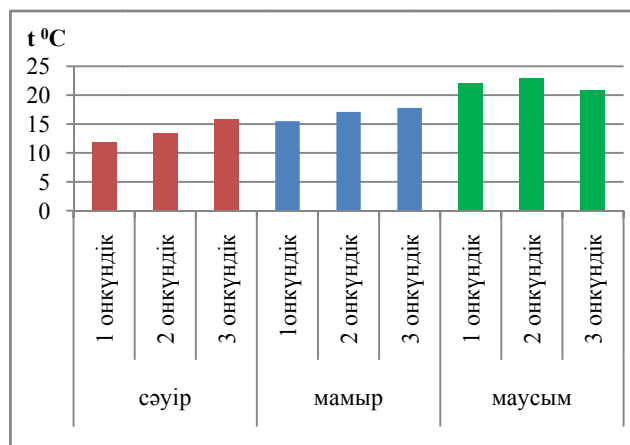
Жоғарыда атап кеткендей, зерттеу жұмыстарының нәтижелері толық болуы үшін балықтардың тек ересек кезін ғана зерттеп қоймай, дернәсілдік, шабақтық кездеріне де бақылау жұмыстарын жүргізген абзал. Және осындай зерттеу жұмыстарының нәтижелеріне қарап балықтардың өрістеуі, сонымен қатар өрістеу жағдайының қаншалықты жақсы, қаншалықты қолайлы екенін біле аламыз. Осы кезекте өз тарапымыздан жүргізген зерттеу нәтижелерінің қысқаша көрсеткіштеріне тоқтала кетсек. Ағымдағы жылы әртүрлі себептерге байланысты балық дернәсілдерін аулау уақытынан кешігіп қалғандықтан, алдыңғы жылдардағы мәліметтерді көрсетуімізге тура келді. Төменде 1-ші кестеде ақ амур және ақ дөңмандай дернәсілдерінің динамикасы берілген. Кестеден көріп отырғанымыздай әр жылғы көрсеткіш әрқалай, соңғы жылдардағы көрсеткіш бойынша аулауда дернәсіл санының төмендегені байқалады.



а

б

1-сурет – Қапшағай суқоймасының су деңгейі режимінің динамикасы мен Іле өзенінің жылдық орташа су шығынының динамикасы: а – Қапшағай суқоймасы; б – Іле өзені



а

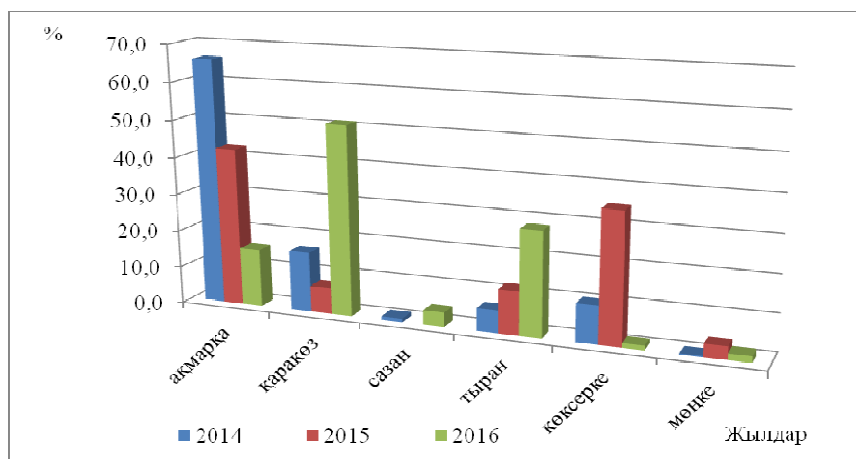
б

2-сурет – Іле өзені мен Қапшағай суқоймасындағы уылдырық шашу кезіндегі температуралық режимінің динамикасы: а – Іле өз., б – Қапшағай суқоймасы

1-кесте – Ақ амур және ақ дөңмаңдай дернәсілдерінің санының динамикасы

Жыл	Су шығыны, м ³ /с (орташа көрсеткіш бойынша)	Дернәсіл саны, млрд дана	
		ақ амур	ақ дөңмаңдай
2004	616	1,73	6,51
2005	616	2,16	11,86
2006	697	2,28	25,30
2012	393	1,95	8,78
2014	255	1,33	6,45
2015	323	1,06	5,12

Зерттеу кезінде пассивті (белсенділігі төмен) балық шабақтарымен қоса активті (белсенді) шабақтарға да зерттеу жүргізілді. Шабақтық аулау барысында кәсіптік балықтардың 6 түрі кездесті. Төменде 3-суретте Іле өзенінің жайылма сулары мен Қапшағай суқоймасының жағалаудағы таяз суларынан ұсталған балық шабақтарының 2016 ж. кездесу жиілігінің динамикасы берілген. Әр жылы балық шабақтарының кездесу жиілігінің көрсеткіштері әрқалай. 2014–2015 жж. аулауда ақмарқа шабағы, 2016 ж. қаракөз шабағы басым болды.



3-сурет – Іле өзені мен Қапшағай суқоймасындағы кәсіптік балық шабақтарының кездесу жиілігінің динамикасы, 2016 ж.

Төмендегі 2-кестеде Іле өзені мен Қапшағай суқоймасының басты сағаларынан ұсталған балықтардың ұзындық-өлшемдік көрсеткіштері берілді.

Балықтар уылдырықтарын шашу үшін суқоймадан өзенге, және өзен бойымен сағаларына қарай шығады. Қапшағай суқоймасында балықтардың негізгі уылдырық шашатын орыны Іле өзенінің тоқтау сулары мен құярлық аймақтары және Қаскелең, Саз-Талғар, Шелек, Лавар, Есік, Көтентай өзендері және т.б. сағалары болып табылады. Су мол жылдары балықтардың уылдырық шашатын үйірлерінің көп бөлігі құятын өзендерге және ең бастысы Іле өзеніне көтеріледі, суы аз жылдары балықтар суқойма жағалауына және құярлыққа уылдырықтарын шашады. Ондаған жылдар бойы өзен және суқойма су деңгейінің өзгеріп тұруына байланысты су айдынның сағалары айтарлықтай таязданған.

Абиотикалық, биотикалық және антропогендік факторлардың әсерінен барлық су нысандарының экологиялық көрсеткіштері мен гидрологиялық параметрлері айтарлықтай өзгеріске ұшырады. Гидробионттардың дамуы мен тіршілік етуіне жарамсыз болып қалады. Мысалы, су деңгейінің күрт төмендеуінен немесе уылдырық шашатын сағаларға шығатын жолдарының таяздануынан балықтардың шығуы мүмкін болмай қалады, бір сөзбен айтқанда балықтардың өрістеу жолдары жабылып қалады. Бұның бірден-бір шешімі өзен сағаларына гидромелиоративтік жұмыстар жүргізу болып табылады.

Деректерге сүйенсек, өткен ғасырда Қазақстанда гидромелиоративтік жұмыстар ірі балық шаруашылық су айдындардың барлығында мысалы, Сырдария өзенінде, Жайық өз. сағаларында, Балқаш өзенінің шығанақтарында, Алакөл көлінің бассейндері мен басқа да су айдындарында жүргізілген. Қазіргі кезеңде олардың барлығы қайта қарау мен тексеруді талап етеді. Одан өзге, қазіргі таңда Іле өзенінің атырауының тармақтары мен өзен сағаларын (Қаратал, Лепсі) лай басып, балықтардың уылдырық шашатын орындарына өтуі қиындаған. Сондықтан, Қапшағай суқоймасындағы балықтардың өрістеуі жақсы жүру үшін құярлық аймағының сағаларына тереңдету жұмыстарын жүргізу ұсынылады (ұзындығы 2,5 км. және ені 55 м. шамасында) (4-сурет). Мелиорация бойынша бірінші кезекте Іле өзенінің атырауы мен оның сағаларын тазалау мен тереңдету болып саналады. Барлық гидромелиоративтік жұмыстар негізінен ғылыми зерттеу ұсыныстары бойынша жүзеге асады.

Қорытынды. Сонымен, зерттеу нәтижелері бойынша Іле өзені мен Қапшағай суқоймасындағы балықтардың уылдырық шашуға өрістеуіне қолайлы жағдай туындату үшін, балықтардың өзен сағаларында өрістеу жолдарына бірқатар гидромелиоративтік жұмыстар (су түбін тереңдету, тазалау және т.б.) жүргізіп отыру керек екені анықталды. Балықшаруашылық суайдындарының жеке шығанақтары мен негізгі салаларының гидроэкологиялық жағдайына баға беру, су объектілерінде (нысандарында) қажетті гидромелиоративтік жұмыстарды жүргізу республикамыздағы су айдындарының балық қорын айтарлықтай арттыруға және еліміздегі аймақтардың экологиялық және экономикалық жағдайын жақсартуға ықпалын тигізеді.

2-кесте – Іле өзені мен Қапшағай суқоймасының басты сағаларындағы балықтардың ұзындық-өлшемдік көрсеткіштері

Балық түрлері	Ұзындығы, см	Салмағы, г	Фультон бойынша қоңдылығы	N
Іле өз. құярлығы				
Тыран	12,8-27,0 23,1±3,7	40-365	1,8-2,2	14
Сазан	10,4-72,0 48,5±7,3	38-9410	1,9-3,4	23
Көксерке	29,0-59,0 41,1±7,4	319-2770	0,9-1,5	27
Қаракөз	9,6-23,5 15,5±3,6	15-285	1,2-2,5	85
Жайын	67,0-183,0 109,4±45,0	2310-45500	0,7-1,0	14
Ақ амур	29,0-92,0 56,4±22,7	461-13180	1,5-2,4	20
Ақ дөңмандай	25,0-123,0 59,5±24,1	275-41000	1,4-2,2	24
Бозша мөңке	17,0-26,0 19,5±3,2	143-475	2,3-3,5	18
Жыланбас балық	49,0-54,0 51,5±2,1	1100-2000	0,9-1,3	9
Балтабай өз. сағасы				
Тыран	9,4-26,2 22,0±5,9	21-358	1,9-2,5	7
Көксерке	15,0-36,4 31,9±7,5	47-568	1,1-1,4	7
Қаракөз	10,5-24,0 15,7±4,1	22-294	1,6-2,4	92
Ақмарқа	44,0	1962	2,3	1
Қараөзек өз. сағасы				
Тыран	10,0-24,2 18,5±5,3	22-282	1,9-2,2	8
Көксерке	15,3-32,0 25,2±7,1	50-373	1,1-1,4	4
Қаракөз	11,0-24,7 18,3±4,1	28-329	1,9-2,4	47
Жайын	81,0	4375	1,0	1
Есік өз. сағасы				
Тыран	16,5-31,3 24,1±4,6	90-630	1,8-2,7	16
Көксерке	30,0-39,0 34,5±3,1	355-715	1,2-1,3	10
Қаракөз	11,2-22,0 18,8±2,6	25-230	1,7-2,3	30



4-сурет – Іле өзені атырауының сағалары (Қапшағай суқоймасынан жоғары).
*Қызылмен – терендету жұмыстары жүргізілуі қажет аймақ

ӘДЕБИЕТ

- [1] Коблицкая А.Ф. Определитель молоди пресноводных рыб. – М.: Пищевая промышленность, 1981. – Б. 6-53.
- [2] Бәйімбет Ә.А., Темірхан С.Р. Қазақстанның балықтәрзідiлерi мен балықтарының қазақша-орысша анықтауышы. – Алматы: Қазақ университетi, 1999. – 347 б.
- [3] Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. – М.: Пищевая промышленность, 1966. – 376 б.
- [4] Чуғунова Н.И. Руководство по изучению возраста и роста рыб. – М.: Изд-во АН СССР, 1952. – 163 б.
- [5] Определение рыбопродуктивности рыбохозяйственных водоемов и/или их участков, разработка биологических обоснований ОДУ и ООПТ, режиму и регулированию рыболовства на водоемах международного, республиканского и местного значений Балхаш-Алакольского бассейна. Раздел: Капшагайское водохранилище и река Іле // Отчет о НИР. – Алматы: КазНИИРХ, 2016. – Б. 43-75.
- [6] Оценка современного гидроэкологического состояния рыбохозяйственных водоемов РК и разработка биологических обоснований о целесообразности и очередности проведения рыбохозяйственной мелиорации для сохранения и увеличения рыбохозяйственного потенциала водоемов. Раздел: Алакольская система озер, Капшагайское водохранилище и р. Іле. Отчет о НИР // КазНИИРХ. – Алматы, 2016. Б. 20-24.
- [7] Правила проведения работ по зарыблению водоемов, рыбохозяйственной мелиорации водных объектов // Приказ Министра охраны окружающей среды Республики Казахстан от 31.07.2013 г. № 231-Ө.

REFERENCES

- [1] Koblickaja A.F. Opredelitel molodi presnovodnyh ryb. M.: Pishhevaja promyshlennost, 1981. P. 6-53. (in Russ.)
- [2] Baimbet A.A., Temirhan S.R. Kazakstannin balyktarizdileri men balyktarynin kazaksha-oryssha anyktauyshy. Almaty: Kazak universiteti, 1999. 347 p. (in Kaz.)
- [3] Pravdin I.F. Rukovodstvo po izucheniju ryb. M.: Pishhevaja promyshlennost, 1966. 376 p. (in Russ.)
- [4] Chugunova N.I. Rukovodstvo po izucheniju vozrasta i rosta ryb. M.: Izd-vo AN SSSR, 1952. 163 p. (in Russ.)
- [5] Opredelenie ryboproduktivnosti rybohozajstvennyh vodoemov i/ili ih uchastkov, razrabotka biologicheskikh obosnovanij ODU i OOPT, rezhimu i regulirovaniju rybolovstva na vodoemah mezhdunarodnogo, respublikanskogo i mestnogo znachenij Balkash-Alakol'skogo bassejna. Razdel: Kapshagajskoe vodohranilishhe i reka Іle. Otchet o NIR. Almaty: KazNIIRH, 2016. P. 43-75 (in Russ.)
- [6] Ocenka sovremennogo gidrojekologicheskogo sostojanija rybohozajstvennyh vodoemov RK i razrabotka biologicheskikh obosnovanij o celesoobraznosti i ocherednosti provedenija rybohozajstvennoj melioracii dlja sohraneniya i uvelichenija rybohozajstvennogo potenciala vodoemov. Razdel: Alakol'skaja sistema ozer, Kapshagajskoe vodohranilishhe i r. Іle. Otchet o NIR KazNIIRH. Almaty, 2016. p. 20-24. (in Russ.)
- [7] Pravila provedenija rabot po zarybleniju vodoemov, rybohozajstvennoj melioracii vodnyh ob'ektov Prikaz Ministra ohrany okruzhajushhej sredy Respubliki Kazahstan ot 31.07.2013 g. N 231 (in Russ.)

Г. М. Аблайсанова, Т. Т. Баракбаев, Д. К. Жаркенов, Б. И. Абилов

ТОО «Қазақский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства»

ОЦЕНКА СОВРЕМЕННОГО ГИДРОЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВОДОХРАНИЛИЩА КАПШАГАЙ И Р. ІЛЕ (ВЕРХНЯЯ ЧАСТЬ)

Аннотация. Рассматривается современное гидроэкологическое состояние водохранилища Капшагай и р. Іле, являющимися одними из крупных рыбохозяйственных водоемов страны. По результатам исследований и анализа полученных данных рекомендуется провести ряд гидромелиоративных работ с целью создания благоприятных условий для размножения, развития и миграции рыб.

Ключевые слова: миграция, нерест, развитие личинок, гидроэкология, гидромелиоративные работы.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 159 – 166

E. A. Kyrbasova¹, G. U. Dyuskalieva¹,
M. S. Kurmanbaeva², Abigail S. Newsome³

¹Kazakh State Women's Teacher Training University, Almaty, Kazakhstan,

²Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan,

³Mississippi Valley State University, USA.

E-mail: kyrbasova_elzira@mail.ru

**COMPARATIVE BIOMETRIC INDICATORS
OF MORPHOLOGICAL AND ANATOMICAL STRUCTURE
OF DIFFERENT POPULATIONS OF MEDICINAL PLANT
AEGOPODIUM ALPESTRE L. IN THE CONDITIONS
OF TRANS-ILI ALATAU**

Abstract. In the article it is given biometric indicators of anatomo-morphological features of two populations of a perspective medicinal plant of *Aegopodium alpestre* L. First populations of *Aegopodium alpestre* L. were found in the Big Almaty gorge (GPS of coordinate of the initial point of the gorge: 43.136976, 76.903267. Height above sea level 1500–2500 m), the second population – in the territory of the lake of the Issyk gorge of Trans-Ili Alatau (GPS of coordinates 43.256018, 77.485129. Height above sea level – 1714,5 m).

As a result of a morphological research of a medical plant *Aegopodium alpestre* L. it is revealed that roots in the form of fibrous are formed on horizontal rhizomes, stalks naked, branchy in an upper, height of plants of first populations of 38±4,9 cm, the 2nd – 25,06±9,9 cm; leaves naked on both sides, an ovoid form, sedentary leaves two-three times cleft, petiolar leaves with naked vaginas, edges gear, pointed; umbrellas with 15–20 rays.

Root is diarchy on a transversal anatomic cut. Grains of amyllum collect in primary bark, and also between rays of a xylem.

Stalk pentahedral, cells of collenchyma developed well at edges under epidermis, conductive bundles are located on peripheries of a stalk, quantity of conductive bundles of the first of populations – 7 and the second – 5, they are surrounded by sclerenchyma outside.

The large conductive bundle was found in the central vein on a transversal cut of a leaf. Xylems are directed to the top epidermis, and a phloem to lower epidermis, the mesophyll of a leaf of first populations has only spongy cells and second population has palisade and spongy mesophylls.

Anatomic cuts were prepared with MZP-01 microtome Tekhnom (Yekaterinburg). Biometric measurements and photography of an anatomic structure of a plant of *Aegopodium alpestre* L., were carried out on MCX100 video microscope Trinocular MICROS (Austria).

Keywords: *Aegopodium alpestre* L., *Aegopodium podagraria* L., xylem, phloem, epidermis, sclerenchyma, collenchyma, mesophyll.

Ә. А. Қырбасова¹, Г. У. Дюскалиева¹, М. С. Курманбаева², Абигейл С. Ньюсам³

¹Қазақ мемлекеттік қыздар педагогикалық университеті, Алматы, Қазақстан,

²Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ, Алматы, Қазақстан,

³Миссисипи Валлей мемлекеттік университеті, АҚШ

ІЛЕ АЛАТАУЫ ЖАҒДАЙЫНДАҒЫ *Aegopodium alpestre* L. ДӘРІЛІК ӨСІМДІГІНІҢ ӘРТҮРЛІ ПОПУЛЯЦИЯСЫНДАҒЫ МОРФОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ АНАТОМИЯЛЫҚ ҚҰРЫЛЫМЫНЫҢ САЛЫСТЫРМАЛЫ БИОМЕТРИЯЛЫҚ КӨРСЕТКІШТЕРІ

Аннотация. Мақалада *Aegopodium alpestre* L. перспективті дәрілік өсімдігінің екі популяциясының анатомиялық және морфологиялық құрылыс ерекшеліктері берілген. Зерттеуге алынған өсімдіктің 1-ші популяциясы Үлкен Алматы шатқалынан (шатқалдың басталар нүктесінің GPS координаттары: 43.136976, 76.903267. Биіктігі 1500 – 2500 м), 2-ші – Іле Алатауының теріскей баурайындағы теңіз деңгейінен 1759 м. жоғарыда орналасқан Есік көлі аумағынан (GPS координаттары: 43.256018, 77.485129) жиналды.

Aegopodium alpestre L. дәрілік өсімдігінің морфологиялық ерекшеліктеріне жүргізілген талдау нәтижелерінде тамыры көлденең тамырсабақта түзілген шашақ тәрізді; сабағы жалаң, жоғары жағы бұтақты келетіні, биіктігі сәйкесінше 20-60 см. және 20-40 см; Жапырағының екі беті де жалаң, жұмыртқа пішінді, сабақтағы жапырақтары екі-үш тілімденген, сағақты жапырақтары жалаңаш қынапты, жиектері тісті, үшкір; Шатыргүл шоғыры 15-20 сәулелі болатыны анықталды.

Тамырының анатомиялық көлденең кесіндісінде ксилема сәулесі диархты болатыны байқалды.

Сабағы бес қырлы, эпидермис қабаты мен қырларының астында колленхима ұлпасы жақсы жетілген, өткізгіш шоқтары шетінде орналасқан, олардың саны 1-ші популяцияда – 7 және 2-де 5, өткізгіш шоқ сыртын склеренхималық ұлпа қоршап тұрады.

Жапырағының көлденең кесіндісінде орталық жүйкеде бір өткізгіш шоқ орналасқан, 1-ші популяция жапырағының мезофилін тек борпылдақ жасушалар түзеді, ал 2-ші популяцияда палисадты және борпылдақ жасушалары анық көрінеді.

Анатомиялық кесінділер МЗП-01 «Техном» (Екатеринбург) микротомы арқылы даярланды. *Aegopodium alpestre* L., өсімдігінің морфометриялық өлшеулері MCX100 Trinocular MICROS (Австрия) видео микроскоп арқылы түсіріліп өлшенді.

Түйін сөздер: *Aegopodium alpestre* L., *Aegopodium podagraria* L., ксилема, флоэма, склеренхима, колленхима, эпидермис, мезофилл.

Кіріспе. Қазақстанның өсімдіктер әлемі өте бай генофондымен және пайдалы өсімдіктердің бірегей қорымен сипатталады, әсіресе дәрілік қасиеттері бар жабайы өсетін, олардың бір бөлігі ауқымды ғылыми және бәсекеге қабілетті өнім ретінде әлемдік нарықта сұранысқа ие болатын, химиялық құрамы мен биологиялық белсенді заттарын зерттеуде перспективті өсімдіктер. Дәрілік өсімдіктер жылдам әсер ететін, кумулятивті қасиеті мен қажет емес кері әсері жоқ, кең спектрлі фармакологиялық және терапевтік әсері бар фитопрепараттарды алуда құнды шикізат көзі болып табылады. Бүкіл әлемде белсенді дамып келе жатқан табиғи қосылыстар химиясы саласында дәрілік өсімдіктер түрлерінің саны үнемі артып отырады. Тек, соңғы жылдарда және тек Қазақстанда бәрпі (у қорғасын), тегеурінгүл, маралоты, сасықшөп, адыраспан және басқа да бірқатар қазақстандық өсімдіктерден жаңа әсері жоғары медициналық препараттар алынды. Дәрілік өсімдіктерден алынатын медициналық препараттар өндіріс орындары фармакологиялық өндірістерді өсімдік шикізаттарымен қамтамасыз етумен тікелей байланысты болғандықтан дәрілік флораның биоалуантүрлілігін және оның ресурстық потенциалын заманауи бағалау егеменді Қазақстан жағдайында өте өзекті [1].

Емдік қасиеті бар дәрілік өсімдіктердің бір туысы – бежір (*Aegopodium* L.). *Aegopodium* туысының 7 түрі бар [2, 3]. Қазақстанда *Aegopodium* L. туысының екі түрі өседі: *Aegopodium podagraria* L. және *Aegopodium alpestre* L. [1].

Бежір қабынуға қарсы және ауруды басатын әсері болуына байланысты халық медицинасында ревматизм, артрит, артроз ауруларын емдеуге қолданылады. Сонымен қатар, подагра ауруына

қарсы ертеден қолданылып келеді. Соңғы кездерде бежір туысы түрлерінің простагландиндерді синтездеуді қамтамасыз ететін циклооксигеназа (ЦОГ) ферментін басатын қабілетінің бар екені тәжірибе жүзінде негізделген. Бежір препараттары пуриндік алмасуға жағымды әсер етеді және диатезді емдеуде қолданады. Бежір тұнбасы диурез бен зәр қышқылының тұздарының экскрециясын арттырады [4-6]. Бежір тұнбасы экспериментальды қант диабеті кезіндегі егеуқұйрықтардың гликемиясын төмендететіні анықталған [7].

Орта ғасырда кәдімгі бежір өсімдігін монахтар подагра ауруын емдеуде қолданғаны белгілі [8]. Кәдімгі бежірдің подагра мен қабынуды басатын қасиетін анықтау мақсатында бірқатар авторлар өсімдіктің жерүсті және жерасты мүшелерінен фалкаринол бөліп алған және оның концентрациясы гүлінде жоғары болатынын анықтаған [9].

Фитохимиялық анализі нәтижесінде *Aegopodium podagraria* L. өсімдігінің жерүсті мүшелерінде флавоноидтар, кумариндер, полифенолды тотыққыш қосылыстар, аскорбин қышқылы, суда еритін полисахаридтер, пектинді заттар, макро- және микроэлементтер, эфир майлары, амин қышқылдары кездесетіні анықталған.

Aegopodium podagraria L. өсімдігінің құрамындағы биологиялық белсенді заттардың сандық құрамы эндогенді және маусымдық өзгерістерге тәуелді. Дәрілік шикізат ретінде өсімдікті гүлдеу фазасында жинаған дұрыс. Гүлдеу фазасында негізгі ББЗ сандық мөлшері: кумарин – 1,9 %, флавоноид – 2,8 %, дубильді заттар – 5 %, полисахаридтер – 7 % құраған [10].

Украина ғалымы О.О. Койроның этиленгликольды нефропатия моделіне жүргізген тәжірибиелерінде кәдімгі бежір препараттарының әсерінен, әсіресе өсімдік жапырағы мен тамырсабағының сығындысы егеуқұйрықтардың өлімін төмендететіні байқалған. Бежір сығындылары протеинурияны төмендетіп, нефрондардағы зәрдің сүзілуін белгілі деңгейде ұстап тұрады [11].

Кәдімгі бежір тұнбасы (1 және 5 мл/кг) мен сығындысы (1 г/кг) егеуқұйрықтарда калий оксоидаты арқылы қоздырылған гиперурикемияны едәуір төмендетеді [12].

Aegopodium podagraria L. өсімдігінің жерасты бөлігінен он үш полиацетиленді қосылыстар бөлініп алынған [13]. Полиацетилендер жеке немесе көмірсулармен, терпендермен, фенолдармен және т.б. қосылыстар түрінде өсімдіктердің әртүрлі бөлігінде кездеседі. Бұл қосылыстар улы немесе ащы антифидентті, аллеопатикалық қосылыстар, фитоексиндер немесе кең мағынада антибиотиктік компонент ретінде көбіне өсімдіктерде синтезделеді. Гүлді өсімдіктердің 7 тұқымдасында полиацетилендер синтезделетіні байқалған. *Aegopodium podagraria* L. өсімдігінің жапырағы мен сабағынан анықталған [14].

Қазақстанда кездесетін бежір өсімдігінің екі түрі де дәрілік өсімдік ретінде қолданғанымен өте аз зерттелген. Жоғарыда көрсетілгендей *Aegopodium podagraria* L. өсімдігінің фармакогенетикалық қасиеттері туралы зерттеулер кездескенімен, *Aegopodium alpestre* L. өсімдігінің емдік қасиеті мен морфологиялық, анатомиялық ерекшеліктері туралы зерттеулер жоқтың қасы.

Осыған байланысты, зерттеу жұмысымыздың мақсаты Қазақстанның Іле алатауы бөктерінде өсетін альпі бежірі – *Aegopodium alpestre* L. дәрілік өсімдігінің әртүрлі популяциясының морфологиялық, анатомиялық ерекшеліктерін зерттеу.

Зерттеу объектілері мен әдістері. Зерттеуге *Aegopodium alpestre* L. өсімдігінің екі популяциясының үлгілері алынды. Бірінші популяция Үлкен Алматы шатқалы аймағынан (шатқалдың басталар нүктесінің GPS координаттары: 43.136976, 76.903267. Биіктігі 1500 – 2500 м), екінші популяция Іле Алатауының теріскей баурайындағы Есік шатқалы көлі аймағынан (GPS координаттары: 43.256018, 77.485129. Биіктігі 1759 м) табылды. Өсімдік үлгілері Қазақстан флорасы арқылы анықталды [15]. Ботаника және фитоинтродукция институтының мамандарымен расталды.

Анатомиялық құрылысын зерттеу үшін фиксацияға алынған өсімдік үлгілері Страсбургер-Флемминг әдісі бойынша 1:1:1 дистилденген су, глицерин, спирт қатынасында сақталынды. Фиксацияланған өсімдіктердің жер асты және жер үсті мүшелерінің анатомиялық кесінділері 10–15 мкм МЗП-01 «Техном» электрондық микротом арқылы жасалынып, жалпы қабылданған әдістеме М.Н. Прозина (1960), А.Я. Пермяков (1988), Р.П. Барыкина (2004) құрылымдық талдаулар әдістері бойынша 1000-нан аса уақытша және тұрақты препараттар даярланды [16-18], анатомиялық зерттеулер жүргізіліп, микрофотографиялар жасалынды. Фотосуреттер және морфометрикалық көрсеткіштер MCX100 Trinocular MICROS (Австрия) видео микроскоп арқылы түсіріліп өлшенді.

Биометриялық көрсеткіштердің статистикалық өңдеуі Г.Ф. Лакин (1990) әдістемесі бойынша MS Excel бағдарламасы көмегімен жүргізілді [19].

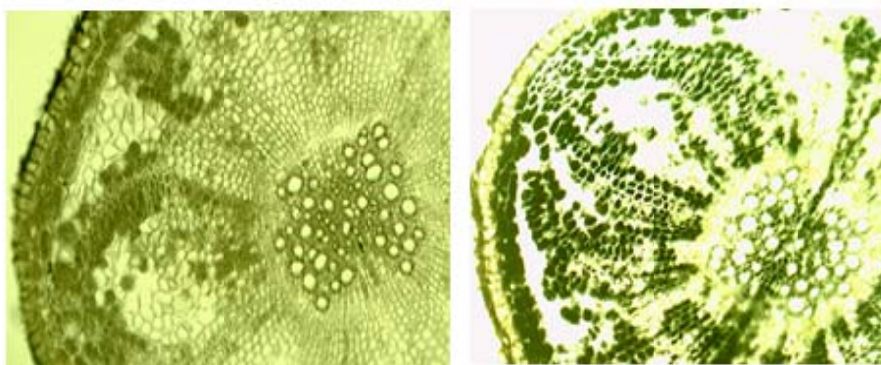
Зерттеу нәтижелері. Альпі бежірі (*Aegopodium alpestre* L.) – шатыргүлділер тұқымдасына жататын көп жылдық шөптесін өсімдік. Үлкен Алматы шатқалы аймағынан жиналған *Aegopodium alpestre* L. өсімдігінің қосалқы тамырлары көлденең тамырсабақта түзілген шашақ тәрізді болып келеді. Екі популяцияның да сабағы жалаң, жоғары жағы бұтақты келеді, *Aegopodium alpestre* L. өсімдігінің 1-ші популяциясының биіктігі $38 \pm 4,9$ см, 2 –ші популяция – $25,06 \pm 9,9$ см., жапырағының екі беті де жалаң, жұмыртқа пішінді, күрделі жапырақтары қауырсынды, сағақты жалаңаш қынапты, жапырақшаларының жиектері тісті, үшкір. Шатырша гүл шоғырлары 15-20 сәулелі (1-сурет).



1-сурет – *Aegopodium alpestre* L.

Тамырының анатомиялық құрылысы көлденең қимасында екі бөлімнен тұрады. Сыртын ризодерма қаптайды, оның астында бір қабат экзодерма жасушалары алғашқы қабықты қоршай орналасқан, бір қатар жасушалардан құралған эндодермамен аяқталады.

Екінші бөлімінде перицикл орталық цилиндрді қоршайды. *Aegopodium alpestre* L. өсімдігінің тамырының көлденең кесіндісінде тамырдың алғашқы құрылысында ксилема сәулесі диархты болатыны анықталды. Ксилема мен флоэма арасында бірнеше қатардан тұратын камбиальды қабаты анық көрінеді. Эпидермис қабатының астындағы екі қатар көлденең орналасқан қор жинаушы ұлпалар жасушалары орналасқа. Алғашқы қабықта да және ксилема сәулесінің арасындағы жасушаларда да крахмал дәндері кездеседі (2-сурет).



А

Б

2-сурет – *Aegopodium alpestre* L. тамырының анатомиялық құрылысы:

А – йодпен реакцияға дейін; Б-йодпен реакция нәтижесінде крахмал дәндерінің көрінісі

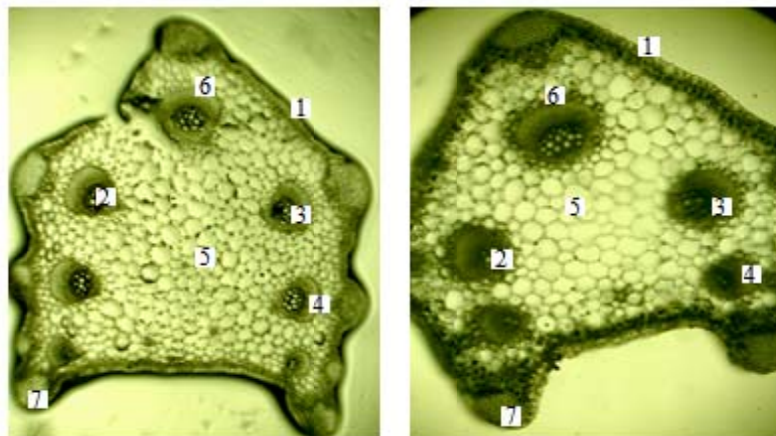
Іле Алатауы бөктерінен жиналған *Aegopodium alpestre* L. өсімдігінің екі популяциясының сабағының анатомиялық ерекшеліктерін зерттеу нәтижесі төмендегідей болды.

Aegopodium alpestre L. өсімдігі сабағының пішіні бес қырлы шөптесін өсімдік. Бірінші популяция өсімдігінің сабағының қалыңдығы $2576,84 \pm 0,12$ мкм, 2-ші – $1805,02 \pm 5,14$ мкм. Эпидермис қалыңдығы 1-ші популяцияда $47,85 \pm 0,59$ мкм, 2-шіде – $30,71 \pm 0,77$ мкм, оның астында жасуша қабығы қалыңдаған паренхималық жасушалар қабаты бар, көлемдері сәйкесінше $101,49 \pm 4,91$ және $55,93 \pm 4,07$ мкм. Сабақтың шеттеріндегі қырларда тығыз орналасқан колленхима ұлпасы жақсы жетілген: саны 1-ші популяцияда саны 7 – 9, қалыңдығы – $212,87 \pm 3,57$ мкм болса, 2-ші популяцияда – 5-7, қалыңдығы $146,57 \pm 0,29$ мкм. Сабақтың ортасындағы өзек біркелкі паренхималық жасушалардан тұрады. Өткізгіш шоқтары сабақ қабырғасын бойлай орналасқан (эустел), өткізгіш шоқ саны 1-ші популяцияда – 7, диаметрі $208,35 \pm 0,36$ мкм, 2-шіде – 5, диаметрі $155,63 \pm 0,35$ мкм (1-кесте).

1-кесте – *Aegopodium alpestre* L. өсімдігі сабағының анатомиялық құрылысының биометриялық көрсеткіштері*

Жиналған орны	Сабақтың қалыңдығы, мкм	Колленхима қалыңдығы, мкм	Паренхима, мкм	Эпидермис, мкм	Өткізгіш шоқ диаметрі (ең ірісі), мкм
Үлкен Алматы шатқалы	$2576,84 \pm 0,12$	$212,87 \pm 3,57$	$101,49 \pm 4,91$	$47,85 \pm 0,59$	$208,35 \pm 0,36$
Есік көлі	$1805,02 \pm 5,14$	$146,57 \pm 0,29$	$55,93 \pm 4,07$	$30,71 \pm 0,77$	$155,63 \pm 0,35$
*Үлкейтілуі 40 есе.					

Өткізгіш шоқ сыртын склеренхима жасушаларынан тұратын қынап қоршаған. Өткізгіш шоқ төрт элементтен: ксилеманың трахея түтіктерінен, флоэманың сүзгілі түтіктері мен оның серіктерінен, паренхималық және склеренхималық жасушалардан тұрады. Тұқымды өсімдіктердің сипатына тән өткізгіш шоқтары коллатеральды, ксилема адаксиальды, флоэма абаксиальды орналасқан (3-сурет).



А (40х)

Б (100х)

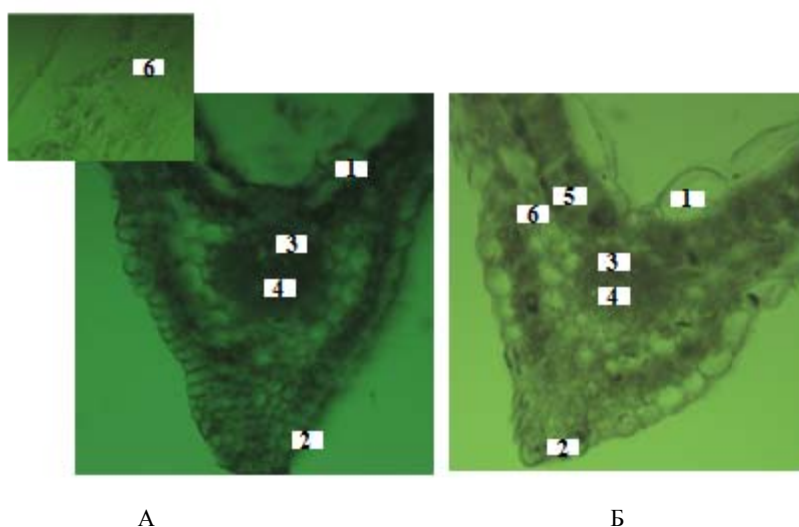
3-сурет – *Aegopodium alpestre* L. өсімдігінің сабағының анатомиялық құрылысы:

А – №1 популяция; Б – №2 популяция;

1 – эпидермис, 2 – ксилема, 3 – флоэма, 4 – лубтық қалпақша, 5 – паренхима, 6 – склеренхималық қынап, 7 – колленхима

Aegopodium alpestre L. өсімдігінің 1-ші популяциясының жапырағының жоғарғы эпидермисінің қалыңдығы $99,35 \pm 1,06$ мкм. ірі ұзынша келген жасушалардан, ал төменгі эпидермисінің қалыңдығы $62,25 \pm 0,82$ мкм. біркелкі ұсақ төрт бұрышты жасушалардан тұрады.

Бағаналы мезофилі қалыптаспаған, тек борпылдақ мезофилден тұрады, жасушаларының көлемі $98,12 \pm 3,67$ мкм. Ол өсімдіктің көлеңкелі ортада өсетінінің бір дәлелі болып табылады. Негізгі орталық жүйкеде бір өткізгіш шоғы бар, диаметрі $230,73 \pm 0,37$ мкм. Орталық жүйкенің қалыңдығы $1495,54 \pm 2,00$. Ксилема жапырақ тақтасының жоғарғы, ал флоэма төменгі бетінде орналасқан. Жапырақтың көлденең кесіндісінде ксилема дөңгелек пішінді, флоэма сүзгілі түтіктерден және



4-сурет – *Aegopodium alpestre* L. өсімдігінің жапырағының анатомиялық құрылысы:
А – 1-ші популяция; Б – 2-ші популяция. 1 – үстіңгі эпидермис, 2 – төменгі эпидермис,
3 – ксилема, 4 – флоэма, 5 – бағаналы мезофилл, 6 – борпылдақ мезофилл

оның серіктерінен тұрады. Жапырақ тақтасының төменгі бетіндегі колленхима ұлпасы жақсы қалыптасқан (4-сурет).

Aegopodium alpestre L. өсімдігінің 2-ші популяциясының жапырағының биометриялық көрсеткіштері 1-ші популяцияға қарағанда төмен (2-кесте): жоғары эпидермис – $91,21 \pm 3,83$ мкм, төменгі эпидермис – $55,52 \pm 0,32$ мкм, өткізгіш жүйке диаметрі – $175,15 \pm 0,37$ мкм, орталық жүйке – $1197,75 \pm 2,36$ мкм, мезофилл ұлпасының бағаналы жасушалары жақсы қалыптасқан – $115,71 \pm 1,09$ мкм, борпылдақ жасушалары – $83,48 \pm 2,25$ мкм.

2-кесте – *Aegopodium alpestre* L. өсімдігі жапырағының анатомиялық құрылысының биометриялық көрсеткіштері*

Жиналған орны	Өткізгіш шоқ ауданы, мкм	Мезофилл ұлпасы		Эпидермис қалыңдығы, мкм		Орталық жүйке қалыңдығы, мкм
		бағаналы жасуша	борпылдақ жасуша	жоғарғы	төменгі	
Үлкен Алматы шатқалы	$230,73 \pm 0,37$	–	$98,12 \pm 3,67$	$99,35 \pm 1,06$	$62,25 \pm 0,82$	$1495,54 \pm 2,00$
Есік көлі	$175,15 \pm 0,37$	$115,71 \pm 1,09$	$83,48 \pm 2,25$	$91,21 \pm 3,83$	$55,52 \pm 0,32$	$1197,75 \pm 2,36$

*Үлкейтілуі 100 есе.

Қорытынды. *Aegopodium alpestre* L. дәрілік өсімдігінің екі популяциясының морфологиялық ерекшеліктеріне жүргізілген талдау нәтижелерінде келесі диагностикалық белгілерін көруге: тамыры көлденең тамырсабақта түзілген шашақ тәрізді; сабағы жалаң, жоғары жағы бұтақталған, сабақтағы жапырақтары екі-үш тілімденген, сағақты жапырақтары жалаңаш қынапты, жиектері тісті, үшкір; гүл шоғыры шатыр $15-20$ сәулелі. *Aegopodium alpestre* L. өсімдігінің биіктігі 1-ші популяцияда екіншіге қарағанда орта есеппен 13 см. жоғары болды.

Тамырының анатомиялық көлденең кесіндісінде ксилема сәулесі диархты болатыны байқалды. Алғашқы қабық пен ксилема сәулелері арасында крахмал дәндері жинақталған.

Aegopodium alpestre L. дәрілік өсімдігінің 1-ші популяциясы өте көлеңкелі жерде өсетіні байқалды, себебі сабағында жақсы жетілген 7 өткізгіш шоғы анықталды және жапырағы тек борпылдақ мезофиллден тұрады. Ал екінші популяция сабағында өткізгіш шоқ саны – 5, жапырағында палисадты және борпылдақ жасушалары анық көрінеді.

Алынған нәтижелер толық зерттелмеген *Aegopodium alpestre* L. өсімдігінің биологиясы туралы мәліметтерді толықтыра отырып, дәрілік шикізат ретінде өсімдіктің фармакогнозиялық белгілерін анықтауға мүмкіндік береді.

ӘДЕБИЕТ

- [1] Грудзинская Л.М., Гемеджиева Н.Г., Нелина Н.В., Каржаубекова Ж.Ж. Аннотированный список лекарственных растений Казахстана. – Алматы, 2014. – 200 с.
- [2] Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Сем. Rutaceae – Elaeagnaceae. – Л.: Наука, 1988. – 357 с.
- [3] Флора СССР / Под ред. В.Л. Комарова. – М., Л.: Изд-во АН СССР, 1950. – В 30-и т. – Т. 16. – 451 с.
- [4] Штрыголь С. Ю. и др. Сныть обыкновенная // Провизор: журнал. – 2008. – № 7. – С. 5-10.
- [5] Лавренов В.К., Лавренова Г.В. Энциклопедия лекарственных растений народной медицины. СПб.: Изд. дом «Нева», 1997. – 198 с.
- [6] Дикорастущие полезные растения России / Ответ. ред. А.Л.Буденцев, Е.Е.Лесновская. – СПб.: Издательство СПХФЛ, 2001. – 663 с.
- [7] Tovchiga O.V. The influence of goutweed (*Aegopodium podagraria* L.) tincture and metformin on the carbohydrate and lipid metabolism in dexamethasone-treated rats // BMC COMPLEMENTARY AND ALTERNATIVE MEDICINE. – Vol. 16. – JUL 22 2016.
- [8] Olesen A. Lægeplanter fra danske urtehaven. – Frydenlund, København, 2000. – P. 134.
- [9] Prior R.M., Lundgaard N.H., Light M.E., Stafford G.I., J van Staden, Jäger A.K. Anti-inflammatory activity of *Aegopodium podagraria* L. // *Planta Medica*. – 2007. – P. T 73, I 9. 827-828.
- [10] Агеев В.А. Фармокогностическое исследование сныти обыкновенной: Автореферат. – Самара, 2013.
- [11] Товчига О.В. Исследование мочегонного, нефропротекторного, гипотуркического действия сныти обыкновенной как основа для создания лекарственных средств: Автореферат. – Харьков, 2009. – 14.03.05 – фармакология.
- [12] Койро О.О. Роль биологически активных веществ сныти обыкновенной (*Aegopodium podagraria* L.) в нефропротекторном, гепатопротекторном и гипотуркическом действии: Автореферат. – Харьков, 2013. – 14.03.05 – фармакология.
- [13] Коновалов Д.А. Природные полиацетиленовые соединения // Фармация и фармакология. – 2014. – № 4(5). – С. 23-40.
- [14] Karl E. Schulte Polyacetylene aus *Aegopodium podagraria* L. – 1977.
- [15] Флора Казахстана. – Т. 6. (Молочайные, Зонтичные и др.). – Алма-Ата, 1963. – 466 с.
- [16] Прокина М.Н. Ботаническая микротехника. – М., 1960. – 208 с.
- [17] Премаков А.Я. Микротехника. – М.: Изд.МГУ, 1988. – 58 с.
- [18] Барыкина Р.П. и др. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. – М.: Изд-во МГУ, 2004. – 312 с.
- [19] Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.

REFERENCES

- [1] Grudzinskaja L.M., Gemedzhieva N.G., Nelina N.V., Karzhaubekova Zh.Zh. Annotirovannyj spisok lekarstvennyh rastenij Kazahstana. Almaty, 2014. 200 p.
- [2] Rastitel'nye resursy SSSR: Cvetkovye rastenija, ih himicheskij sostav, ispol'zovanie; Sem. Rutaceae – Elaeagnaceae. L.: Nauka, 1988. 357 p.
- [3] Flora SSSR / Pod red. V. L. Komarova. M.; L.: Izd-vo AN SSSR, 1950. V 30 vol. Vol. 16. 451 p.
- [4] Shtrygol' S. Ju. i dr. Snyt' obyknovennaja // Provizor: zhurnal. 2008. N 7. P. 5-10.
- [5] Lavrenov V.K., Lavrenova G.V. Jenciklopedija lekarstvennh rastenij narodnoj mediciny. SPb.: Izd. dom «Neva», 198 p.
- [6] Dikorastushhie poleznye rastenija Rossii / Otvet. red. A.L.Budencev, E.E.Lesnovskaja. SPb.: Izdatel'stvo SPHFL, 2001. 663 p.
- [7] Tovchiga O.V. The influence of goutweed (*Aegopodium podagraria* L.) tincture and metformin on the carbohydrate and lipid metabolism in dexamethasone-treated rats. BMC COMPLEMENTARY AND ALTERNATIVE MEDICINE. Vol. 16. JUL 22 2016.
- [8] Olesen, A. Lægeplanter fra danske urtehaven. Frydenlund, København, 2000. P. 134.
- [9] Prior R.M., Lundgaard N.H., Light M.E., Stafford G.I., J van Staden, Jäger A.K. Anti-inflammatory activity of *Aegopodium podagraria* L. *Planta Medica* 2007. P. T 73, I 9. 827-828.
- [10] Ageev V.A. Farmokognosticheskoe issledovanie snyti obyknovennoj: Avtoreferat. Samara, 2013.
- [11] Tovchiga O.V. Issledovanie mohegonnogo, nefroprotektornogo, gipourikemicheskogo dejstvija snyti obyknovennoj kak osnova dlja sozdanija lekarstvennyh sredstv: Avtoreferat. Harkov' 2009. 14.03.05 – farmokologija.
- [12] Kojro O.O. Rol' biologicheskij aktivnyh veshhestv snyti obyknovennoj (*Aegopodium podagraria* L.) v nefroprotektornom, gepatoprotektornom i gipourikemicheskomo dejstvii: Avtoreferat. Harkov', 2013. 14.03.05 – farmokologija.
- [13] Konovalov D.A. Prirodnye poliacetilenovye soedinenija // Farmacija i farmakologija. – 2014. N 4(5). P. 23-40
- [14] Karl E. Schulte Polyacetylene aus *Aegopodium podagraria* L., 1977.
- [15] Flora Kazahstana. Vol. 6. (Molochajnye, Zontichnye i dr.). Alma-Ata, 1963. 466 p.
- [16] Prozina M.N. Botanicheskaja mikrotehnika. M., 1960. 208 p.
- [17] Premjakov A.Ja. Mikrotehnika. M.: Izd.MGU, 1988. 58 p.
- [18] Barykina R.P. i dr. Spravochnik po botanicheskij mikrotehnike. Osnovy i metody. M.: Izd-vo MGU, 2004. 312 p.
- [19] Lakin G.F. Biometrija. M.: Vysshaja shkola, 1990. 352 p.

Э. А. Кырбасова¹, Г. У. Дюскалиева¹, М. С. Курманбаева², Абигейл С. Ньюсам³

¹Казахский государственный женский педагогический университет, Алматы, Казахстан,

²Казахский Национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан,

³Миссисипи Валлей государственный университет, США

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ БИОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ И АНАТОМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ РАЗНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТЕНИЯ *AEGOPODIUM ALPESTRE* L. В УСЛОВИЯХ ЗАИЛИЙСКОГО АЛАТАУ

Аннотация. В статье даны биометрические показатели анатомо-морфологических особенностей двух популяций перспективного лекарственного растения *Aegopodium alpestre* L. Первая популяция *Aegopodium alpestre* L. была собрана в Большом Алматинском ущелье (GPS координаты начальной точки ущелья: 43.136976, 76.903267. Высота над уровнем моря 1500 – 2500 м), вторая популяция – на территории озера Иссыкского ущелья Заилийского Алатау (GPS координаты 43.256018, 77.485129. Высота над уровнем моря – 1714,5 м).

В результате морфологического исследования лекарственного растения *Aegopodium alpestre* L. выявлено, что корни в виде мочек образуются на горизонтальных корневищах, стебли голые, ветвистые в верхней части, высота растений 1-ой популяций 38±4,9 см, 2-ой – 25,06±9,9 см; листья голые с обеих сторон, яйцевидной формы, сидячие листья дважды-трижды дольчатые, черешковые листья с голыми влагалищами, края зубчатые, заостренные; зонтики 15-20 лучевые.

На поперечном анатомическом срезе корень диархный. В первичной коре, а также между лучами ксилемы накапливаются зерна крахмала.

Стебель пятигранный, на краях под эпидермисом местами хорошо развиты клетки колленхимы, проводящие пучки расположены на периферии стебля, количество проводящих пучков в *Aegopodium alpestre* L. 1-ой популяций 7, во 2-ой – 5, снаружи окружены склеренхимой.

На поперечном срезе листа в центральной жилке был обнаружен крупный проводящий пучок. Ксилемы направлены к верхнему эпидермису, а флоэма к нижнему, мезофилл листа 1-ой популяций состоит только губчатых клеток, второй – четко видны палисадные и губчатые мезофиллы.

Анатомические срезы были приготовлены микротомом МЗП-01 «Техном» (Екатеринбург). Биометрические измерения и фотографирование анатомического строения растения *Aegopodium alpestre* L., проводились на видеомикроскопе MCX100 Trinocular MICROS (Австрия).

Ключевые слова: *Aegopodium alpestre* L., *Aegopodium podagraria* L., ксилема, флоэма, склеренхима, колленхима, эпидермис, мезофилл.

Сведения об авторах:

Кырбасова Э. А. – докторант,

Дюскалиева Г.У. – д.б.н., профессор,

Курманбаева М.С. – д.б.н., и.о. профессора,

Ньюсам Абигейл С. – PhD доктор.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 167 – 173

L. N. Saidullayeva¹, Zh. Sh. Yusupbayev², D. E. Kudasova¹, A. A. Ospanova¹, R. A. Abildayeva¹¹M. Auezov South Kazakhstan State University, Shymkent, Kazakhstan² Regional Social and Innovation University, Shymkent, Kazakhstan.

E-mail: dariha_uko@mail.ru

**DESCRIPTION OF CHEMICAL AND MORPHOLOGICAL
COMPOSITION OF SECONDARY MEAT PRODUCTS**

Abstract. This article deals with the first results of the intensive breeding and fattening of young cattle obtaining mainly in large mechanized feedlots and in agro complexes. However, many of them were reorganized or ceased their operations in the transition to market and economic conditions. Besides providing agricultural production, combined fodder, mineral and vitamin supplements were stopped.

In this connection there is the need for extensive use of natural vegetable food and food industry waste.

Meat products of the second categories (head, ears, rump, udder) and internal organs (tongue, brain, liver, heart, kidney, trachea, esophagus, lungs, spleen, stomach, tendons, etc.) are by-products in the slaughtering.

Semi-finished products, pates and delicatessen of meat production were used for the study.

At this time, the work on the production and use of meat products of the second category for the catering is carrying out to increase the resources of the meat products. Therefore, in the meat industry for efficient use of meat products, special attention is paid to the quality of their processing with low material costs.

Keywords: sausages, semi-finished products, jellied meat, by-products, morphological structure, chemical composition.

ӘОЖ 636.2

Л. Н. Сайдуллаева¹, Ж. Ш. Юсупбаев², Д. Е. Кудасова¹, А. А. Оспанова¹, Р. А. Абилдаева¹¹М. Әуезов атындағы ОҚМУ, Шымкент, Қазақстан,²Аймақтық әлеуметтік-инновациялық университеті, Шымкент, Қазақстан**ҚОСАЛҚЫ ЕТ ӨНІМДЕРІНЕ МОРФОЛОГИЯЛЫҚ
ЖӘНЕ ХИМИЯЛЫҚ ҚҰРАМЫНА СИПАТТАМА**

Аннотация. Жұмыста жас мүйізді ірі қара малдың ересектерін қарқынды өсіру мен бордақылаудағы алғашқы жоғарғы нәтижелер негізінен ірі механикаландырылған бордақылау алаңқайлары мен кешендеріндегі жағдайларда жасалуы көрсетілген, ал олар нарықтық экономика жағдайына өткен кезде көбісі қайта құрылып, немесе өз қызметін тоқтатқан. Одан басқа ауыл өндірісіне, ТСА (табиғи сүтті ауыстырғыштар) құрама азықпен минералды-дәрумен қоспалармен қамтамасыз ету тоқтатылды. Осы жағдайларға байланысты қарқынды өсіру мен бордақылауда жергілікті табиғи жем мен өсімдік шаруашылығының тамақ өнеркәсібінің қалдықтарын шамасынша кеңінен қолдану қажеттілігін ескеру қажет.

Зерттеу барысында қосалқы ет өнімдері шұжықтарды, жартылай дайын өнімдерді, паштеттерді, дірілдіктерді өндірген кезде қолданады. Қазіргі таңда тағамдық мақсатқа II дәрежелі ет тәрзідес өнімдерді пайдалану нәтижесінде ет қорларын көбейту үшін жұмыстар жүргізілуде. Осы мәселеге орай қосалқы ет өнімдерін тиімді пайдалану үшін, оларды аз шығынмен сапалы өңдеуге, материалдық шығынды аз жұмсауға ет өнеркәсібінде үлкен назар аударылуда.

Түйін сөздер: шұжықтар, жартылай дайын өнімдер, дірілдіктер, қосалқы ет өнімдері, морфологиялық құрамы, химиялық құрамы.

Ғылыми негізде ұйымдастырылған түрде қарқынды өсіру, бордақылау сиыр етінің, I және II дәрежелі қосалқы ет өнімдері және басқа мал сойыс өнімдерінің сапасын жақсартып жаңа инновациялық өндірісті ұлғайтуға ықпал етеді, өйткені мал өнімдерінің азаюы малды толыққұнды азықтандырмауға, малдардың ауырмауына, күнделікті азықтану ережесін бұзуға байланысты болады [1-4].

Жас мүйізді ірі қара малдың ересектерін қарқынды өсіру мен бордақылаудағы алғашқы жоғарғы нәтижелер негізінен ірі механикаландырылған бордақылау алаңқайлары мен кешендеріндегі жағдайларда жасалған, ал олар нарықтық экономика жағдайына өткен кезде көбісі қайта құрылып, немесе өз қызметін тоқтатқан. Бұдан басқа ауыл өндірісіне, ТСА (табиғи сүтті ауыстырғыштар) құрама азықпен минералды-дәрумен қоспалармен қамтамасыз ету тоқтатылды. Осы жағдайларға байланысты қарқынды өсіру мен бордақылауда жергілікті табиғи жем мен өсімдік шаруашылығының тамақ өнеркәсібінің қалдықтарын шамасынша кеңінен қолдану қажеттілігін ескеру қажет [5].

Қажетті сападағы ет пен ет өнімдерін өндіру әлбетте ет ұшасымен ішкі мүшелерді қалыптастыратын қоспалардың өсуін анықтау және әр түрлі жастағы өсу кезеңдеріне ағзаның сыртқы орта жағдайларына деген қабілетіндегі талаптарын анықтауға арналған. Осыған орай ғылыми-зерттеу жұмыстарында салмақ қосу сипатын және ұшаның шығымы, іш майдың, ет өнімдерінің (I және II дәрежелі ет тәріздес өнімдер) туылғаннан кейінгі кезеңінде және өсіру мен бордақылаудың әр түрлі инновациялық технологиялық процестеріндегі сипаттарды зерттеу, мал шаруашылығы өнімдерін өндірудегі үдемелі инновациялық-технологияларды жасап шығаруға ықпал етеді [7].

Зерттеу барысында қосалқы ет өнімдері шұжықтарды, жартылай дайын өнімдерді, паштеттерді, дірілдіктерді өндірген кезде қолданады. Қазіргі таңда тағамдық мақсатқа II дәрежелі ет тәріздес өнімдерді пайдалану нәтижесінде ет қорларын көбейту үшін жұмыстар жүргізілуде [8]. Осы мәселеге орай қосалқы ет өнімдерін тиімді пайдалану үшін, оларды аз шығынмен сапалы өңдеуге, материалдық шығынды аз жұмсауға ет өнеркәсібінде үлкен назар аударылуда.

Қосалқы ет өнімдеріне мал сойғандағы екінші сұрыптағы өнімдер (бас, құлақ, құйрық, желін, ет кесінділері) және де ішкі мүшелер (тіл, ми, бауыр, жүрек, өкпе, көмей, жұтқыншақ, бүйрек, көкбауыр, асқазан, көк ет, өңеш жатады) [9].

Қосалқы ет өнімдері морфологиялық және химиялық құрамына байланысты I және II дәрежелерге бөлінеді [10].

I дәрежелі ет тәріздес өнімдерге тіл, бауыр, бүйректер, ми, жүрек, сиыр мен қой құйрымшақтары, сиыр желіні, ал II-сіне бас (мисыз және тілсіз), өкпе, өңештер (барлық малдың), көмей, барлық малдың көкбауырлары, құлақтары, сиыр мен шошқаның кеңірдектері; сиыр мен қойдың қарындары, ұлтабарлары, еріндері, сиыр жұмыршақтары (жалбыршақ қарындары), шошқа аяқтары, құйрықтары, ақазандары жатады [11].

Отандас және шетелдік авторлар жұмыстарында [12-15] ет тәріздес өнімдерді, техникалық шикізатты қайта өңдеудің және олардың тамақ пен азық мақсатында пайдаланудың жеке мәселелері қаралған. Сонымен бірге ет тәріздес өнімдерді пайдалану туралы, әсіресе II дәрежелі қосалқы ет өнімдері ет, жартылай фабрикалар, консервілер мен шұжық өнімдерін шығаруда пайдалану туралы мәліметтер аз. Сондықтан бұл бағытта ғылыми-зерттеу жұмыстарын жандандыру қажет деп есептейміз [16-20].

«Ішкі мүшелер деп жақтары, бас, мойын, кеуде, қуысы, іш, жамбас маңайларында орналасқан және өз тесіктері арқылы сыртқы ортамен байланысатын мүшелер жүйесі» деген түсінік бар деп жазады. Осыдан мынадай қорытынды жасауға болады, бауыр, бүйрек, көк ет, етті-сүйек құйрық, жүрек, ми және тіл қосалқы ет өнімінің I дәрежесіне, ал II дәрежелісіне ішкі мүшелер жатады [21]. Қосалқы ет өнімдеріне кіретін әрбір ішкі мүше әр түрлі қызметтерді атқарады. Салмағы 3,1 кг болатын бауыр дененің таза салмағынан 1,46% және бордақылауға қойғанда ұша салмағынан 2,47% құрады (1-кесте).

Бауыр майларды қорытатын өт бөледі және зат алмасуға процесінде қатысады, көмірсуларының (гликоген) жиналатын орыны болып табылады және қорғаныс рөлін орындайды, яғни бауырда түрлі улы заттар жойылады және қандағы ақуыздардың ыдырайтын өнімдері залалсыздандырылады [22].

Бордақылау кезінде ет тәріздес өнімдерге жататын ішкі мүшелер әр түрлі дәрежеде болады. Бұл кезінде ет тәріздес өнімдерге жататын ішкі мүшелер әр түрлі қарқындылықпен өседі. Бұл

1-кесте – Бұқашықтарды бордақылауға қойғандағы I дәрежелі ет тәріздес өнімдердің салмағы мен шығымы.

Көрсеткіштер	Бордақылауға қойғанда			
	тірілей салмақтан		дененің таза салмағынан, %	ұшаның таза салмағынан, %
	кг	%		
Бауыр	3,1±0,2	1,23	1,46	2,47
Бүйректер	0,65±0,05	0,26	0,31	0,52
Көк ет	1,25±0,06	0,49	0,59	1,0
Етті-сүйекті құйрық	0,65±0,04	0,26	0,30	0,51
Жүрек	0,97±0,02	0,38	0,45	0,77
Ми	0,36±0,01	0,14	0,17	0,29
Тіл	0,72±0,02	0,28	0,34	0,57

кезеңде бауырдың тірілей салмақтан шығымы 1,23 пайыздан 1,28-1,40 пайызға, ал дененің таза салмағынан (асқазан-ішек жолының тірілей салмағы) 1,46 пайыздан 1,51-1,66 пайызға дейін жоғарылады (2-кесте).

I-ші дәрежелі ет тәріздес өнімдердің ішінде сояр алдындағы салмақ пен ұша салмағынан бауырдан кейін жоғары үлес салмақтағы арындары көк ет (0,49 және 1%) және жүрек (0,38 және 0,77%) алады. Кеуде мен іш қуыстарының шекарасында көк ет - қатпарлы бұлшық ет, кеуде қуысына күмбез тәріздес болып кіріп тұрған және қабырғалар мен бел омыртқаларға бекіген бұл бұлшықет кеуде тынысындағы күшті ауа жұтқыш болып табылады [23].

Жүрек қан айналымдағы орталық мүше, ол үлкен және кіші жабық қан айналымдағы қандарды жүргізеді. Қандағы қозғалыс бір бағытта жүректің қақпақша құрылымы арқылы жүргізіледі, өйткені қақпақшалар қанның ағысына бөгет жасайды [24].

2-кесте – Бақылау тобындағы бұқашықтарды бордақылаудан кейінгі I дәрежелі ет тәріздес өнімдерге жататын мүшелердің салмағы мен шығымы, өсуі.

Көрсеткіштер	Салмағы, кг	Шығымы, %			Өсімі, кг	Өсу коэффициенті
		тірілей салмағынан	дененің таза салмағынан	ұша салмағынан		
Бауыр	3,9±60,1	1,28	1,51	2,54	0,86±0,12	1,03
Бүйректер	0,75±0,04	0,24	0,28	0,47	0,1±0,02	0,90
Көк ет	1,46±0,05	0,47	0,55	0,93	0,21±0,01	0,93
Етті-сүйекті құйрық	0,77±0,05	0,25	0,29	0,49	0,12±0,01	0,96
Жүрек	1,13±0,04	0,36	0,43	0,72	0,16±0,01	0,94
Ми	0,41±0,03	0,13	0,15	0,26	0,05±0,02	0,90
Тіл	0,82±0,05	0,26	0,31	0,52	0,10±0,04	0,91

Жүз күндік бордақылау кезінде көк ет мен жүректің үлес салмағы дененің таза салмағы мен ұшаның салмағына қатысты 0,59; 0,45 және 1; 0,77 пайыздан 0,55-0,63; 0,42-0,49 және 0,93-1,01; 0,70-0,78 пайызға дейін төмендеді.

Сояр алдындағы тірілей салмақтан бүйректер, етті-сүйекті құйрықтардың үлес салмағы, дененің таза салмағынан (0,31 және 0,30%) және ұша салмағынан (0,52 және 0,51%) болмашы артық немесе бірдей болды (2-кесте). Бүйрек – бұл жұпты немесе қос мүше, қызыл-қоңыр түсті, омыртқаның екі жағына бел аймағында орналасқан. Несеп бөлу мүшелері бүйректерден және несеп бөлетін жолдардан – бүйрек қуыстарынан, несеп ағу жолынан, қуықтан және несеп үрпісінен тұрады. Несеп бөлу мүшелері қаннан керексіз және зиян заттарды ағзадан шығару үшін, бірінші кезекте зат алмасудағы азот өнімін, сонымен қатар тұздар мен суды және қан құрамының тұрақтылығын сақтауға қызмет етеді. Бұл даусыз өте қажет қызмет, себебі ағзада жиналған ыдырау өнімдерінің қалдықтары жиналып ағза өзін өзі уландыра бастайды [25].

Бауырдың (1,03-1,09), көк еттің (0,91-1,01), етті-сүйекті құйрықтың (0,94-0,98) өсуі тілге (0,89-0,91), миға (0,90-0,93) және бүйректерге (0,77-0,90) қарағанда қарқынды жүрді. Бордақылау кезінде өсудің жоғары қарқындылығымен бауыр (1,03-1,09) және төмендігімен бүйректер (0,77-0,90) ерекшеленді. Бауырдың өсімі (1,65 кг қарсы 1,27 кг) көк еттің (0,55 кг қарсы 0,28 кг), етті-сүйекті құйрықтың (0,23 кг қарсы 0,16 кг) және жүректің (0,42 кг қарсы 0,22 кг) өсімі, бордақылау барысында II тәжірибе топтағы бұқашықтарда I тәжірибе, әсіресе бақылау (0,86; 0,21; 0,12; 0,16 кг) тобындағы жастары тетелес бұқашықтармен салыстырғанда жоғары ($P < 0,05$) болғаны байқалды [26].

Бұл ішкі мүшелердің өсу коэффициенттері екінші тәжірибе тобында (1,09; 1,01; 0,98 және 1,01) бірінші тәжірибе тобындағы малдарға (1,05; 0,91; 0,94 және 0,91), әсіресе бақылау тобындағы тетелестеріне (1,03; 0,93; 0,96; 0,94) қарағанда анағұрлым жоғары болды. Екінші тәжірибе тобындағы бұқашықтарда өсу қарқыны бойынша тілде (0,91), мида (0,93), I тәжірибе тобындағы бірдей жастағы бұқашықтармен салыстырғанда (0,89 және 0,90) жоғары, ал тәжірибе тобындағы жас төлдердің өсуі бойынша бүйректердің өсу коэффициенті (0,77) I тәжірибе және бақылау (0,88 және 0,90) тобындағыларға қарағанда төмен болды [27].

Сондықтан ет тәріздес өнімдерден жасалған барлық шұжық және консерві өнімдерінде олардың сапасы жақсарту үшін дәмін келтіріп, емдік-сақтандыру қасиетін жоғарылатын дәрілік шөптерді қоспаған. Осыған байланысты ғылыми-зерттеу жұмыстарында кең көлемде дәмдеуіш хош иісті және басқа дәрілік өсімдіктерді өкпе-бауыр шұжығы өнімдерін шығаруға пайдаланып жасау қажет [28].

Өкпе-бауыр шұжықтары сапа талабына сай болуы керек: батондар түбінен, сиыр ішектерінде немесе жасанды қабықтарды, тура немес иілген ұзындығы 50 см. бір жағынан байланған батонның төменгі жағынан 20-25 см. ұзындықта байланады.

Қарқынды өсіру мен бордақылаудан кейін сойылған бұқашықтардан алынған ет, ет өнімдерінен, сиыр етінен, көк ет, бүйрек, бауыр, аяқ, ерін, құлақтар, бастың жұмсақ еті, өңеш, тілдерді толығымен өңдеп, қосалқы ет өнімдерінен шұжық өнімдері дайындалды.

Ет тәріздес өнімдерден жасалған консервілер мен шұжық өнімдерінің сапасын жақсарту және емдік-алын алу қасиетін беру үшін оларға дәрілік өсімдіктер қосылды, олар мыналар: хош иісті райхан, бақша жебірі және бұрышты жалбыз [29].

Ет тәріздес өнімдердің химиялық құрамы еттің химиялық құрамына ұқсас, бірақ тағамдық нәрлілігі төмендеу, өйткені олардың құрамында толыққұнды нәрлі емес ақуыздар (коллаген, эластик), май және май тәріздес заттар бар.

Толыққұнды ақуыздар бауырда, бүйректерде, тілде жүректе болады.

Адамдардың тамақтануында қосалқы ет өнімдері пайдалы да қажет болып табылады. Құрамында коллагені бар ақуыздың байланыстырғыш ұлпаларды ысытқан кезде желатин түзеді, ол асқорытуға белсенді қатысып, асқазан мен ішектердің сөл бөлуіне ықпал етіп, ас қорыту қызметін жақсартады және ішектің микрофлорасының қызметі мен жағдайын жақсартып, оған оң әсер етеді.

Құрамында байланыстырғыш ұлпа ақуыздары жоғары ет пен ет тәріздес өнімдер атеросклероз, гипертония және жүректің ишемиясы бар науқастардың және де сонымен қатар жастары ұлғайған қариялар мен жүйкелері тез қозғыш адамдардың тамақтануына қажет.

Ет тәріздес өнімдер табиғи түрде және түрлі өнімдерді жасауда шикізат ретінде де жақсы қолданылса да олардың химиялық құрамы жеткілікті зерттелмеген. Барлық қосалқы ет өнімдері, әсіресе бауыр ақуыз бен дәрумендердің көзі болып саналады.

Қосалқы ет өнімдерінің құрамындағы ақуыз заттардың болуы еттен кем болмағанымен, ақуыздардың толық құндылығы жағынан айқын ерекшеленеді. Бірқатар авторлардың мәліметтері бойынша, бірінші орында құлақтар (25,24%), бауыр (17,4%), жүрек (13,5-15,1%), тілдер (12,6-14,2%), соңғы орында кеңірдек (10,5%).

Бауыр майларды қорытатын өт бөледі; зат алмасуға қатысады, көмірсуларының (гликоген) жиналатын орыны болып табылады және қорғаныс рөлін орындайды, яғни бауырда түрлі улы заттар жойылады және қандағы ақуыздардың ыдырайтын өнімдері залалсыздандырылады [30].

I-ші дәрежелі ет тәріздес өнімдердің ішінде сояр алдындағы салмақ пен ұша салмағынан бауырдан кейін жоғары үлес салмақтағы арындары көк ет (0,49 және 1%) және жүрек (0,38 және 0,77%) алады. Кеуде мен іш қуыстарының шекарасында көк ет - қатпарлы бұлшық ет, кеуде қуы-

сына күмбез тәріздес болып кіріп тұрған және қабырғалар мен бел омыртқаларға бекіген бұл бұлшықет кеуде тынысындағы күшті ауа жұтқыш болып табылады.

Жүрек қан айналымдағы орталық мүше, ол үлкен және кіші жабық қан айналымдағы қандарды жүргізеді. Қандағы қозғалыс бір бағытта жүректің қақпақша құрылымы арқылы

Сырдың қосалқы ет өнімдерінде жоғары майлылығымен желін, ми, құйрық, тіл ерекшеленсе, майлылығы аздау болып бүйрек, жүрек, өкпе ерекшеленеді.

ӘДЕБИЕТ

[1] Podar C., Sievas E., Daneasa M. Unele aspect ale cresteril compensatoare in ingrasarea tineretului taurin // Prod. Anim. Zootehn. Med. veter. – 1991. – Vol. 39, N 11. – P. 17-24.

[2] Тамаровский М.В. Экономические и социальные предпосылки разведение галловейского скота в Республике Казахстан // Жаршы. – Алматы: Бастау, 2004. – N 4. – С. 14-15.

[3] Червинский А.П. Развитие костяка у овец при нормальных условиях, при недостаточном питании и после кастрации самцов в раннем возрасте. – М., 1990. – Т. 1. – С. 148-170.

[4] Узиков Я.М. Современное состояние и пути развития мясной промышленности в Республике Казахстан // Пищевая и перерабатывающая промышленность Казахстана. – Алма-Ата, 2004. – N 1. – С. 4-6.

[5] Узиков Я.М., Рыскелдиев Б.А., Байболова Л.К. Мясная промышленность Республики Казахстана // Проблемы и перспективы. – Алма-Ата, 2008. – № 1. – С. 6-8.

[6] Узиков Я.М., Рыскелдиев Б.А., Байболова Л.К. Мясная промышленность Республики Казахстан // Пищевая промышленность Казахстана. – Алма-Ата, 2004. – № 5. – С. 16-19.

[7] Баймуханов А., Курманбай У. Мясная продуктивность молодняка верблюдов казахского бактриана // Поиск. – Алматы: ВШК, 2003. – № 2. – С. 227-237.

[8] Зарпуллаев Ш.Н., Жуманбаев А.С., Алиханов Ж. Интенсивное выращивание, откорм и мясная продуктивность некондиционного молодняка крупного рогатого скота // Научные основы развития сельского хозяйства на юге Казахстана: сб. науч. трудов ЮКИНИИСХ. – Алматы: Бастау, 2001. – С. 204-216.

[9] Фомичев Ю.П., Архипов Г.И., Кислов А.В., Матусевич В.Е., Комаров Л.Л. Интенсификация мясного скотоводства. – М.: Росагропромиздат, 1991. – 72 с.

[10] Аманжолов К.Ж., Мелдебеков А.М. Производство говядины и кожевенно сырья высокого качества в Казахстане: Монография. – Алматы, 2001. – 164 с.

[11] Семенюк Н.И. Круглогодовой откорм молодняка крупного рогатого скота на однотипных рационах // Молочное и мясное скотоводство. – М., 1990. – № 8. – С.18.

[12] Левахин В.И. Интенсивное выращивание молодняка крупного рогатого скота // Сб. науч. трудов Всесоюзного НИИ мясного скотоводства. – М., 1990. – С. 6.

[13] Жузенов Ш.А., Жусупов М., Кулиев Т.М. Как правильно выращивать бычков казахской белоголовой породы до высокой кондиции // Агроинформ. – Астана, 2006. – № 8. – С. 17-18.

[14] Жузенов Ш.А., Жазылбеков Н.А., Жусупов М. Эффективность производства говядины в зависимости от съёмной живой массы бычков казахской белоголовой породы // Животноводство, кормопроизводство и ветеринария. – Алматы: Бастау, 2006. – № 2. – С. 72-73.

[15] Байболова Л.К., Таева А.М., Сулейменова Г.Х. Использование субпродуктов II категории в производстве кулинарных изделий // Тез. докл. науч.-практ. конф. – Алматы: Бастау, 1997. – С. 87-93.

[16] Дьяков С.М. Высокопитательные корма в рационах молодняка крупного рогатого скота на откорм // Молочные и мясные скотоводство. – М., 1990. – Вып. 12, № 8. – С. 18.

[17] Никитченко В.Е., Бойко И.А., Гудыменко В.И., Мавроммати П.П. Мясная продуктивность и качество мясо бычков вкармливания им люцерновых гранул // Молочное и мясное скотоводство. – М., 1990. – Вып. 12. – С. 20.

[18] Афанасьев Г.И., Никитченко В.Е. Эффективность производства говядины привывращивании и откорме помесных симментальных гомитинских бычков // Молочное и мясное скотоводство. – М., 1990. – Вып. 12. – С. 19.

[19] Кажыбаева Г.Т., Тулеуов Е.Т. Проектирование рецептуры паштета «жағымды» с применением белкового комплекса // Мат. Межд. науч.-техн. конф. – Алматы: Бастау, 2000. – С. 391.

[20] Тулеуов Е.Т., Кажыбаева Г.Т. Использование кишечного сырья в производстве мясных продуктов // Хранение и переработка сельхозсырья. – Алматы: Бастау, 1998. – № 6. – С. 44.

[21] Файшиевский М.Л. Малоотходные технологии на мясокомбинатах. – М.: Колос, 1993. – С. 207.

[22] Кажыбаева Г.Т., Тулеуов Е.Т. Использование кишечного сырья в колбасном производстве // Информ. листок Семипалатинский ЦНТИ. – Семей, 1998. – 23 с.

[23] Аманжолов Қ.Ж., Құлмұхамедов А.И. Ет өндірудің қолайлы технологиясы // Жаршы. – Алматы: Бастау, 2003. – № 9. – Б. 3-9.

[24] Баймухамбетов М.А., Рахимов К.Д., Алимгазинова Б.Ш., Нургожин Т.С. Фитотерапия сердечно-сосудистых заболеваний. – Алматы, 2000. – 212 с.

[25] Ушбаев К.У., Никонов Г.К. Лечебные свойства растений Казахстана. – Алматы, 1994. – 214 с.

[26] Абрамова Ж.И., Березовецкова И.П., Котельникова Н.Е., Куманичкин С.Д., Щедрунов В.В. Способ приготовления мясных рубленых изделий // Описания изобретения. SU 1591929 (51)5 A23L1/31. – М., 1990. – № 34. – С. 25.

[27] Горошко Г.П., Коршунова Т.Н., Лицын А.В., Любченко В.И. Пищевая добавка для производства мясных изделий, например сырокопченых колбас // Описания изобретения RU 2115341 6A23L1/314. – М., 1998. – № 20. – С. 269.

- [28] Антипова Л.В., Рогов И.А., Глотова И.А. Методы исследования мяса и мясных продуктов. – М.: Колос, 2001. – 376 с.
- [29] Петенко А.И., Кофман М.В. Описания изобретения. Способ откорма молодняка крупного рогатого скота. СИ. 1801384(51) 5A23K1/16. №10.1993. –10 с.
- [30] Рогов И.А. Общая технология мяса и мясopодуlктов. – М.: Колос, 2000. – С. 367.

REFERENCES

- [1] Podar C., Sievas E., Daneasa M. Unele aspect ale cresteril compensatoare in ingrasarea tineretului taurin // Prod. Anim. Zootehn. Med. veter. 1991. Vol. 39, N 11. P. 17-24.
- [2] Tamarovskij M.V. Jekonomicheskie i social'nye predposylki razvedenie gallovejskogo skota v Respublike Kazahstan // Zharshy. Almaty: Bastau, 2004. N 4. P. 14-15.
- [3] Chervinskij A.P. Razvitie kostjaka u ovec pri normal'nyh uslovijah, pri nedostatochnom pitanii i posle kastarcii samcov v rannem vozraste. M., 1990. Vol. 1. P. 148-170.
- [4] Uzakov Ja.M. Sovremennoe sostojanie i puti razvitija mjasnoj promyshlennosti v Respublike Kazahstan // Pishhevaja i pererabatyvajushhaja promyshlennost' Kazahmtana. Alma-Ata, 2004. N 1. P. 4-6.
- [5] Uzakov Ja.M., Ryskeldiev B.A., Bajbolova L.K. Mjasnaja promyshlennost' Respubliki Kazahstana // Problemy i perspektivy. Alma-Ata, 2008. N 1. P. 6-8.
- [6] Uzakov Ja.M., Ryskeldiev B.A., Bajbolova L.K. Mjasnaja promyshlennost' Respubliki Kazahstan // Pishevaja promyshlennost' Kazahstana. Alma-Ata, 2004. N 5. P. 16-19.
- [7] Bajmuhanov A., Kurmanbaj U. Mjasnaja produktivnost' molodnjaka verbljudov kazahskogo baktariana // Poisk. Almaty: VShK, 2003. N 2. P. 227-237.
- [8] Zarpullaev Sh.N., Zhumanbaev A.S., Alihanov Zh. Intensivnoe vyrashhivanie, otkrm i mjasnaja produktivnost' nekondicionnogo molodnjaka krupnogo rogatogo skota // Nauchnye osnovy razvitija sel'skogo hozjajstva na juge Kazahstana : sb. nauch.trudov JuKINIISH. Almaty: Bastau, 2001. P. 204-216.
- [9] Fomichev Ju.P., Arhipov G.I., Kislov A.V., Matusevich V.E., Komarov L.L. Intensifikacija mjasnogo skotovodstva. M.: Rosagropromizdat, 1991. 72 p.
- [10] Amanzholov K.Zh., Meldebekov A.M. Proizvodstvo govjadiny i kozhevennoo syr'ja vysokogo kachkstva v Kazahstane: Monografija. Almaty, 2001. 164 p.
- [11] Semenjuk N.I. Kruglogodovoj otkorm molodnjaka krupnogo rogatogo skota na odnotipnyh racionah // Molochnoe i mjasnoe skotovodstvo. M., 1990. N 8. P. 18.
- [12] Levahin V.I. Intensivnoe vyrashhivanie molodnjaka krupnogo rogatogo skota // Sb. nauch. trudov Vsesojuznogo NII mjasnogo skotovodstva. M., 1990. P. 6.
- [13] Zhuzenov Sh.A., Zhusupov M., Kuliev T.M. Kak pravil'no vyrashhivat' bychkov kazahskoj belogolovoj porody do vysokoj kondicii // Agroinform. Astana, 2006. N 8. P. 17-18.
- [14] Zhuzenov Sh.A., Zhazylbekov N.A., Zhusupov M. Jefferktivnost' proizvodstva govjadiny v zavisimosti ot s#emnoj zhivoj massy bychkov kazahskoj belogolovoj porody // Zhivotnovodstvo, kormoproizvodstvo i veterinacija. Almaty: Bastau, 2006. N 2. P. 72-73.
- [15] Bajbolova L.K., Taeva A.M., Sulejmenova G.H. Ispolzovanie subproduktov II kategorii v proizvodstve kulinarных izdelii // Tez. dokl. nauch.-prakt. konf. Almaty: Bastau, 1997. P. 87-93.
- [16] D'jakov S.M. Vysokopitateľnye korma v racionah molodnjaka krupnogo rogatogo skota na otkorm // Molochnye i mjasnye skotovodstvo. M., 1990. Vyp. 12, N 8. P. 18.
- [17] Nikitchenko V.E., Bojko I.A., Gudymenko V.I., Mavrommati P.P. Mjasnaja produktivnost' i kachestvo mjaso bychkov vskarmlivanii im ljucernovyh granul // Molochnoe i mjasnoe skotovodstvo. M., 1990. Vyp. 12. P. 20.
- [18] Afanas'ev G.I., Nikitchenko V.E. Jefferktivnost' proizvodstva govjadiny privyrashhivanii i otkorme pomesnyh simmental'nyh gomitinskij bychkov // Molochnoe i mjasnoe skotovodstvo. M., 1990. Vyp. 12. P. 19.
- [19] Kazhibaeva G.T., Tuleuov E.T. Proektirovanie receptury pashteta «zharymdy» s primeneniem belkovogo kompleksa // Mat. Mezhd. nauch.-tehn. konf. Almaty: Bastau, 2000. P. 391.
- [20] Tuleuov E.T., Kazhibaeva G.T. Ispolzovanija kishechnoo syr'ja v proizvodstve mjasnyh produktov // Hranenie i pererabotka sel'hozsyryja. Almaty: Bastau, 1998. N 6. P. 44.
- [21] Fajshievskij M.L. Maloethodnye tehnologii na mjasokombinatah. M.: Kolos, 1993. P. 207.
- [22] Kazhibaeva G.T., Tuleuov E.T. Ispolzovanie kishechnogo syr'ja v kolbasnom proizvodstve // Inform. listok Semi-palatinskij CNTI. Semej, 1998. 23 p.
- [23] Amanzholov K.Zh., Kulmuhamedov A.I. Et ondirudin kolajly tehnologijasy // Zharshy. Almaty: Bastau, 2003. N 9. P. 3-9.
- [24] Bajmuhambetov M.A., Rahimov K.D., Alimgazinova B.Sh., Nurgozhin T.S. Fitoterapija serdechno-sosudistyh zabolevanij. Almaty, 2000. 212 p.
- [25] Ushbaev K.U., Nikonov G.K. Lechebnye svojstva rastenij Kazahstana. Almaty, 1994. 214 p.
- [26] Abramova Zh.I., Berezeveckova I.P., Kotel'nikova N.E., Kumanichkin S.D., Shhedrunov V.V. Sposob prigotovlenija mjasnyh rublenyх izdelij // Opisanija izobretenija. SU 1591929 (51)5 A23L1/31. M., 1990. N 34. P. 25.
- [27] Goroshko G.P., Korshunova T.N., Liacyn A.V., Ljubchenko V.I. Pishhevaja dobavka dlja proizvodstva mjasnyh izdelij, naprimer syrokopchennyh kolbas // Opisanija izobretenija RU 2115341 6A23L1/314. M., 1998. N 20. P. 269.
- [28] Antipova L.V., Rogov I.A., Glotova I.A. Metody issledovanija mjaso i mjasnyh produktov. M.: Kolos, 2001. 376 p.
- [29] Petenko A.I., Kofman M.V. Opisanija izobretenija. Sposob otkorma molodnjaka krupnogo rogatogo skota. SI. 1801384(51) 5A23K1/16. N 10.1993. 10 p.
- [30] Rogov I.A. Obshhaja tehnologija mjaso i mjasoproduktov. M.: Kolos, 2000. P. 367.

Л. Н. Сайдуллаева¹, Ж. Ш. Юсупбаев², Д. Е. Кудасова¹, А. А. Оспанова¹, Р. А. Абилдаева¹

¹ЮКГУ им. М. Ауезова, Шымкент, Казахстан,

²Региональный социально-инновационный университет, Шымкент, Казахстан

ОПИСАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО И МОРФОЛОГИЧЕСКОГО СОСТАВА ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ МЯСОПРОДУКТОВ

Аннотация. В работе рассмотрены результаты интенсивного выращивания и откорма молодняков крупнорогатого скота полученные в основном в условиях крупных механизированных откормочных площадок и агрокомплексов. Однако многие при переходе к рыночно-экономическим условиям реорганизовались или прекратили свою деятельность. Кроме того, обеспечение сельскохозяйственных производств комбинированными кормами и минерально-витаминными добавками прекращалось.

В связи с этими возникает необходимости широкого использования натуральных природно-растительных кормов и отходов пищевой промышленности.

При забое скота к субпродуктам относят мясные продукты второй категории (голова, уши, курдюк, вымя) и внутренние органы (язык, мозг, печень, сердце, почки, трахея, пищевод, легкие, селезенки, желудок, сухожилия и др.)

Для исследования используются полуфабрикаты, паштеты, формы и колбасные изделия мясных производств.

В данное время для увеличения ресурсов мясных продуктов проводятся работы по производству и использованию мясных продуктов второй категории для общественного питания. Поэтому в мясной промышленности для эффективного использования мясоподобных продуктов особое внимание уделяется на их качественную переработку с малыми материальными затратами.

Ключевые слова: колбасы, полуфабрикаты, холодец, субпродукты, морфологическая структура, химический состав.

Авторлар туралы мәлімет:

Юсупбаев Жақсылық – ауылшаруашылығы ғылымдарының кандидаты, доцент, «Биология» кафедрасы, Аймақтық әлеуметтік-инновациялық университеті

Абилдаева Роза Абдрахманқызы – биология ғылымдарының кандидаты, доцент, «Химиялық инженерия және Биотехнология» ЖМ, «Биотехнология» кафедрасы, М. Әуезов атындағы ОҚМУ

Құдасова Дариха Ерәділқызы – магистр-оқытушы, «Химиялық инженерия және Биотехнология» ЖМ, «Биотехнология» кафедрасы, М. Әуезов атындағы ОҚМУ

Оспанова Айкерим Абдрахманқызы – магистр, аға оқытушы, «Химиялық инженерия және Биотехнология» ЖМ, «Биотехнология» кафедрасы, М. Әуезов атындағы ОҚМУ

Сайдуллаева Лайла Нұрланқызы – магистрант, «Биология» кафедрасы, Аймақтық әлеуметтік-инновациялық университеті

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 174 – 179

A. A. Khakimzhanov, B. Tilegen, N. S. Mamytova, D. A. Shansharova V. A. Kuzovlev

M. A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry, CS MES RK, Almaty, Kazakhstan.
E-mail: a.khakimzhanov@mail.ru

INHIBITION OF STARCH HYDROLYSIS BY α -AMYLASE FROM WHEAT GRAINS WITH CYCLODEXTRINS

Abstract. The effect of various cyclodextrins on binding α -amylase to starch granules isolated from wheat grain and their hydrolysis were studied. α -Cyclodextrin has the greatest ability to inhibit enzyme, γ -cyclodextrin characterized by low inhibitory capacity. Not revealed significant differences in the action of β -cyclodextrin on the activity of the two groups of the enzyme – Amy1 and Amy2. Among α -amylases of germinating grains, the forms that do not capable to binding starch granules, as well as affinity sorbent α -cyclodextrin-sepharose were detected. This implies a possible "blocked" binding site of part the enzyme with endogenous oligosaccharides.

Keywords: wheat, α -amylase, cyclodextrins, starch granules, binding, hydrolysis.

УДК 577.29:581.19

А. А. Хакимжанов, Б. Тилеген, Н. С. Мамытова, Д. А. Шаншарова, В. А. Кузовлев

Институт молекулярной биологии и биохимии им. М. А. Айтхожина КН МОН РК, Алматы, Казахстан

ИНГИБИРОВАНИЕ ГИДРОЛИЗА КРАХМАЛА α -АМИЛАЗОЙ ИЗ ЗЕРНА ПШЕНИЦЫ ЦИКЛОДЕКСТРИНАМИ

Аннотация. Исследовано действие различных циклодекстринов на связывание α -амилазы крахмальными гранулами, выделенными из зерна пшеницы и их гидролиз. Наибольшей способностью к ингибированию фермента обладал α -циклодекстрин, γ -циклодекстрин характеризовался низкой ингибиторной способностью. Не выявлено существенных различий в действии β -циклодекстрина на активность двух групп фермента – Ами1 и Ами2. В составе α -амилазы прорастающей зерновки обнаружены формы, не способные связываться гранулами крахмала, а также аффинным сорбентом α -циклодекстрин-сефарозой. Это предполагает возможную «забивку» центра связывания у части фермента эндогенными олигосахарами.

Ключевые слова: пшеница, α -амилаза, циклодекстрины, крахмальные гранулы, связывание, гидролиз.

Введение. α -Амилаза зерна злаковых весьма полиморфна и представлена двумя основными группами: α -Ами1 с ИЭТ в районе 5,8 и α -Ами2 с ИЭТ около 4,5. Изоферменты двух групп отличаются по степени аффинности к катионам кальция, чувствительности к рН и повышенной температуре [1]. В распаде крахмала принципиальную важность имеет α -амилаза «прорастания» (Ами1), выполняющая роль ферментов первичной атаки нативных гранул. Повышенная активность α -амилазы вследствие повреждения зерна предуборочным прорастанием значительно снижает качество муки и хлеба [2, 3]. В связи с этим исследование ингибиторов как естественных регуляторов зерновой α -амилазы представляется весьма важным.

Среди углеводистых регуляторов активности α -амилазы наиболее известны циклические декстрины (ЦД) микробного происхождения, а также синтетический олигосахарид акарбоза [4, 5]. Было показано, в том числе и в нашей лаборатории, что циклогексаамилоза (α -циклодекстрин) и циклогептаамилоза (β -циклодекстрин) способны ингибировать сорбцию α -амилазы из ряда

источников (рожь, тритикале, рис, кукуруза) с гранулированным (нативным) крахмалом путем блокирования или «забивки» дополнительного активного центра, ответственного за связывание фермента с субстратом [6,7,8]. Благодаря этим уникальным свойствам α - и β -циклодекстрины нашли широкое применение в качестве эффективных аффинных лигандов для очистки многих амилолитических ферментов, в том числе α - и β -амилаз. К сожалению, в этих работах не уделялось внимания изучению специфичности действия циклодекстринов на различные изоформы зерновых α -амилаз. Между тем это имеет не только фундаментальное, но и прикладное значение, поскольку нежелательная повышенная автолитическая активность пшеничной муки обуславливается в основном присутствием α -амилазы «прорастания» (группа α -Ами1).

Таким образом, регулирование активности α -амилазы различными веществами как в самом зерне, так и в условиях различных технологических процессов, в том числе хлебопечения, напрямую связано с особенностями структуры самого фермента. Поскольку циклодекстрины являются веществами природного происхождения, то логично их изучение в качестве регуляторов активности весьма важных для пищевых технологий амилолитических ферментов.

Материалы и методы. В работе использовали зерно пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с. Казахстанская 10.

Очистку тотальной α -амилазы из проросшего зерна пшеницы проводили методом precipitation на гликогене в 40% этаноле [9]. Разделение α -амилазы на группы изоферментов Ами1 и Ами2 проводили с помощью ионообменной хроматографии по методу, описанному в работе [10]. Активность α -амилазы определяли колориметрическим крахмал-йодным методом [9].

Крахмальные гранулы (КГ) выделяли из пшеничного шрота тонкого помола методом многократной декантации в дистиллированной воде и центрифугирования по методу [11]. Полученный сырой препарат КГ промывали тремя объемами этилового спирта, высушивали 48 ч при 35 °С и хранили при комнатной температуре.

Для связывания α -амилазы с крахмальными гранулами образец с известной активностью смешивали с 10–20 мг пшеничных КГ в 1 мл 0,05 М ацетатного буфера pH-5,3 с 1 мМ CaCl₂. Пробирки закрывали и слабо встряхивали в течение необходимого времени при 6 °С на шейкере для оптимальной адсорбции фермента. После этого смесь центрифугировали при 2000 g 5 мин. В супернатанте определяли количество связавшейся α -амилазы по разнице между количеством добавленного фермента и его количеством в супернатанте по окончании инкубации.

Для гидролиза крахмальных гранул α -амилазой образец с известной активностью смешивали с 10–20 мг пшеничных КГ в 1 мл 0,05 М ацетатного буфера pH-5,3 с 1 мМ CaCl₂. Пробирки закрывали и слабо встряхивали в течение необходимого времени при 24 °С на орбитальном шейкере. Через определенные интервалы времени отбирали равные аликвоты супернатанта и хранили до анализа при +4 °С. Активность фермента определяли по количеству мальтозы, образовавшейся в результате гидролиза крахмала [9].

Результаты исследований

Как отмечалось выше, циклодекстрины способны предотвращать сорбцию α -амилазы на естественном субстрате крахмальных гранулах и, как следствие, их гидролиз. Циклодекстрины различаются по количеству остатков глюкозы. Так, простейший представитель - α -ЦД содержит 6, β -ЦД - 7, а γ -ЦД - 8 глюкопиранозных звеньев. ЦД образуются в результате превращения крахмала под действием бактериального фермента циклодекстрин-глюканотрансферазы. Эти соединения не являются токсичными и применяются в медицине, фармацевтике, а также научных исследованиях [12]. С помощью β -ЦД в структуре α -амилазы было установлено наличие второго активного центра, ответственного за связывание фермента с крахмальными гранулами. Заполнение этого центра углеводом препятствует «посадке» α -амилазы на гранулу и ее гидролиз. При этом каталитический центр остается свободным, что позволяет ферменту гидролизовать растворимый крахмал [13].

В наших экспериментах использовались циклодекстрины фирмы Sigma-Aldrich (США), а в качестве субстрата – полученный нами в лабораторных условиях гранулированный крахмал из зерна пшеницы. Процедуры очистки α -амилазы и КГ приведены в методическом разделе. Предварительно было проверено, что все три использованных циклодекстрина не действовали на

активность α -амилазы в отношении растворимого крахмала и не давали положительной реакции с ДНС реагентом при определении редуцирующих сахаров (мальтозы).

На первом этапе опробована ферментсвязывающая способность выделенного нами гранулированного крахмала. В параллельных опытах ферменты Ами1 и Ами2 добавляли к суспензии КГ и осторожно раскачивали на шейкере при +4 °С для минимизации гидролиза. О количестве сорбированного фермента судили по остаточной активности в супернатанте. Сравнительная кинетика активности 2-х групп изоферментов КГ представлена на рисунке 1, из которого видно, что гранулы обладали хорошей связывающей способностью. Можно также заметить отличительные особенности между двумя группами в скорости связывания с субстратом. Для Ами1 процесс сорбции завершился уже к 1 часу, в то время как связывание Ами2 медленно продолжалось вплоть до конца периода инкубации. Более того, фермент Ами1, очевидно, менее прочно взаимодействовал с гранулой и начинал высвобождаться к 5 часу.

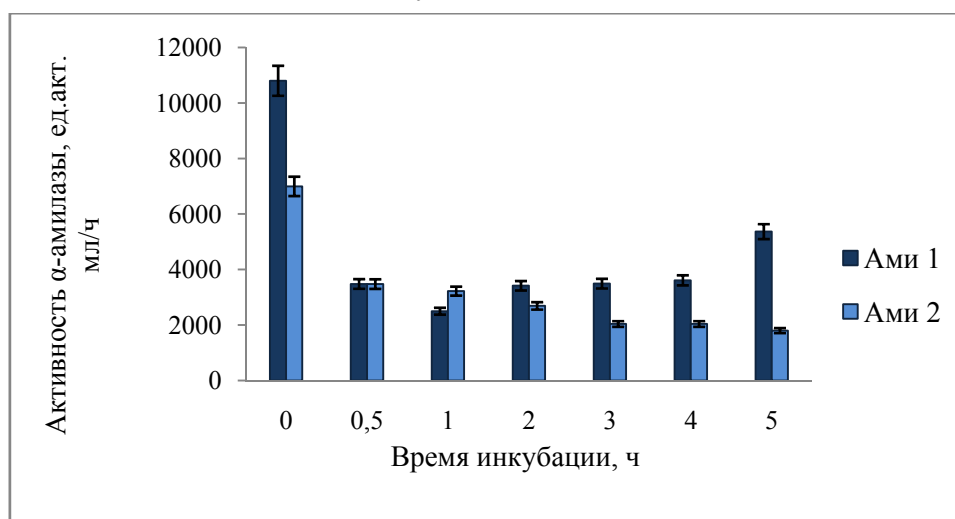
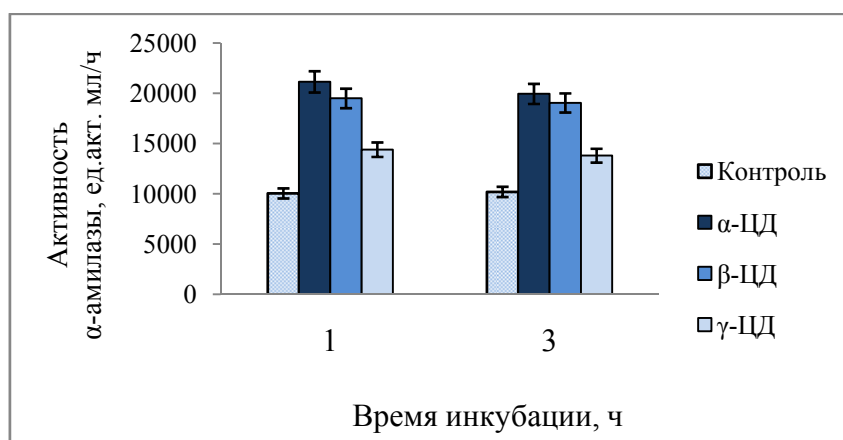


Рисунок 1 – Временная динамика сорбции изоферментов α -амилазы крахмальными гранулами

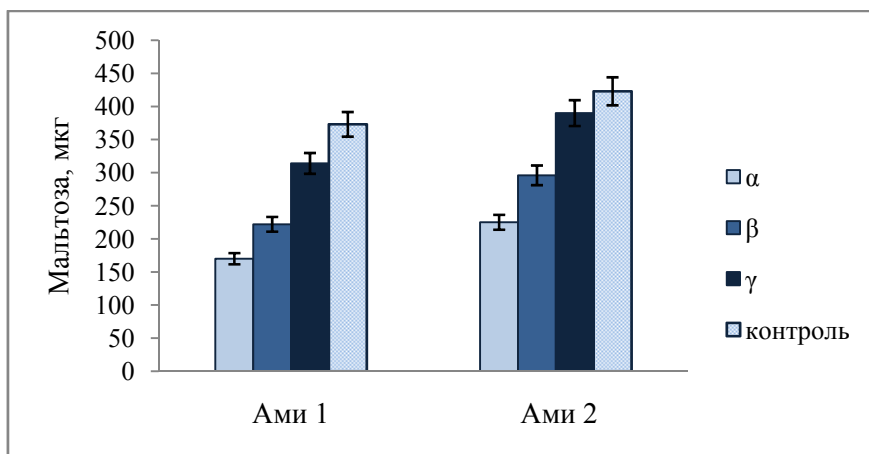
Изучалось влияние циклодекстринов α , β и γ на связывание тотальной (Ами1+Ами2) α -амилазы с крахмальными гранулами. На диаграмме рисунка 2 приведены значения активности тотальной α -амилазы, содержащейся в супернатантах после осаждения на КГ. Как видно, имеются заметные различия в ингибировании разными циклодекстринами сорбционной способности фермента. Наибольшим эффектом обладал α -циклодекстрин, наименьшим – γ -циклодекстрин. Видно также, что в условиях данного эксперимента процесс связывания α -амилазы с КГ довольно скоротечный и происходил в течении 1 часа. Дальнейшая инкубация не приводила к каким-то заметным изменениям в остаточной ферментной активности.



Концентрация циклодекстринов – 1мМ

Рисунок 2 – Влияние циклодекстринов α , β и γ на связывание тотальной α -амилазы с КГ

На рисунке 3 показано действие разных циклодекстринов, взятых в эквимольной концентрации (1мМ) на гидролиз КГ отдельными группами α -амилазы Ами1 и Ами2. Об изменении активности фермента судили по количеству мальтозы, образовавшейся в результате гидролиза крахмала в перемешиваемой при 24 °С суспензии. Как видно из диаграмм, каких-либо заметных различий в степени ингибирования углеводами двух групп изоферментов не наблюдалось. Это предполагает близость размерности центра связывания у изоферментов Ами1 и Ами2.



Концентрация циклодекстринов – 1 мМ

Рисунок 3 – Влияние разных циклодекстринов на гидролиз КГ группами Ами1 и Ами2

В дальнейшей работе изучались ингибиторные свойства наиболее доступного и распространенного β -циклодекстрина. Более детально рассмотрено действие разных концентраций β -ЦД на группы α -амилазы по отдельности. В одном эксперименте исследовали влияние очень малых концентраций – до 0,4мМ, в другом – более высоких, от 1 до 5 мМ (рисунки 4 и 5).

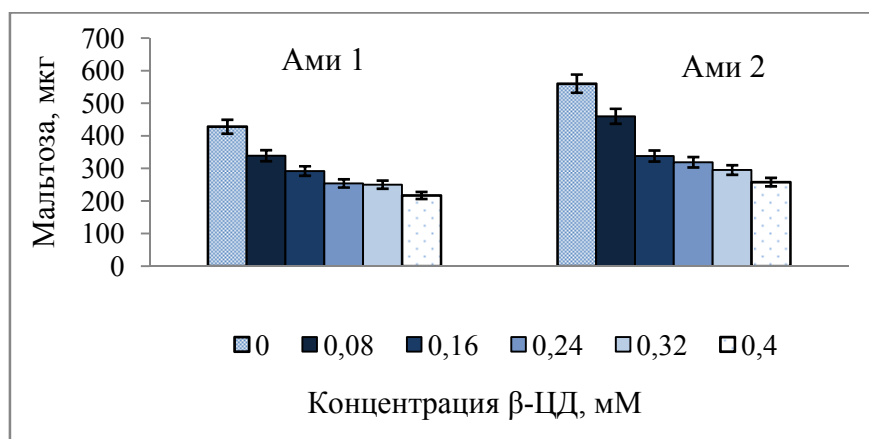


Рисунок 4 – Влияние разных концентраций β -ЦД на гидролиз КГ группами Ами1 и Ами2

Продолжительность обеих экспозиций составила 2 часа. Из представленных диаграмм видно, что изоформы Ами1 несколько более чувствительны к действию β -циклодекстрина по сравнению с Ами2 при относительно высоких его концентрациях. Изоформы Ами2, наоборот, ингибировались в большей мере при низких концентрациях углевода. Отметим также способность β -ЦД подавлять α -амилазный гидролиз КГ в довольно низких концентрациях – менее чем 0,1 мМ.

Интересные данные получены с использованием аффинного сорбента для α -амилазы α -циклодекстрин-сефарозы. Установлено, что даже заведомо избыточный объем сорбента не способен к полному связыванию наносимого на колонку фермента. Не удерживаемая лигандом α -амилаза не способна была и к связыванию с гранулами крахмала. Данные по длительному периоду инкубации

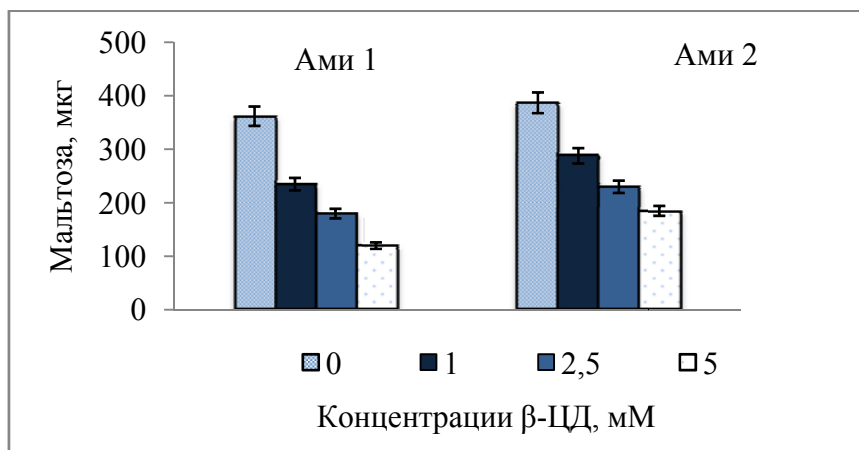


Рисунок 5 – Влияние разных концентраций β-ЦД на гидролиз КГ группами Ами1 и Ами2

смеси α-амилазы с КГ (рисунок 1) также свидетельствуют, что какая-то ее часть не сорбируется субстратом и остается в растворе. Возможно, неосаждаемый фермент с самого начала (еще в зерновке) был с заполненным центром связывания и если это так, то существуют какие-то эндогенные олигосахариды, похожие по действию на циклодекстрины.

Источник финансирования исследований. Министерство образования и науки Республики Казахстан.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Malikrishna G., Nirmala M. Cereal α-amylase – an overview // Carbohydrate polymers. – 2005. – Vol. 60. – P. 163-173.
- [2] Кретович В.Л. Биохимия зерна и хлеба. – М.: Наука, 1991. – 132 с.
- [3] Kruger J.E. Enzymes of sprouted grain and possible technological significance / In Bushuk W. and Rasper V. (ed.) Wheat: Production, properties and quality. – Glasgow, UK, 1994. – P. 143-153.
- [4] Hamilton L.M., Kelly C.T., Fogarty W.M. Review: cyclodextrins and their interaction with amylolytic enzymes // Enzymes Microbiol. Technol. – 2000. – Vol. 26. – P. 561-567.
- [5] Al Kazaz M., Desseaux V., Marchis-Mouren G., Prodanov E., Santimone M. The mechanism of porcine pancreatic α-amylase. Inhibition of maltopentaose hydrolysis by acarbose, maltose and maltotriose // Eur. J. Biochem. – 1998. – Vol. 15. – P. 100-107.
- [6] Weselake R.J., Hill R.D. Cycloheptaamylose as an affinity ligand of cereal α-amylase. Characterization and possible mechanism of the interaction // Carbohydrate Res. – 1982. – Vol. 108. – P. 153-161.
- [7] Хахимжанов А.А., Фурсов О.В. Ингибирование α-амилазы зерна риса β-циклодекстрином // Физиол. биохим. культ. раст. – 1988. – Т. 20. – С. 157-162.
- [8] Кузовлев В.А., Фурсов О.В., Дарканбаев Т.Б. Регуляция α-амилазы из зерна кукурузы циклодекстринами // Прикл. биохим. микробиол. – 1988. – Т. 24. – С. 636-641.
- [9] Гильманов М.К., Фурсов О.В., Францев А.П. Методы изучения ферментов растений. – Алма-Ата: Наука, 1981. – 91 с.
- [10] Хахимжанов А.А., Шаншарова Д.А., Тилеген Б., Мамытова Н.С., Кузовлев В.А., Фурсов О.В. Ингибирование α-амилазы из зерна пшеницы фитатом натрия // Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская. – 2014. – № 4. – С. 55-59.
- [11] Zeng J., Li G., Gao H., Ru Zh. Comparison of A and B starch granules from three wheat varieties // Molecules. – 2011. – Vol. 16. – P. 10570-10591.
- [12] Dell Valle E.M. Cyclodextrins and their uses // Process Biochemistry. – 2004. – Vol. 39. – P. 1033-1046.
- [13] Robyt J.F. Inhibition, activation, and stabilization of α-amylase family enzymes // Biologia, Bratislava. – 2005. – Vol. 60. – P. 17-26.

REFERENCES

- [1] Malikrishna G., Nirmala M. Carbohydrate polymers. 2005. Vol. 60. P. 163-173.
- [2] Kretovich V.L. M.: Nauka, 1991. 132 p.
- [3] Kruger J.E. 1994. P. 143-153.
- [4] Hamilton L.M., Kelly C.T., Fogarty W.M. Enzymes Microbiol. Technol. 2000. Vol. 26. P. 561-567.
- [5] Al Kazaz M., Desseaux V., Marchis-Mouren G., Prodanov E., Santimone M. // Eur. J. Biochem. 1998. Vol. 15. P. 100-107.
- [6] Weselake R.J., Hill R.D. Carbohydrate Res. 1982. Vol. 108. P. 153-161.
- [7] Hakimzhanov A.A., Fursov O.V. Fiziol. biohim. kul't. rast. 1988. Vol. 20. P. 157-162.

- [8] Kuzovlev V.A., Fursov O.V., Darkanbaev T.B. Prikl. biohim. mikrobiol. 1988. Vol. 24. P. 636-641.
[9] Gil'manov M.K., Fursov O.V., Francev A.P. Metody izuchenija fermentov rastenij. Alma-Ata: Nauka, 1981. 91 p.
[10] Hakimzhanov A.A., Shansharova D.A., Tilegen B., Mamytova N.S., Kuzovlev V.A., Fursov O.V. // Izvestija NAN RK. Serija biologicheskaja i medicinskaja. 2014. N 4. P. 55-59.
[11] Zeng J., Li G., Gao H., Ru Zh. // Molecules. 2011. Vol. 16. P. 10570-10591.
[12] Dell Valle E.M. Cyclodextrins and their uses // Process Biochemistry. 2004. Vol. 39. P. 1033-1046.
[13] Robyт J.F. Biologia, Bratislava. 2005. Vol. 60. P. 17-26.

А. А. Хакимжанов, Б. Тілеген, Н. С. Мамытова, Д. А. Шаншарова, В. А. Кузовлев

ҚР БҒМ ҒК «М. А. Айтхожин атындағы молекулярлық биология және биохимия институты»,
Алматы, Қазақстан

ЦИКЛОДЕКСТРИНДІ БИДАЙ ДӘНДЕРІНДЕГІ КРАХМАЛ ГИДРОЛИЗИНІҢ α -АМИЛАЗАМЕН ИНГИБИРЛЕНУІ

Аннотация. Бидай дәндерінен бөлініп алынған крахмал түйіршіктерінің α -амилазамен байланысуына және оның гидролизіне әртүрлі циклодекстриндердің әсері зерттелді. Ферментті ингибирлеуде жоғары қабілетке α -циклодекстрин ие болса, γ -циклодекстрин төменгі ингибиторлық белсенділік көрсетті. В-циклодекстринмен ферменттің – Ами1 және Ами2 екі тобының белсенділігіне әсерінің айтарлықтай ерекшеліктері байқалмады. Өскен дәндердің α -амилазасы құрамында крахмал түйіршіктерімен, сонымен қоса аффинді сорбент α -циклодекстрин-сефарозамен байланысу қабілеті жоқ формалар анықталды. Бұл ферменттің байланыс орталығының эндогенді олигосахаридтермен бітеліп қалуы мүмкін деп жорамалданады.

Түйін сөздер: бидай, α -амилаза, циклодекстриндер, крахмал түйіршіктері, байланысу, гидролизі.

Сведения об авторах:

Хакимжанов Айдар Атымтаевич – к.б.н., зав. лабораторией, a.khakimzhanov@mail.ru
Мамытова Нургуль Сабазбековна – PhD, снс
Тілеген Булбул – мнс
Шаншарова Динара Айтпаевна – д.т.н., доцент
Кузовлев Владимир Анатольевич – к.б.н., внс

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 180 – 185

A. Zh. Makhan, A. I. Anarbekova, R. A. Abildaeva, A. D. Dauilbai, G. S. Rysbayeva.

M. Auezov South-Kazakhstan state university, Shymkent, Kazakstan.

E-mail: rozita@mail.ru

**CYANOBACTERIA *SPIRULINA* BIOLOGICAL
CHARACTERISTICS AND THE ROLE IN BIOTECHNOLOGY**

Abstract. In the scientific article in connection with the development of biotechnology are definitions of the biological value of cyanobacteria *spirulina* relating to phototrophic microorganisms are using natural sunlight is able to form a complex of inorganic substances organic substances with high nutritional value and easy to get feed.

Cyanobacteria *Spirulina* belonging to the group of phototrophic microorganisms is important for living beings biologically active substances, such as – protein, fat, 4-6% carbohydrates, beta-carotene and vitamins of B group. In addition, the biomass of spirulina refers to a functional product with the properties to contain pathogenic microflora in the intestines.

Therefore, many researchers spirulina biomass are interested in them as biologically active substances and as an additional food product enriched with a number of important micronutrients biomass spirulina increases the possibility of preventing certain diseases. Biotechnological functions of bacteria are different. The bacteria used in food products, for example, in the manufacture of: acetic acid, dairy drinks etc., microbial insecticides, proteins, vitamins, organic acids and solvents in the production of biogas and hydrogen fluoride.

Especially effective antioxidant derived from spirulina is a bioorganic selenium, which is considered very promising.

Keywords: Spirulina, Oscillatoriales, Nostocales and Stigohematoles, Spirulina platensis and Spirulina maxima.

ОӘЖ 663.1. (574)

А. Ж. Махан, А. І. Анарбекова, Р. А. Абилдаева, А. Д. Дауылбай, Г. С. Рысбаева

М. О. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан мемлекеттік университеті, Шымкент, Қазақстан

**ЦИАНОБАКТЕРИЯ *SPIRULINA*-НЫҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ
СИПАТТАМАСЫ МЕН БИОТЕХНОЛОГИЯДАҒЫ РОЛЫ**

Аннотация. Ғылыми мақалада қазіргі кездегі биотехнологияның дамуына байланысты табиғи күн сәулесін пайдаланып, бейорганикалық заттардан күрделі органикалық заттарды түзетін құндылығы жоғары тағамдық және жемдік өнімдерді алуға қолайлы фототрофты микроорганизмдер цианобактерия *spirulina* ның биологиялық құндылығына сипаттама берілген.

Фототрофты микроорганизмдердің үлкен бір тобына кіретін цианобактерия *Spirulina* биомассасы – белок, май, 4-6% көмірсу және β -каротин мен витаминдердің В тобының үлкен жиынтығы бар тірі организмдер үшін аса қажетті биологиялық белсенді заттардан (ББЗ) тұрады. Сондай-ақ, спирулина биомассасын ішектегі бірқатар шартты патогенді микрофлораны тежеушілік қабілетіне ие функционалды өнім қатарына жатқызады.

Сондықтан көптеген ғылыми зерттеушілерді спирулина биомассасы тағамға қосымша ББЗ ретінде қызықтырса, ал маңызды микроэлементтермен байытылған спирулина биомассасы бірқатар аурудың алдын-алу мүмкіншілігін кеңейтеді. Бактериялардың биотехнологиялық функциялары түрліше. Бактериялар тағам өнімдерін, мысалы: сіркесуы, сүтқышқылды сусындар және т.б.; - микробты инсектицидтер; - ақуыздар; - дәрумендер; - еріткіштер мен органикалық қышқылдар; - биогаз бен фотосутек шығаруда қолданылады.

Әсіресе тиімді антиоксидант болып табылатын спиролина негізінде алынған биоорганикалық селеннің келешегі мол екені қарастырылған.

Тірек сөздер: *Spirulina*, *Oscillatoriales*, *Nostocales* және *Stigohematoles*, *Spirullina platensis* және *Spirullina maxima*.

Цианобактерияларға көңіл XVIII ғасырдың аяғынан бастап аударыла бастады. Көп жылдар бойы цианобактерияларды төменгі өсімдіктер қатарына, яғни көк жасыл балдырларға жатқызып келген болса, кейін оларды үлкен таксономиялық топқа бөлу керек деп шешілді.

Цианобактериялардың 1500-ден астам түрі, 150-ден аса туысы белгілі болса, олар табиғатта басқа фототрофты прокариоттарға қарағанда кең таралған, бір клеткалы және көп клеткалы организмдер [1]. Оның ішінде, көптеген салаларда тиімді үлесі зор цианобактерия *Spirulina* туысына қызығушылық жылдан – жылға артуда. Ал *Spirulina* туыстары систематикалық жүйе бойынша былай жіктеледі:

Бөлім: *Cyanobacteria* – цианобактериялар [2].

Класс: *Hormogoniophyceae* - гормогониялылар

Қатар: *Oscillatoriales* – осцилляторлықтар

Тұқымдас: *Oscillatoriaceae*

Туысы: *Spirulina*

Цианобактериялар бөлімінің гормогониялылар (*Hormogoniophyceae*) класы табиғатта кең тараған, көп клеткалы, жіптесінді микробалдырлар. Жіптері тармақталған немесе тармақталмаған және тармақталуы нағыз немесе жалған болуы мүмкін. Клеткалары бір-бірімен плазмодесма арқылы тығыз байланысқан және екі немесе бірнеше қатар клеткалардан құралған трихома түзеді. Кейбір түрлерінің трихомаларында гетероцистер қалыптасса, кейбіреулерінде болмайды. Гетероцист құру алдында клетка ішілік заттары біртекті затқа айнылып түссізденеді, не болмаса сарғыштанып клетка қабықшасы қалың екі қабат түзеді. Гетероцисталар клетканың ортасында немесе шетінде түзілуі мүмкін, соған байланысты бір саңылаулы немесе екі саңылаулы болады [3; 4].

Вегетативті көбеюіне қарай бірнешеге бөлінеді: гормогониялы, қарапайым екіге бөліну, бүршіктеніп, кездейсоқ үзінділер арқылы, акинеттерімен және т.б. Жынысты көбею және талшықты стадиялары болмайды. Эндоспоралар кейбір өкілдерінде болса, экзоспоралар табылмаған [5].

Гормогониялылар класы негізгі үш қатарға *Oscillatoriales*, *Nostocales* және *Stigohematoles* бөлінеді. Оның ішіндегі, цианобактерия *Oscillatoriales* қатарындағы *Oscillatoriaceae* тұқымдасы ең үлкен топты құраса, олардың жіпшелері жіңішке, тармақталмаған, көп клеткалы организмдер. Бір қатарлы трихомалары есейген уақытта гомоцитты симметриялы болып келеді, тек кейде соңғы клеткалары өздерінің пішіндері арқылы айырылады. Клеткаларының өсуі көлденең бөліну нәтижесінде жүреді. Жіпшелері ерекше өзгеріп отыратын гормогониялар арқылы қозғалыс жасайды. *Oscillatoriaceae* тұқымдасының жүзге жуық туысы белгілі болса, оның ішінде басқа туыстарға қарағанда *Spirullina* туысы түзу спираль түзуімен ерекшеленеді [6].

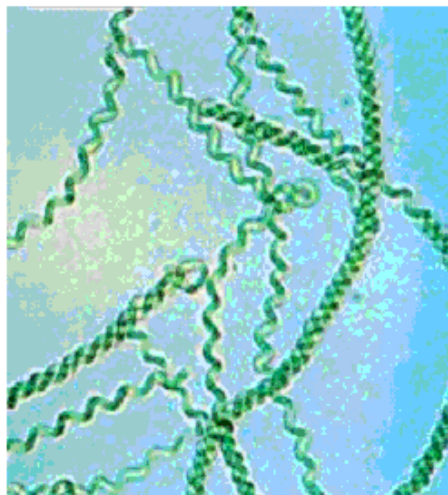
Қазіргі кезде *Spirullina* туысының отызға жуық түрлері белгілі болса, оның ішінде *Spirullina platensis* және *Spirullina maxima* түрлерінің жоғары өнімділігіне қарай жетік зерттелуде.

Spirullina туысының морфологиясы мен физиологиясы

Микроскоп арқылы зерттеулерден цианобактерия *Spirullina*-ның морфологиялық құрылысына қарай цилиндр пішінді көп клеткалардан тұратын ұзын, қысқа жіпшелерден тұратынын көруге болады. Трихомалары бір қабатты немесе қыртысты. Дақылдың өсу және температура жағдайына қарай бірдей түрлерінің ішінде де денесінің спираль түзуі әртүрлі болуы мүмкін. Сұйық ортаға қарағанда қатты ортада дұрыс спираль түзеді (сурет).

Ірі формалы түрлерінің клеткаларында көлденең қалқалары анық көрінеді, ал өте ұсақ түрлерінде белгілі бір реактивтердің көмегімен байқауға болады. Трихомаларының ені 2,0-ден 20 мкм жететін түрлері белгіленсе, клеткаларының ұзындығы трихомаға қарағанда екі есе аз немесе екі есе көп болуы мүмкін. Ал клеткалардың септаларға бөліну, бөлінбеуі классификациялық жіктеулерде анықтау кезінде басты мән берілетін белгілерінің бірі [7].

Прокариоттарға тән клеткасы органоидтарға бөлінбеген, олардың қызметін протоплазма атқарады. Белгілі типке жататын хромосома және нағыз хлоропаластары жоқ, алайда цианобак-



Spirulina дақылшының спираль түзуі

терия спиролина түрлерінің фотосинтездік жүйесі жақсы жетілген. Сондай-ақ, басқа организмдер сияқты клетканың ортаңғы бөлігінде жіңішке және майда фибрилл түрінде (диаметрі 2-3 нм) генетикалық ақпаратты тасымалдаушы дезоксирибонуклеин қышқылы (ДНК) орналасқан. Рибосомалары тұрақты бөлшектерден, тұну мөлшері 70S, тығыздалған 10-15 нм [8].

Цитоплазмадағы газды вакуоль түзілуі дақылдардың өсуі мен даму сатысына қарай әртүрлі. Жәй көзге көрінбейтін газды вакуоль, судағы клеткаларды белгілі деңгейде ұстап тұруын қамтамасыз етеді. Мысалы, *Spirulina gomontiana*, *Sp. major*, *Sp. laxissima*, *Sp. laxa* түрлері ірі газдық вакуольдермен ерекшеленсе, олардың саны мен түзу қабілеті спиролинаның түрлік құрамына, жасына және өсу жағдайына байланысты болады. Акинеттері табылмаған [9].

Спиролина түрлерінің негізгі көбею жолдары болып есептеленетін вегетативті көбею кезінде дене клеткалары

бөліну арқылы жүреді. Яғни ең қарапайым көбею түрі. Есейген трихомдары ажырап гормогониялары арқылы (2 және 4 клеткаға) бірнешеге бөлініп, жаңа трихомдар түзеді.

Бұл жаңа трихомдарының түзілу процесі кезінде цитоплазма толық түйіршіктенбеген жағдайда болып, клеткалары ашық көк немесе жасыл түс береді. Ал цитоплазма толық түйіршікке толып жетілгенде клеткалар көк жасыл түске боялады [10].

Физиологиялық жағдайына қарай цианобактерия спиролина тек жарық көзінде ғана өсетін катал фототрофтар. Жарық фотосинтез процесіне аса қажетті болатын болса, фотосинтез процесінің өзі тіршілік көзі болып табылатын күн сәулесінің энергиясын пайдалану арқылы жүреді. Тірі табиғаттың өмір сүруі осы энергияны дұрыс тұтынумен байланысты, яғни жарықтың артық немесе кем болуы микробалдырлардың даму заңдылығын бұзады.

Табиғи жағдайда спиролинаның кейбіреулері жарық көп түсетін жерде өсіп (3000-5000 люкс), ал кейбіреулеріне 500-1000 люкс жарық көзі оптималды болып табылады. Кей жағдайда жарық көзінің қатты түсуі, олардың өсуіне біршама кедергі жасайды, әсіресе таза дақылдарды бөліп алу кезінде төмен жарықты (500 люкс) пайдаланған жөн [11-13].

Спиролинаның кейбір түрлерін ыстық мекендерден жылы жақтарға немесе Солтүстік теңізге жекелеуде, басқа көптеген микроорганизмдердің тіршілік ету мүмкіншілігі жоқ арнайы бір орталарда олардың жоғары бейімделгіштігі жайында көп айтылады. Теңіз астындағы түрлеріне күндізгі температура жағдайы 40⁰С, түнгі температура 25⁰С қолайлы екенін көрсетсе, 45⁰С температурада 24 сағаттан соң клеткалары ыдырай бастайды. Ал зертханалық жағдайда 35-37⁰С температурада көптеген спиролина түрлерінің өсу деңгейі белгіленгенмен, оларға сыртқы ортаның 32-35⁰С температура аралығы оптималдылық көрсеткен [14].

Цианобактериялардың денесіне және белсенді дамуына биогенді заттар ретінде қоректік ортада макро- және микроэлементтер жеткілікті болу керек. Олардың организмі макроэлементтердің көптеген мөлшерін, оның ішінде азот пен фосфорға қажеттілік жоғары. Сондай-ақ, минералдық заттар мен микроэлементтерді пайдаланатын спиролинаның клеткалары жаңа балдырларға немесе микроорганизмдер мен қарапайымдыларға қажетті субстрат бола алады [15]. Ал спиролина клеткалары микроэлементтерді (темір, магний, мыс, мырыш, бор, кобальт, ванадий, марганец) аз мөлшерде қажеттілік тұтқанымен, бұл микроэлементтер физиологиялық тұрғыда спиролина клеткаларының фотосинтезіне, азоттық алмасулары мен метаболиттік қызметіне аса қажеттілігі мол.

Судың *pH* қышқылдығы мен тұздылығы спиролина клеткаларының тіршілігінде ерекше орын алады. Тұздың мөлшері 2,5 г/л-ден жоғары құрамды көлдерде көптеген *Cyanobacteria* түрлері, ал оның концентрациясы 2,5-30 г/л жететін көлдерде *Oscillatoria*, *Spirulina*, *Anabaenopsis*, *Synechocystis* басымдылық танытқан. Сондай-ақ, басқа деректер бойынша *Spirulina platensis* var. *minor* түріне 5-14 г/л, ал басқа түрлеріне оданда төмен мөлшерлі тұздың жеткіліктігі байқалған [16].

Ортаның оптималды *pH* жағдайы қоректік ортадағы барлық қосылыстардың тұрақтылығын көрсетсе, ал бұл қосылыстарды клеткалардың қабылдауына және өсуді реттегіштер заттары мен

витаминовдің сіңуіне тиімді әсер етеді. Сондықтан қажеттілігі мол дақылдарды өсіруде немесе олардың өнімділігін арттыруда үлкен нәтижеге қол жеткізу үшін ортаның *pH*-ы қолайлы және тұрақты болуы керек. Мысалы, табиғи жағдайда спирулина түрлерінің дамуына *pH* 9,0-10,3 жеткілікті болса, зертханалық жағдайда өсірілген штамдардың *pH*-ы (8,0-11,0) кең көлемді екенін көрсетсе, ал *pH* 11,3 жеткенде өсуі төмендеген [17-19].

Spirulina түрлерінің таралуы

Цианобактерия *Spirulina* түрлерін өте жете зерттеулерде табиғаттың әртүрлі орталарынан табылған. Ағынды және тұрып қалған су құрамында *Spirulina platensis*, *Sp. princeps*, *Sp. gomontiana*, *Sp. Jenneri*, *Sp. coraciiana*, *Sp. laxissima*, *Sp. agilis* түрлері кең таралған болса, өзен-көлдерде *Spirulina okensis*, *Sp. spiliuoides*, *Sp. pseudovacuolata*, *Sp. minima*, *Sp. flavovirens* түрлерін кездестіруге болады.

Тұзды және минералды суларда, сондай-ақ тұщы сулар олардың мекендеуіне қолайлы орта болып табылған болса (*Sp. fusiformis*, *Sp. labyrinthisformis*, *Sp. meneghiniana*, *Sp. major*), батпақты жерлерде сирек (*Sp. curta*) кездеседі.

Жылы немесе ыстық су көздерінде басқа микроорганизмдермен тұтас жабын кілем түзетін түрлеріне *Spirulina tenuissima*, *Sp. labyrinthisformis*, *Sp. tenuior* жатады. Ал су бетіндегі саңырауқұлақ (*Saprolegnia*) жіптерінің ортасында немесе басқа өлген балдырлардың орталарында *Spirulina albida* түрі кездескен болса, бұл түр көбінесе судың гүлденуін туғызады [20].

Цианобактерия *Spirulina* клеткаларының биохимиялық құрамы

Спирулинаның клетка қабырғасында қатты целлюлозасы жоқ мукополиқанттардан тұратындықтан, белоктың организмде оңай сіңімділігін (85-95%-ға дейін) қамтамасыз етеді. Ал клеткаларында синтезделетін табиғи витаминдер мен микроэлементтер күрделі молекулалы қосылыстар құрамына тез және оңай кіре алады. Оны спирулинаның жұқа клетка қабығы негіздейді [21; 22].

Спирулинаның клеткасында 55-70% белок, 15-20% көмірсулар, 5% липидтер, 4% нуклеин қышқылы мен 7% минералдық заттарының тұрақтылығымен ерекшеленеді

Организмнің тіршілігіне аса қажетті спирулинаның белок құрамында көптеген амин қышқылдар тобы жиналатын болса, оның ішіндегі метионин мен цистин және триптофанның мөлшері басқа жеміс жидектер мен дән-дақылдар құрамынан көп. Ал белок құрамындағы лизин аз мөлшерде жиналғанмен, алайда, басқа көптеген өсімдіктердің өнімінен жоғары басымдылық танытқан [23].

Қазіргі кезде өндіріс орындарының негізгі бағыттары гендік инженерия әдісімен әртүрлі сілтілі және жасанды орталарда өсу қабілеті бар микроорганизмдердің өнімді штамдарынан дәрілік препараттар мен капсулаларды өндіруге негізделген. Оның ішінде, өсіру кезінде қарапайым әдістерді қолдануға болатын және жоғары құнды азықтық өнімділігімен көзге түскен спирулинаның табиғи немесе мутант штамдарының биотехнология саласында алатын орны ерекше. Олай болса, генетикалық жетістіктердің негізінде сұрыптап алынған кейбір өнімді мутант *Spirulina* штамдарды өндірістік деңгейде қолдану үшін жаппай өсіру және олардың биомассасын тәжірибеде адамның қажеттілігіне пайдалану мүмкіншіліктерін қарастыру қажет.

Қазіргі кезде биотехнологтардың алдында тұрған аса бір үлкен мәселенің бірі – жылдам өсіп келе жатқан халықтың рационын дәстүрсіз алынған жоғары белокты өнім көздерімен қамтамасыз ету болып табылады. Олай болса, цианобактерия спирулинаны жетік пайдалану арқылы биотехнология саласында көптеген өзекті мәселелерді шеше аламыз:

- Спирулина биомассасы негізінде биологиялық белсенді қоспаларды алу;
- Бейорганикалық тұздардың органикалық формасын алу;
- Ауыл шаруашылығын қосымша жемдік белок және витаминдік заттармен қамтамасыз ету;
- Ауыл шаруашылық тыңайтқыштарды өңдеу;
- Ғарыш проблемасын игерудегі негізгі экологиялық тұйық система ретінде тамақ пен атмосфераның тазалығын қамтамасыз ету;
- Медицина мен микробиология өндірісіне қажетті құнды препараттарды дайындау;
- Биологиялық өзін-өзі реттеу және фотосинтездеуші организмдердің биосинтезіне байланысты ғылыми зерттеу жұмыстарына фундаментальды бағытта зерттеуге пайдалану;
- Энергетикалық проблемаларды шешу.

Мұндай дәстүрсіз өнім ретінде және әртүрлі биологиялық белсенді заттарды синтездеу қабілетіне, сонымен бірге аз уақыттың ішінде жоғары биохимиялық құрамды биомассасын көптеп жинап алуға болатын спирулина штамдарын жаппай өсіруде көптеген жетістіктерге жетуде [24-26].

ӘДЕБИЕТ

- [1] Castenholtz R.W. Species usage, concept and evolution in the cyanobacteria (blue green-algae) // Ibid. – 1992. – Vol. 28. – P. 737-745.
- [2] Гусев М.В., Никитина К.А. Цианобактерии. – М.: Москва, 1979. – 228 с.
- [3] Шнюкова Е.И. Фотоорганотрофний і гетеротрофний ріст гормогонієвих синьозелених водоростей // Укр. ботан. журн. – 1984. – № 4. – С. 49-54.
- [4] Андреюк Е.И., Копетева Ж.П., Занина В.В. Цианобактерии. – Киев: Наука думка, 1990. – 200 с.
- [5] Кондратьева Н.В. Морфология популяций прокариотических водорослей. – Киев: Наука думка, 1989. – 176 с.
- [6] Balloni W., Tomasselly L., Giovanetti., Margheri M.C. Biologia fondamentale del genere Spirulina // Consiglio Nazionale delle Ricerche. – Rome, 1980. – N 2. – P. 49-85.
- [7] Захаров Б.П. Трансформационная типологическая систематика. – М.: Т-во научных изданий КМК, 2005. – 164 с.
- [8] Aaronson S., Dudinsky Z. Mass production of microalgae // Experientia. – 1982. – N 1. – P. 36-40.
- [9] Santillan C. Mass production of *Spirulina* // Experientia. – 1982. – N 38. – P. 40-43.
- [10] Кондратьева Е.Н., Максимова И.В., Самуилов В.Д. Фототрофные микроорганизмы: Уч. пособие. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 376 с.
- [11] Горюнова С.В. Изучение физиологии культивирования водорослей с высоким коэффициентом использования света. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1976. – 216 с.
- [13] Venemann J.R., Weissman J.C., Koopman B.L., Oswald W.V. Energy production by microbial photosynthesis // Nature. – 1977. – Vol. 268. – P. 5615-5625.
- [13] Drews G., Weskesser J. The biology of cyanobacteria // Bot. Monogr. – 1982. – N 19. – P. 333-357.
- [14] Баянова Ю.И., Трубачев И.Н. Сравнительная оценка витаминного состава некоторых одноклеточных водорослей и высших растений, выращенных в искусственных условиях // Прикл. биохимия и микробиол. – 1981. – № 3. – С. 400-407.
- [15] Cogne G., Lehmann B., Dussap C.G., Gros J.B. Uptake of macrominerals and trace elements by the cyanobacterium *Spirulina platensis* (Arthrospira platensis PCC 8005) under photoautotrophic conditions: culture medium optimization // Biotechnol. Bioeng. – 2003. – N 5. – P. 588-593.
- [16] Зарилов Э. Физиологические особенности и культивирование сине-зеленой водоросли *Spirulina platensis* (Gom.) Geit. в связи с возможностью ее практического использования в Узбекистане: Автореферат. ... канд. биол. наук. – Л., 1982. – 19 с.
- [17] El - Fouly M.M. Technological and biochemical study on mass production of alque in Egypt // Arch. Hydrobiol. Sppl. – 1984. – Vol. 67. – P. 461-467.
- [18] Зотина Т.А., Болсуновский А.Я., Калачева Г.С. Влияние солёности среды на рост и биохимический состав цианобактерий *Spirulina platensis* // Биотехнология. – 2000. – № 17. – С. 85-87.
- [19] Голлербах М.М., Косинская Е.К., Полянский В.И. Синезеленые водоросли // Определитель пресноводных водорослей СССР. – М.: Сов. наука, 1953. – Вып. 2. – 665 с.
- [20] Earth food Spirulina: How this remarkable blue-green algae can transform your health and planet. – California, 1989. – 170 p.
- [21] Dumartrait E., Moysse A. Caracteristiques biologues des Spirulines // Ann. nutr. et alim. – 1975. – N 6. – P. 489-496.
- [22] Qureshi M.A., Kidd M.N., Ali R.A. *Spirulina platensis* extract enhanced chicken macrophage function after in vitro exposure // J. Nutritional immunol. – 1995. – N 4. – P. 35-45.
- [23] Qureshi M.A., Ali R.A. Phagocytic potential of feline macrophages after exposure to a water soluble extract of *Spirulina* in vitro // Immunopharmacology. – 1996. – N 1. – P. 17-19.
- [24] Vonshak A., Boussiba S., Abeliovich A., Richmond A. Production of *Spirulina* biomass: maintenance of pure culture outdoors // Biotechnol. – 1983. – P. 92-120.
- [25] Абдрахманов О. Альгология: Учеб. пособие. – Алматы, 1997. – 398 с.
- [26] Richmond A., Preiss K. The biotechnology of algaculture // Interdiscip. Sci. Rev. – 1980. – N 5. – P. 60-70.

REFERENCES

- [1] Castenholtz R.W. Species usage, concept and evolution in the cyanobacteria (blue green-algae) // Ibid. 1992. Vol. 28. P. 737-745.
- [2] Gusev M.V., Nikitina K.A. Cianobakterii. M.: Moskva, 1979. 228 p.
- [3] Shnjukova E.I. Fotoorganotrofnij i geterotrofnij rist gormogonievih sin'ozelenih vodorostej // Ukr. botan. zhurn. 1984. N 4. P. 49-54.
- [4] Andrejuk E.I., Kopeteva Zh.P., Zanina V.V. Cianobakterii. Kiev: Nauka dumka, 1990. 200 p.
- [5] Kondrat'eva N.V. Morfologija populjacij prokarioticheskikh vodoroslej. Kiev: Nauk. dumka, 1989. 176 p.
- [6] Valloni W., Tomasselly L., Giovanetti., Margheri M.C. Biologia fondamentale del genere Spirulina // Consiglio Nazionale delle Ricerche. Rome, 1980. N 2. P. 49-85.
- [7] Zaharov B.P. Transformacionnaja tipologicheskaja sistematika. M.: T-vo nauchnyh izdanij KMK, 2005. 164 p.
- [8] Aaronson S., Dudinsky Z. Mass production of microalgae // Experientia. 1982. N 1. P. 36-40.
- [9] Santillan C. Mass production of Spirulina // Experientia. 1982. N 38. P. 40-43.
- [10] Kondrat'eva E.N., Maksimova I.V., Samuilov V.D. Fototrofnije mikroorganizmy: Uch. posobie. M.: Izd-vo MGU, 1989. 376 p.

- [11] Gorjunova S.V. Izuchenie fiziologii kul'tivirovaniya vodoroslej s vysokim koefitsientom ispol'zovaniya sveta. L.: Izd-vo Leningr. un-ta, 1976. 216 p.
- [12] Benemann J.R., Weissman J.C., Koopman B.L., Oswald W.V. Energy production by microbial photosynthesis // Nature. – 1977, Vol. 268. - P. 5615-5625.
- [13] Drews G., Weskesser J. The biology of cyanobacteria // Bot. Monogr. 1982. N 19. P. 333-357.
- [14] Bajanova Ju.I., Trubachev I.N. Sravnitel'naja ocenka vitamin'nogo sostava nekotoryh odnokletochnyh vodoroslej i vysshih rastenij, vyrashennyh v iskusstvennyh uslovijah // Prikl. biokhimiya i mikrobiol. 1981. N 3. P. 400-407.
- [15] Cogne G., Lehmann B., Dussap C.G., Gros J.B. Uptake of macrominerals and trace elements by the cyanobacterium *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis* PCC 8005) under photoautotrophic conditions: culture medium optimization // Biotechnol. Bioeng. 2003. N 5. P. 588-593.
- [16] Zaripov Je. Fiziologicheskie osobennosti i kul'tivirovanie sine-zelenoj vodorosli *Spirulina platensis* (Gom.) Geit. v svjazi s vozmozhnost'ju ee prakticheskogo ispol'zovaniya v Uzbekistane: Avtoreferat. ... kand. biol. nauk. L., 1982. 19 p.
- [17] El - Fouly M.M. Technological and biochemical study on mass production of alque in Egypt // Arch. Hydrobiol. Sppl. – 1984, Vol. 67. - P. 461-467.
- [18] Zotina T.A., Bolsunovskij A.Ja., Kalacheva G.S. Vlijanie solenosti sredy na rost i biokhimijskij sostav cianobakterij *Spirulina platensis* // Biotekhnologija. 2000. N 17. P. 85-87.
- [19] Gollerbah M.M., Kosinskaja E.K., Poljanskij V.I. Sinezelenye vodorosli // Opredelitel' presnovodnyh vodoroslej SSSR. M.: Sov. nauka, 1953. Vyp. 2. 665 p.
- [20] Earth food *Spirulina*: How this remarkable blue-green algae can transform your health and planet. California, 1989. 170 p.
- [21] Dumartrait E., Moysse A. Caracteristiques biologues des Spirulines // Ann. nutr. et alim. 1975. N 6. P. 489-496.
- [22] Qureshi M.A., Kidd M.N., Ali R.A. *Spirulina platensis* extract enhanced chicken macrophage function after in vitro exposure // J. Nutritional immunol. 1995. N 4. P. 35-45.
- [23] Qureshi M.A., Ali R.A. Phagocytic potential of feline macrophages after exposure to a water soluble extract of *Spirulina* in vitro // Immunopharmacology. 1996. N 1. P. 17-19
- [24] Vonshak A., Boussiba S., Abeliovich A., Richmond A. Production of *Spirulina* biomass: maintenance of pure culture outdoors // Biotechnol. 1983. P. 92-120.
- [25] Abdrahmanov O. Al'gologija: Ucheb. posobie. Almaty, 1997. 398 p.
- [26] Richmond A., Preiss K. The biotechnology of algaculture // Interdiscip. Sci. Rev. 1980. N 5. P. 60-70.

А. Ж. Махан, А. І. Анарбекова, Р. А. Абилдаева, А. Д. Дауылбай, Г. С. Рысбаева

Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауэзова, Шымкент, Казахстан

ЦИАНОБАКТЕРИИ *SPIRULINA* БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ И РОЛЬ В БИОТЕХНОЛОГИИ

Аннотация. В научной статье в связи с развитием биотехнологии приведены определения биологическим ценностям цианобактерии *spirulina* относящийся к фототрофным микроорганизмам которые используя естественный солнечный свет умеют образовывать из сложных неорганических веществ органические вещества с высокой пищевой ценностью и удобные для получения кормов.

Цианобактерии *Spirulina* относящийся к группе фототрофных микроорганизмов состоит из важных для живых существ биологически активных веществ, таких как – белки, жиры, 4-6% углеводы, бета-каротина и витаминов группы В. Кроме того, биомассу из спирулины относят к функциональным продуктам имеющих свойства сдерживать условно-патогенную микрофлору в кишечнике.

Поэтому многие исследователи биомассы спирулины заинтересованы в них в качестве биологически активных веществ и в качестве дополнительного продукта питания, обогащенный рядом важных микроэлементов биомасса спирулины увеличивает возможность профилактики некоторых заболеваний. Биотехнологические функции бактерии различные. Бактерии используются в пищевой продукции, например, при производстве: уксусной кислоты, молочных напитков и т.д., микробных инсектицидов, белков, витаминов, органических кислот и растворителей, при производстве биогаза и фторводорода.

Особенно эффективным антиоксидантом полученный из спирулины является биоорганический селен, который рассматривается очень перспективным.

Ключевые слова: *Spirulina*, *Oscillatoriales*, *Nostocales* и *Stigohematoles*, *Spirullina platensis* и *Spirullina maxima*.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 186 – 190

M. K. Tuyekbasov, A. E. Kydyrbayeva, G. Zh. Turmetova

Research institute south-west livestock and crop production, Shymkent, Kazakhstan,

Regional social innovation university, Shymkent, Kazakhstan,

Yassawi International Kazakh-Turkish University, Turkestan, Kazakhstan.

E- mail: elemesovna.1970@ mail.ru, gulmir_70@mail.ru

**THE HAIR FOLLICLES MORPHOMETRY
OF CARARUL BREED LAMBS**

Abstract. The article presents a comparative analysis of materials on the histo-morphological characteristics of leather products derived from newborn karakul lambs given color and types of tanning. There were complex morpho-metric researches in comparative aspect of the analysis carried out at the primary and secondary hair follicles. Depending on the color of karakul lambs revealed intra-specific particular density of hair follicles. Even lambs of the same color were detected differences in the ratio of the follicle and the types of treatment of the leather. There is a stable trend: the number of secondary follicles more than the number of primaries. Regardless of color, the number of primary hair follicles larger lambs Caucasian type dressing, then followed of jacket and ribbed types. As part of the secondary follicular mass observed the reverse process, i.e., the highest rate of secondary hair follicles of horizontal type dressing lambs, while the lowest level observed in their Caucasian leather type dressing.

Keywords: the caracul breed lambs, tint, type of skin curing, hair follicles, primary follicles and secondary follicles.

ӘОЖ 636.082

M. K. Туекбасов, А. Е. Қыдырбаева, Г. Ж. Турметова

Оңтүстік-Батыс мал шаруашылығы және өсімдік шаруашылығы, ФЗИ, Шымкент,

Аймақтық әлеуметтік инновациялық университеті, Шымкент,

Қ. А. Ясауи атындағы Халықаралық қазақ-түрік университеті, Түркістан

**ҚАРАКӨЛ ҚОЙЫ ҚОЗЫЛАРЫНЫҢ
ТҮК ФОЛЛИКУЛДАРЫНЫҢ МОРФОМЕТРИЯСЫ**

Аннотация. Мақалада түстері және елтірі типтері әртүрлі қаракөл қойы қозыларының туылу кезіндегі тері туындыларының гистоморфологиялық көрсеткіштерінің салыстырмалы талдау деректері ұсынылған. Алғашқы және екіншілік түк фолликулдарын зерделеу бойынша салыстырмалы аспектіде кешенді морфометриялық зерттеу жүргізілді. Түстеріне қарай қаракөл қойы қозыларының түк фолликулдарының таралуының түршілік ерекшеліктері анықталды. Тіпті түсі бір қозылардың түк фолликулдарының сандық арақатынасы әртүрлі болуы және елтірілік типіне байланысты болуы мүмкін екендігі анықталды. Тұрақты байланыстылық анықталды, оның мәні мынада: екіншілік фолликулдардың саны алғашқы фолликулдардың санынан әрдайым көп. Алғашқы түк фолликулдарының сандық құрамы түсіне байланыссыз кавказ елтірі типті қозыларда көбірек, бұдан әрі жакеттік, қабырға типті қозылар тұр. Екіншілік түк фолликулдарының құрамында кері үрдіс байқалады, мұнда екіншілік түк фолликулдарының құрамының ең жоғары көрсеткіштері жазық елтірі типті қозыларда, ал екіншілік түк фолликулдарының құрамының ең аз көрсеткіштері кавказ елтірі типті қозыларда анықталды.

Тірек сөздер: қаракөл қойы қозылары, түсі, елтірі типі, түк фолликулдары, алғашқы, екіншілік фолликулдар.

Қаракөл қойы қозыларының бұйрагүлінің мөлшері мен пішіні қозының тұқымдық құндылығын анықтау және қаракөлдi тауарлық бағалау кезінде аса маңызды рөл атқарады. Қаракөл бұйрагүлдерінің қалыптасуы өзінің морфологиялық құрамымен ерекшеленетін түктердің есебінен жасалады: қылшық, аралық түк, түбіт. Қылшық түктердің алғашқы түк фолликулдарының өнімі, ал түбіт түктердің екіншілік түк фолликулдарының өнімі болып табылатыны жалпыға мәлім. Осыған сүйенсек, түсі мен елтірі типі әртүрлі қаракөл қойы қозыларының түк фолликулдарының морфометриясын зерделеу өзекті болып табылады, біздің пікірімізше, бұл келешекте елтірі сапасын жетілдіруге және, ақырында жануарларды тұқымдық бағалау кезінде қосымша маркер ретінде пайдалануға болатын, белгілі бір заңдылықтарды анықтауға мүмкіндік береді.

Зерттеу әдістемесі. Зерттеулер үшін бастапқы материал «Оңтүстік-Қазақстан мал шаруашылығы және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты» ЖШС селекциялық-генетикалық орталығының қаракөл қойы қозылары болды. Терінің гистопрепараттарын дайындау және тері-қылшықты жамылғы құрылымын зерттеу Н.А.Демидовтың және т.б. [1] әдістемесі және қаракөл шаруашылығы институтының әдістемесі бойынша, ҚазҚШҒЗИ гистоморфологиясының түрлендірілген зертханасымен [2] жүргізілді. Микроскопиялық талдау МБИ-3 микроскопының көмегімен жасалды. Әрбір гистопрепараттағы өлшеу саны 20.

Эксперименталдық деректер М.К.Туекбасовтың, Б.Турумбетовтің [5] әдістемелік ұсынымы бойынша МК-61 микрокалькуляторды пайдаланумен, вариациялық статистика әдісімен биометриялық өңделді [3, 4].

Зерттеу нәтижелері. Түстері әртүрлі қаракөл қойы қозыларының түк фолликулдарының сандық құрамын зерделеу бойынша жүргізілген зерттеулер, жоғарыда көрсетілген қозылардың түк фолликулдарының сандық арақатынасы бөліністің елтірі типіне байланысты әртүрлі болатынын көрсетті. Мысалы, жакеттік елтірі типті қозылардың тобында (1-кесте) алғашқы фолликулдардың ең көп саны қара түсті (36,1±0,34), бұхар сұр (35,7±0,38), сұр түсті (35,6±0,14) және қазақ сұр (35,2±0,54) қозыларда анықталды, бұл қоңыр түсті (33,4±0,23), гулигаз (33,2±0,47) және сұрхандария сұр (33,9±0,51) қозылармен салыстырғандағы көрсеткіштер, өз кезегінде алғашқы фолликулдардың сандық құрамы бойынша бұлардан кейін ақ түсті, гулигаз (31,3±0,54) және қарақалпақ сұр, гулигаз (31,6±0,62) қозылар тұр, салыстырылып отырған топтардың арасындағы айырмашылықтар статистикалық тұрғыдан анық ($P < 0,01$).

1-кесте – Жакеттік елтірі типті қозылардың түк фолликулдарының құрамы

Қозылардың түсі	Алғашқы		Екіншілік		Жалпы саны	ЕФС/АФС
	M±m	C _v	M±m	C _v		
Қара	36,1±0,34	11,4	47,8±0,51	13,6	83,9	1,32
Сұр	35,6±0,14	26,3	48,1±0,36	16,5	83,7	1,35
Ақ	31,3±0,54	18,4	57,8±0,46	27,4	89,1	1,85
Қоңыр	33,4±0,23	17,6	54,5±0,72	24,2	87,9	1,63
Гулигаз	33,2±0,47	14,3	54,7±0,65	18,1	88,9	1,68
Қазақ сұр	35,2±0,54	18,2	54,1±0,57	16,5	89,3	1,54
Бұхар сұр	35,7±0,38	12,7	52,8±0,39	14,2	88,5	1,48
Сұрхандария сұр	33,9±0,51	14,1	54,7±0,57	21,6	88,6	1,61
Қарақалпақ сұр	31,6±0,62	18,6	53,5±0,51	22,5	85,1	1,7

Екіншілік түк фолликулдары, басқа түсті қозылармен салыстырғанда ($P < 0,001$) статистикалық тұрғыдан анық шамаға ақ түсті қозыларда көбірек анықталды (57,8±0,46). Қоңыр түсті (54,5±0,72), гулигаз (54,7±0,65), қазақ сұр типті (54,1±0,57), сұрхандария сұр (54,7±0,57) қозыларда екіншілік фолликулдар саны бірдейге жуық ($P > 0,1$). Сонымен қатар, қара түсті (47,8±0,51) және сұр түсті (48,1±0,36) қозыларда екіншілік фолликулдардың сандық құрамының мәні төмен ($P < 0,001$).

Жакеттік елтірі типті қозылардың түк фолликулдарының жалпы саны түстеріне қарай 83,9-89,3 шегінде өзгереді. Сонымен қатар, түк фолликулдарының жалпы санының ең көп мәні қазақ сұр типті (89,3) және ақ түсті (89,1) қозыларда анықталды, сондай-ақ түк фолликулдарының жалпы санының жоғары мәні қоңыр түсті (87,9), бұхар сұр (88,5) және сұрхандария сұр (88,6) түсті

қозыларды анықталды. Қара (83,9) және сұр (83,7) түсті қозыларда түк фолликулдарының жалпы саны ең төмен. Осыған сәйкес, екіншілік түк фолликулдарының алғашқы түк фолликулдарына (ЕФС/АФС) ара қатынасының көрсеткіштері 1,32 – 1,85 шегінде және олардың рангілік таралуы түк фолликулдарының жалпы санының таралуына қатаң сәйкес келеді.

Қабырға елтірі типті қозылардың тобында түк фолликулдарының сандық құрамының біршама өзгеше таралуы анықталды (2-кесте). Алғашқы түк фолликулдарының ең көп саны қара түсті қозыларда (35,3±0,17). Алғашқы фолликулдардың сандық құрамы сұр түсті (34,4±0,43), бұхар сұр (34,5±0,48) және сұрхандария сұр (34,2±0,42) қозыларда бірдей (P>0,1). Алғашқы түк фолликулдарының ең аз саны ақ түсті (32,6±0,28), гулигаз (32,8±0,39) және қарақалпақ сұр (32,7±0,39) қозыларда, салыстырылып отырған топтардың арасындағы айырмашылықтар статистикалық тұрғыдан анық (P<0,01).

2-кесте – Қабырға елтірі типті қозылардың түк фолликулдарының құрамы

Қозылардың түсі	Алғашқы		Екіншілік		Жалпы саны	ЕФС/АФС
	M±m	C _v	M±m	C _v		
Қара	35,3±0,17	11,7	47,1±0,54	15,2	82,4	1,33
Сұр	34,4±0,43	14,2	49,0±0,67	21,5	83,4	1,42
Ақ	32,6±0,28	16,7	56,3±0,72	22,4	88,9	1,73
Қоңыр	32,4±0,57	15,4	53,5±0,59	21,7	85,9	1,65
Гулигаз	32,8±0,39	16,7	52,6±0,63	16,5	85,4	1,6
Қазақ сұр	33,2±0,54	16,3	54,3±0,46	18,5	87,5	1,63
Бұхар сұр	34,5±0,48	18,4	53,7±0,38	17,4	87,2	1,52
Сұрхандария сұр	34,2±0,42	21,0	54,1±0,47	14,3	88,3	1,58
Қарақалпақ сұр	32,7±0,39	14,3	55,3±0,54	16,9	88,0	1,69

Қабырға елтірі типті қозылардың екіншілік түк фолликулдарының сандық құрамын зерделеу, түсіне қарай елеулі айырмашылықтар болатынын көрсетті. Мысалы, басқа түсті қозылармен салыстырғанда ақ түсті (56,3±0,72) және қарақалпақ сұр (55,3±0,54) қозыларда екіншілік түк фолликулдарының саны өте көп. Екіншілік фолликулдардың ең аз саны қара (47,1±0,54) және сұр (49,0±0,67) түсті қозыларда анықталды, қоңыр түсті, гулигаз, қазақ сұр, бұхар сұр және сұрхандария сұр қозылар салыстырылып отырған көрсеткіш бойынша аралық жағдайда (P<0,01).

Түк фолликулдарының жалпы саны ақ түсті (88,9), сұрхандария сұр (88,3) және қарақалпақ сұр (88,0) қозыларда ең жоғары, түк фолликулдарының жалпы санының ең төмен көрсеткіштері қара (82,4) және сұр түсті (83,4) қозыларда анықталды. Екіншілік түк фолликулдарының алғашқы түк фолликулдарына қатынасы осыған сәйкес ақ түсті қозыларда ең жоғары - 1,73, бұдан әрі қарақалпақ сұр қозылар - 1,69, қоңыр түсті қозылар - 1,65 және қазақ сұр қозылар - 1,63 тұр. Екіншілік түк фолликулдарының алғашқы түк фолликулдарына қатынасының ең аз көрсеткіші қара түсті – 1,33 және сұр түсті - 1,42 қозыларды анықталды. Алғашқы түк фолликулдарының вариация коэффициенті 11,7%-дан 21,0%-ға өзгереді, екіншілік түк фолликулдарының вариация коэффициенті 14,3%-22,4% шегінде. Жазық елтірі типті қозылардың түк фолликулдарының сандық құрамы (3-кесте) да қозылардың түсіне қарай едәуір өзгереді. Алғашқы түк фолликулдарының сандық құрамының аса үлкен көрсеткіші қара түсті қозыларда анықталды (32,6±0,41), бұдан әрі сұр түсті (31,7±0,67), қазақ сұр (31,4±0,68) және қарақалпақ сұр (31,4±0,65) қозылар тұр. Алғашқы түк фолликулдарының сандық құрамының ең төмен көрсеткіші ақ түсті (29,4±0,32), қоңыр түсті (30,7±0,29), гулигаз (30,9±0,34), бұхар сұр (30,5±0,51) және сұрхандария сұр (30,8±0,36) қозыларда анықталды, салыстырылып отырған топтардың арасындағы айырмашылықтар статистикалық тұрғыдан анық (P<0,01).

Алғашқы түк фолликулдарының вариация коэффициенті 14,3% - 21,6% шегінде өзгереді. Жазық елтірі типті қозылардың екіншілік түк фолликулдарының сандық құрамы бойынша өзіне тән ерекшеліктері бар. Мысалы, екіншілік түк фолликулдарының сандық құрамының ең жоғары көрсеткіштері гулигаз (56,2±0,56), қазақ сұр (56,1±0,51) және қарақалпақ сұр (56,8±0,55) қозыларда, ал екіншілік түк фолликулдарының сандық құрамының ең төмен көрсеткіштері қара (52,7±0,62), сұр (53,3±0,38) және қоңыр түсті (54,6±0,81) қозыларда анықталды, салыстырылып

3-кесте – Жазық елтірі типті қозылардың түк фолликулдарының құрамы

Қозылардың түсі	Алғашқы		Екіншілік		Жалпы саны	ЕФС/АФС
	M±m	C _v	M±m	C _v		
Қара	32,6±0,41	14,3	52,7±0,62	19,7	85,3	1,62
Сұр	31,7±0,67	17,5	53,3±0,38	22,4	85,0	1,68
Ақ	29,4±0,32	18,1	55,8±0,47	23,5	85,2	1,9
Қоңыр	30,7±0,29	19,3	54,6±0,81	27,1	85,3	1,78
Гулигаз	30,9±0,34	14,8	56,2±0,56	21,5	87,1	1,82
Қазақ сұр	31,4±0,68	21,6	56,1±0,51	19,0	87,2	1,79
Бұхар сұр	30,5±0,51	19,5	55,9±0,61	24,5	86,4	1,83
Сұрхандария сұр	30,8±0,36	16,8	55,4±0,49	18,6	86,2	1,8
Қарақалпақ сұр	31,4±0,65	17,4	56,8±0,55	17,5	88,2	1,81

отырған топтардың арасындағы айырмашылықтар статистикалық тұрғыдан анық ($P < 0,01$). Екіншілік түк фолликулдарының вариация коэффициенті 17,5% - 27,1% шегінде. Алғашқы және екіншілік түк фолликулдарының сандық көрсеткіштері түк фолликулдарының жалпы санына әсер ететіні белгілі, осыған байланысты түк фолликулдарының жалпы санының ең жоғары көрсеткіштері қарақалпақ сұр - 88,2 қозыларда анықталды, бұдан әрі гулигаз – 87,1, қазақ сұр – 87,2 қозыларының топтары, бұдан әрі бұхар сұр – 86,4 және сұрхандария сұр – 86,2 қозыларының топтары тұр. Жоғарыда көрсетілген айырмашылықтар екіншілік түк фолликулдарының алғашқы түк фолликулдарының ара қатынасына әсер етті. Екіншілік түк фолликулдарының алғашқы түк фолликулдарына ең жоғары ара қатынасы ақ түсті қозыларда – 1,9 анықталды, ал ең азы қара түсті - 1,62 және сұр түсті – 1,68 қозыларда анықталды, бұл концессиядағы басқа қозылардың көрсеткіштері аралық жағдайда.

Жакеттік, қабырға және жазық типті қозылардың түк фолликулдарының сандық құрамымен салыстырғанда кавказ елтірі типті қозылардың түк фолликулдарының сандық құрамының мәні анағұрлым жоғары (4-кесте). Алғашқы түк фолликулдарының сандық құрамы бір мкм бірлікке 36,3-43,5 дана шегінде.

4-кесте – Кавказ елтірі типті қозылардың түк фолликулдарының құрамы

Қозылардың түсі	Алғашқы		Екіншілік		Жалпы саны	ЕФС/АФС
	M±m	C _v	M±m	C _v		
Қара	43,5±0,41	13,5	48,4±0,26	21,6	91,9	1,11
Сұр	39,6±0,34	14,6	46,9±0,51	20,5	86,5	1,18
Ақ	36,3±0,28	18,3	46,4±0,43	24,3	82,7	1,28
Қоңыр	38,6±0,53	16,7	47,3±0,36	19,5	85,9	1,22
Гулигаз	38,1±0,27	19,8	46,9±0,58	18,7	85,0	1,23
Қазақ сұр	42,7±0,46	14,5	49,6±0,52	19,6	92,3	1,16
Бұхар сұр	39,4±0,53	21,4	48,3±0,67	16,4	87,7	1,22
Сұрхандария сұр	41,7±0,36	16,5	49,2±0,83	15,3	90,9	1,18
Қарақалпақ сұр	38,6±0,41	17,2	47,8±0,52	16,7	86,4	1,23

Алғашқы түк фолликулдарының сандық құрамының ең үлкен көрсеткіштері қара түсті (43,5±0,41), қазақ сұр (42,7±0,46) және сұрхандария сұр типті (41,7±0,36) қозыларды анықталды, бұлар осы көрсеткіш бойынша статистикалық тұрғыдан анық шамаға ($P < 0,01$) сұр түсті (39,6±0,34), бұхар сұр (39,4±0,53), қоңыр түсті (38,6±0,53), гулигаз (38,1±0,27) және қарақалпақ сұр (47,8±0,52) қозылардан асып түседі, бұлар өз кезегінде статистикалық тұрғыдан анық шамаға ($P < 0,01$) ақ түсті қозылардың асып түседі. Алғашқы түк фолликулдарының сандық құрамы бойынша вариация коэффициенті 13,5-21,4% шегінде. Кавказ елтірі типті қозылардың екіншілік түк фолликулдарының сандық құрамы бойынша өзіне тән ерекшеліктері бар. Мысалы, екіншілік түк фолликулдарының сандық құрамының ең жоғары көрсеткіштері қазақ сұр типті (49,6±0,52) және

сұрхандария сұр типті ($49,2 \pm 0,83$) қозыларды анықталды, бұдан әрі қара түсті ($48,4 \pm 0,26$) және бұхар сұр ($48,3 \pm 0,67$) қозылардың тобы тұр, бұдан әрі қоңыр түсті ($47,3 \pm 0,36$), қарақалпақ сұр ($47,8 \pm 0,52$) қозылардың тобы және сұр түсті ($46,9 \pm 0,51$) қозылардың тобы тұр, салыстырылып отырған топтардың арасындағы айырмашылықтар статистикалық тұрғыдан анық ($P < 0,01$). Екіншілік фолликулдардың сандық құрамы бойынша вариация коэффициенті 15,3-24,3% шегінде. Түк фолликулдарының жалпы саны 82,7 және 92,3, ал ЕФ/АФ қатынасы - 1,11 және 1,28 құрайды.

Қорытынды. Сонымен, түстері әртүрлі қаракөл қойы қозыларының түк фолликулдарының сандық құрамын егжей-тегжейлі талдау, алғашқы және екіншілік түк фолликулдарының санының көрсеткіштерінің қозылардың түстеріне және қозылардың елтірілік типіне қарай вариацияланатынын көрсетті. Тұрақты байланыстылық анықталды, оның мәні мынада: екіншілік фолликулдардың саны алғашқы фолликулдардың санынан әрдайым көп. Алғашқы түк фолликулдарының сандық құрамы түсіне байланыссыз кавказ елтірі типті қозыларда көбірек, бұдан әрі жакеттік, қабырға типті қозылар тұр. Екіншілік түк фолликулдарының құрамында кері үрдіс байқалады, мұнда екіншілік түк фолликулдарының құрамының ең жоғары көрсеткіштері жазық елтірі типті қозыларда, ал екіншілік түк фолликулдарының құрамының ең аз көрсеткіштері кавказ елтірі типті қозыларда, бұл концессияда жакеттік және қабырға елтірі қозылар аралық жағдайда. Осыған ұқсас үрдіс екіншілік түк фолликулдарының алғашқы түк фолликулдарына ара қатынасында байқалады. Екіншілік түк фолликулдарының алғашқы түк фолликулдарына ара қатынасы қаракөл қойы қозыларының елтірілік сапасын ерте бағалау өлшемі бола алады.

ӘДЕБИЕТ

- [1] Диомидова Н.А., Панфилова Е.П., Суслина Е.С. Методика исследования волосяных фолликулов. – М., 1960. – 10 с.
- [2] Ерофеев В.С., Шамекенова Р.Д., Туекбасов М.К. Методика дифференцированного определения густоты шерстяных волокон у каракульских ягнят. – Шымкент, 1992. – 8 с.
- [3] Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников. – М., 1969. – 255 с.
- [4] Меркурьева Е.К., Шангин-Березовский Г.Н. Генетика с основами биометрий. – М., 1983. – 400 с.
- [5] Туекбасов М.К., Турумбетов Б. Биометрическая обработка данных научных экспериментов в животноводстве. – Шымкент, 1991. – 20 с.

REFERENCES

- [1] Diomidova N.A., Panfilova E.P., Suslina E.S. Metodika issledovaniya volosyanyh follikulov. M., 1960. 10 p.
- [2] Erofeev V.S., Shamekenova R.D., Tuyekbasov M.K. Metodika differencirovannogo opredeleniya gustoty sherstyanyh volokon u karakulskih yagnyat. Shymkent, 1992. 8 p.
- [3] Plokhinskiy N.A. Rukovodstvo po biometrii dlya zootehtikov. M., 1969. 255 p.
- [4] Merkuryeva E.K., Shangin-Berezovkiy G.N. Genetika s osnovami biometrii. M., 1983. 400 p.
- [5] Tuyekbasov M.K., Turumbetov B. Biometricheskaya obrabotka dannyh nauchnyh eksperimentov v zhivotnovodstvo. Shymkent, 1991. 20 p.

М. К. Туекбасов, А. Е. Кыдырбаева, Г. Ж. Турметова

НИИ Южно-Западного животноводство и растениеводство, Шымкент, Казахстан,
Региональный социальный инновационный университет, Шымкент, Казахстан,
Международный казахско-турецкий университет им. Х. А. Ясави, Туркестан, Казахстан

МОРФОМЕТРИЯ ВОЛОСЯНЫХ ФОЛЛИКУЛ ЯГНЯТ КАРАКУЛЕВОЙ ПОРОДЫ

Аннотация. В статье приведены материалы по сравнительному анализу гисто-морфологических характеристик кожано́й продукции, получаемых от новорожденных каракулевых ягнят с учетом окраса и типов их дублирования.

При анализе первичных и вторичных волосяных фолликул проведены комплексные морфометрические исследования в сравнительном аспекте. В зависимости от окраса каракулевых ягнят выявлены внутривидовые особенности плотности волосяных фолликул. Даже у ягнят одинакового окраса были выявлены различия в соотношениях количества фолликул и типах обработки их кожи. Наблюдается стабильная тенденция: количество вторичных фолликул гораздо больше первичных. Вне зависимости от окраса количество первичных волосяных фолликул больше у ягнят кавказского типа выделки, далее идут жакетный и ребристый. В составе вторичных фолликулярных масс наблюдается обратный процесс, то есть самый высокий показатель вторичных волосяных фолликул у ягнят горизонтального типа выделки, тогда как самый низкий уровень их наблюдается у кавказского типа выделки кожи.

Ключевые слова: ягнята каракулевой породы, окрас, тип дублирования кожи, волосяные фолликулы, первичные и вторичные фолликулы.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 191 – 197

L. N. Saidullayeva¹, Zh. Sh. Yusupbayev², D. E. Kudasova¹,
A. A. Ospanova¹, A. A. Abubakirova¹

¹M. Auezov South Kazakhstan State University, Shymkent, Kazakhstan,

²University of Regional and Social Innovation, Shymkent, Kazakhstan.

E-mail: dariha_uko@mail.ru

ECONOMIC EFFICIENCY AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF MEAT PRODUCTS OF YOUNG CATTLE

Abstract. In this article whole meat of animal carcasses or parts of carcasses: valuable food products are considered. It is composed of muscle, fat, bone and tendon. The spine, back, thigh, breast, pelvis hip muscles are the most nutritional and soft parts. Muscle tissue is composed of an average 73-77% water, 18-21% protein, 3.1% fat, 1.7-2% extract of nitrogenous substances 0.9-1.2% extract of non nitrogen substances, 0.8-1.0% mineral salts, as well as B, B₂, B₆, PP and other vitamins. The muscle tissue has all amino acids necessary for human body. The extracted substances give the meat flavor and improve the function of the digestive glands.

The main indicator of the quality of meat products is the chemical composition of the product. In this case, this indicator of internal organs plays a major role determining the quality of meat.

Nutritional value of meat products depends on the composition of biologically important pairs which change in the process of affecting the quality of the finished product.

Each one-year cattle stock in the experimental group and in the control group in comparison gives benefit of 40310 tenge, or 44% higher.

Economic efficiency of intensively bred bulls in the group (83.2%) compared to young animals in the control group is (66.7%) higher.

Keywords: meat products, biochemical composition, chemical composition, degree of feeding, nutritional value, economic impact.

ӘОЖ 636.2

Л. Н. Сайдуллаева¹, Ж. Ш. Юсупбаев², Д. Е. Кудасова¹,
А. А. Оспанова¹, А. А. Абубакирова¹

¹М. Әуезов атындағы ОҚМУ, Шымкент, Қазақстан,

²Аймақтық әлеуметтік-инновациялық университеті, Шымкент, Қазақстан

ЖАС МАЛ ЕТ ӨНІМДЕРІНІҢ БИОХИМИЯЛЫҚ ҚҰРАМЫ МЕН ЭКОНОМИКАЛЫҚ ТИІМДІЛІГІ

Аннотация. Мақалада ет малдың бүтін ұшасы немесе ұшаның жеке мүшелері; құнды тағамдық өнім қарастырылған. Бұлшық ет, май, сіңір және сүйектіңдерінен тұрады. Қоректілігі жағынан ең құнды әрі жұмсақ бұлшық ет тіндері омыртқа, арқа, белдеме, жамбас тұстарында болады. Бұлшық ет тіндерінде орта есеппен 73-77% су, 18-21% ақуыз, 1-3% май, 1,7–2% экстракты азотты заттар, 0,9–1,2% экстракты азотсыз заттар, 0,8–1,0% минералдық тұздар, сонымен бірге В_р В₂ В₆ РР және т.б витаминдер болады. Бұлшық ет тінінің ақуызында адам ағасына қажетгі амин қышқылдары түгелдей кездеседі. Экстракты заттар етке жағымды хош иіс беріп, ас қорыту бездерінің қызметін жақсартады.

Ет өнімдерінің сапасының негізгі көрсеткіші болып өнімінің химиялық құрамы болып табылады. Осыған орай ішкі мүшелердің бұл көрсеткішінің анықтамасы ет өнімдерінің сапасын бағалауға маңызды орын атқарады.

Ет өнімдерінің тағамдық құндылығы олардағы сығарларының биологиялық маңызды құрамына байланысты, ал оларың өңдеу барысында өзгеріске ұшырауы дайын өнімдердің сапасына басты әсер етеді.

Тәжірибе тобындағы әр бастан бақылау тобындағы тетелеспен салыстырғанда 40310 теңге немесе 44 % артық пайда алынды.

Үдемелі түрде өсірілген бұқашықтар тобында экономикалық тиімділігі (83,2 %) бақылау тобындағы жас малдарға (66,7 %) қарағанда анағұрлым жоғары болды.

Түйін сөздер: ет өнімдері, биохимиялық құрамы, химиялық құрамы, бордақылау дәрежесі, тағамдық құндылығы, экономикалық тиімділігі.

Малдарды үдемелі түрде қолдануды сыйпаттайтын негізгі көрсеткіш, оның өнімділігі болып саналады. Бұл көрсеткіш ретінде малды азықтандыру дәрежесімен және оның азықты жоғары тиімділікте өтеуіне байланысты. Осы екі ықпал тек малдарды дұрыс ұстағанда ғана жоғары дәрежеде тиімді болады. Сонымен қатар малды үдемелі түрде қолдануға өнім өндірісін ұйымдастыру, яғни мал тобын және құрлымын құру, негізгі мал тобын қолдану мерзімі, жас малдарды өсіру үдемелілігінің және бордақылау дәрежесі айтарлықтай әсер етеді [1-3].

Мал шаруашылығының қай саласында болмасын ғылыми жетістіктердің және алдыңғы қатарлы тәжірибе дәрежесінде жасалған ғылыми дәлелденген өнім өндіру әдістер жиынтығы (технология) малдарды үдемелі түрде қолдануда және жоғары дәрежелі экономикалық тиімділікті қамтамасыз етеді [4].

Жас ірі қара малды жайылымда бағып, семіртіп және бордақылап ет өнімділігін арттыруға, сапасын жоғарылатуға болады.

Кажибаева Г.Т., Тулеуов Е.Т. [5] көрсеткендей, ірі қара малды өсіру және бордақылау шаруашылық алатын табысқа байланысты. Мысалы, 200 кг. қондылығы төмен бұқашықтан, салмағы 380 кг. қондылығы жоғары жасы бірдей бұқашықтан 3,3 есе жоғары табыс алынған. Сондықтан ірі қара малдың салмағын және қондылығын жоғарылату, сиыр етін өндіруді ұлғайту бірінші мәселе болып тұр. Етке өткізілетін ірі қара малдың сапасын жоғарылату, жеңіл өнеркәсіп үшін ауыр салмақты тері шикізатын өндіруге де маңызды мәселе болып табылады [6].

Жас малдарды өсіруге жұмсалған шығындардың негізгі бөлігі азыққа, төлдің бағасына және еңбек ақыға, ал қалған шығындар 30-32,1 % құрады. 1ц тірілей салмақтың өзіндік құны бақылау тобында 11831,9 және 12542,1 теңге; соған сәйкес сатыс өнімдердікі 19446,4 және 22491,2 теңге болады [7].

Тәжірибе тобындағы әр бастан бақылау тобындағы тетелеспен салыстырғанда 40310 теңге немесе 44 % артық пайда алынды.

Үдемелі түрде өсірілген бұқашықтар тобында экономикалық тиімділігі (83,2 %) бақылау тобындағы жас малдарға (66,7 %) қарағанда анағұрлым жоғары болды [8].

Ұлыбританияда ет сиыр шаруашылығы кеңесі (MLC) жас малдарды бордақылаудың екі түрін, яғни-құнарлы және шөптік түрлерін салыстырып зерттеді. Бордақылау нәтижесінде бұқашықтарды негізінен шөп азықтарымен азықтандырудың тиімділігі анықталды. Бір малға жұмсалған азық шығымы шөптік бордақылауда құнарлығы қарағанда анағұрлым төмен болды (84,44 ор.с. 125,22 ор.с. салыстырғанда). Бұл 1 бас жас малдан 81,99 ор.с. артық табыс алуды қамтамасыз етті (114,88 ор.с. қарсы 32,89 ор.с.) [9-11].

Әдебиеттерге шолудан келесі қорытынды шығарылды, дененің жеке өсіп дамуы мен ет өнімдерінің құрамында болатын ішкі мүшелердің даму кезеңіндегі қарқындылығы бірдей, бірқалыпты емес. Мүшелердің өсу қарқынына олардың туылған кезіндегі дамығандығы, азықтандыру мен өсіру жағдайлары, жасы ықпал етеді. Ішкі мүшелердің қарқындырақ өсуі жас мүйізді ірі қара малының 1,5 жасқа дейін болады, ал бұдан былайғы кезеңдерінде өсу қарқыны кәдімгідей азаяды. Қарқынды өсіру мен бордақылау кезеңінде негізгі сыңарлардың қарқынды өсуі нәтижесінде малдардың ұшасының салмағына қарағанда анық сипаттайтын I және II дәрежелі ет тәріздес өнімдер төмендейді [12-15].

Сойылған малдардың өнімдерін толық пайдалану, ет және қосалқы ет өнімдерді ұлғайтудың негізгі қорлары болып саналады. Малды сойған және қайта өңдеу кезінде 30% дейін екінші өнім (ет тәріздес өнімдер, май, ішек, қан және тағы басқалар) алынады. Бұл өнімдердің жартысынан көбі азық-түлікке, ал қалғандары малды азықтандыруға және техникалық өнімдерді жасауға жұмсалады. Осы өнімдердің ішінде адам тағамына қосалқы ет өнімдері (I және II дәрежеделі) кеңінен

қолданылады, олардың кейбіреулерінде витаминдер мен басқа биологиялық (тағамдық) заттар едәуір мөлшерде бар. Сондықтан малды жастай өсіріп, бордақылауда өнім сапасының өзгеруін зерттеудің маңызы зор [16-18].

Ет өнімдерінің сапасының негізгі көрсеткіші ол ет өнімінің химиялық құрамына байланысты. Бұқашықтарды үдемелі түрде өсіруге және бордақылауға қояр алдында II дәрежелі ет тәріздес өнімдерге жататын жұмыршақ қарында, өкпеде, өңеште су мөлшері жоғары дәрежеде болды (76,7-77,8%). Бастың жұмсақ етінде, құлақта, көмейде, кеңірдекте су мөлшері аз болғандықтан (68,4-70,4%) бұл мөлшерде май мөлшері жоғары (8,6-11,9%) болды (1-кесте) [19].

1-кесте – Бұқашықтарды бордақылауға қояр алдындағы II дәрежелі қосалқы ет өнімдерінің химиялық құрамы

Көрсеткіштер	Химиялық құрамы					Қуаттылығы, МДж
	су	акуыз	май	асз	күл	
Қарын	76,4	19,1	3,3	0,6	0,6	6,0
Жұмыршақ қарын	77,8	17,7	2,1	–	1,1	5,3
Ұлтабар	76,1	19,7	3,0	–	1,2	5,8
Қатпаршақ	76,7	19,8	2,3	–	1,2	5,6
Өкпе	77,8	15,0	3,5	1,5	1,2	5,6
Кеңірдек	70,4	19,2	9,4	–	1,0	6,8
Өңеш	76,7	19,8	2,3	–	1,2	5,6
Көк бауыр	78,5	17,0	1,6	1,6	1,3	5,0
Ерін	74,5	19,5	3,8	1,5	0,7	6,1
Құлақ	69,6	19,6	8,8	1,8	0,8	8,8
Көмей	70,4	18,9	8,6	0,7	1,4	8,1
Бастың жұмсақ етті	68,4	18,1	11,9	0,8	0,9	9,2

Акуыз мөлшері өңеште, ұлтабарда, ерінде, кеңірдекте, құлақта қарында жоғары (19,1-19,8%), ал өкпеде, көк бауырда төмен (15-17%) болады. Сірінді заттар құлақта, көк бауырда, ерінде, өкпеде (1,6-1,8%), қарын, көмей, бастың жұмсақ етіне (0,6-0,8%) қарағанда жоғары болады. Бастың жұмсақ етінде (11,9%), құлақтың (8,8%), көмейде (8,6%), май мөлшері жоғары дәрежеде болып, осыған байланысты бұл мүшелердің қуаттылығы жоғары (8,1-9,2 МДж) болды. Күл мөлшерде қарында (0,7%), басқа мүшелерге қарағанда (1-1,4%) біршама төмен болатындығы анықталды [20].

Бақылау тобындағы бұқашықтарды үдемелі бордақылау кезінде II дәрежелі ет тәріздес өнімдерге жататын ағза мүшелерінде су мөлшерінің едәуір төмендеп, май мөлшерінің артқаны байқалды (2-кесте).

2-кесте – Бақылау тобындағы бұқашықтарды бордақылаудан кейінгі II дәрежелі қосалқы ет өнімдерінің химиялық құрамы

Көрсеткіштер	Химиялық құрамы					Қуаттылығы, МДж
	су	акуыз	май	асз	күл	
Қарын	74,9	19,2	4,4	0,7	0,8	6,4
Жұмыршақ қарын	76,2	19,7	2,9	–	1,2	5,8
Ұлтабар	73,7	18,9	6,3	–	1,1	7,0
Қатпаршақ	74,8	19,0	5,1	–	1,1	6,5
Өкпе	76,6	16,3	4,2	1,8	1,2	5,9
Кеңірдек	68,9	17,9	12,2	–	1,0	9,0
Өңеш	74,8	19,3	4,8	–	1,1	6,5
Көк бауыр	76,9	17,9	2,1	1,8	1,3	5,5
Ерін	73,2	17,7	7,0	1,2	0,9	7,2
Құлақ	68,4	17,2	11,4	2,0	1,0	9,0
Көмей	69,2	19,4	9,2	0,9	1,3	8,4
Бастың жұмсақ етті	66,5	16,9	14,5	1,1	1,0	10,0

Су мөлшері тәжірибе топтарында ұлтабарда (4-6,2 бірлікке), бастың жұмсақ етінде (3,3-5 бірлікке), құлақта (1,9-3,5 бірлікке), едәуір төмендеді. Ақуыз мөлшері бұқашықтарды үдемелі бордақылау кезінде барлық бұқашықтар топтарында онша өзгеріске ұшырамады. Кеңірдекте (1,3-1,9 бірлікке), бастың жұмсақ етінде (1,1-1,6 бірлікке) төмендеді, ал жұмыршақ қарында (1,7-2 бірлікке) керісінше ақуыз мөлшері жоғарылады (2-кесте). Жас ірі қара малдыбордақылау кезінде сірінді заттар мөлшері онша өзгеріске ұшырамады, осы кезінде бұл заттар мөлшері тек 0,1-0,3 бірлікке артты [21].

I және II дәрежелі ет тәріздес өнімдер химиялық құрамы бойынша, әсіресе ақуыз бен майдың құрамы бойынша айқын ерекшеленеді. Кейбір ішкі мүшелер ақуыз бен майдың болуына қарай ерекшеленеді.

Ет өнімдерін өндегенде II дәрежелі ет тәріздес өнімдерді негізінен өкпе-бауыр шұжығына, дірілдекке, сілікпеге, ал I дәрежелі ет тәріздес өнімдерді-консервілер дайындауға пайдаланады [22].

Атап көрсететін жағдай, ол мүйізді ірі қара малының I және II дәрежелі ет тәріздес өнімдеріне жататын ішкі мүшелердің өсуі мен дамуына бірең-сараң жұмыстар ғана арналса, тіптен олардың өздері де малдардың жасына байланысты мүшелерінің өсу өзгерісін зерттеуге арналған. Қарқынды өсу мен бордақылау кезеңінде тек сою алдындағы тірілей салмағы мен абсолютті және қатынасты салмағының өзгерісі ғана анықталған.

Әдебиеттерде I және II дәрежелі қосалқы ет өнімдерінің химиялық құрамы орташа түрде қамтылған және де толық емес, құрамына кіретін мүйізді ірі қара малының I және II дәрежелерінің жеке ішкі мүшелерінің өзгеру сипатына жас малдарды қарқынды өсіруге және басқа жынысты-жас топтарына байланысты тіптен бірде-бір ғылыми-зерттеу жұмысы жүргізілмеген [23-25].

Осы уақытқа дейін ет өнімдерін өндеуде қосалқы ет өнімдері, әсіресе II дәрежелісін ет (консерві, шұжық) өнімдерін жасауға, әсіресе консервілерді жасау технологиялары толық зерттелмеген.

Қазіргі таңда шет елдерде емдік-сақтау қасиеті бар өнімдер мен қайта өңделген тағам өнімдеріне үлкен назар аударылуда, сондықтан таяу мемлекеттерде және Қазақстан Республикасында да осы бағыттағы ғылыми-зерттеу жұмыстары көбеюде. Мұнда дәрілік шөптерді жиі қолданатын болған. Өкінішке орай, осы уақытқа дейін ет тәріздес өнімдерден дайындалған ет өнімдерін шығаруда дәрілік өсімдіктер қолданылмай келеді [26-30].

Орын алған кемшіліктердің орнын толтыру үшін, белгілі шамада ғылыми-зерттеу жұмыстары жас малды бордақылауда бұқашықтардың ағза мүшелерінің өсу ерекшеліктері мен салмақ өзгерісін анықтау, сапасын жақсарту мақсатында өңдеулер жасау мен ет өнімдерінің жаңа түрлерін дайындауға, әсіресе ет өнімдерін, соның ішінде II дәрежелісін толық қайта өңдеуге, I және II дәрежелі ет тәріздес өнімдерді дайындауда дәрілік шөптер қолданылады. Олардан ет өнімдері жасалынып, сапасы бағаланды.

ӘДЕБИЕТ

[1] Podar C., Sievas E., Daneasa M. Unele aspect ale cresteril compensatoare in ingrasarea tineretului taurin // Prod. Anim. Zootehn. Med. veter. – 1991. – Vol. 39, N 11. – P.17-24.

[2] Тамаровский М.В. Экономические и социальные предпосылки разведение галловейского скота в Республике Казахстан // Жаршы. – Алматы: Бастау, 2004. – № 4. – С. 14-15.

[3] Червинский А.П. Развитие костяка у овец при нормальных условиях, при недостаточном питании и после кастрации самцов в раннем возрасте. – М., 1990. – Т. 1. – С. 148-170.

[4] Зарпуллаев Ш.Н., Алиханов Ж. Интенсивные методы подготовкт некондиционного молодняка крупного рогатого скота на мясо // Матер. межд. науч.-прак. конф. – Алматы, 2000. – С. 112-113.

[5] Кажибасва Г.Т., Тулеуов Е.Т. Использование кишечного сырья в колбасном производстве // Информ.листок Семипалатинский ЦНТИ. – Семей, 1998. – 23 с.

[6] Узиков Я.М. Современное состояние и пути развития мясной промышленности в Республике Казахстан // Пищевая и перерабатывающая промышленность Казахстана. – Алма-Ата, 2004. – № 1. – С. 4-6.

[7] Антипова Л.В., Рогов И.А., Глотова И.А. Методы исследования мяса и мясных продуктов. – М.: Колос, 2001. – 376 с.

[8] Зарпуллаев Ш.Н., Жуманбаев А.С., Алиханов Ж. Интенсивное выращивание, откорм и мясная продуктивность некондиционного молодняка крупного рогатого скота // Научные основы развития сельского хозяйства на юге Казахстана: сб. науч. трудов ЮКИНИИСХ. – Алматы: Бастау, 2001. – С. 204-216.

- [9] Аманжолов К.Ж., Мелдебеков А.М. Производство говядины и кожевенно сырьё высокого качества в Казахстане: Монография. – Алматы, 2001. – 164 с.
- [10] Аманжолов К.Ж., Құлмұхамедов А.И. Ет өндірудің қолайлы технологиясы // Жаршы. – Алматы: Бастау, 2003. – № 9. – Б. 3-9.
- [11] Левахин В.И. Интенсивное выращивание молодняка крупного рогатого скота // Сб. науч. трудов Всесоюзного НИИ мясного скотоводства. – М., 1990. – С. 6.
- [12] Узаков Я.М., Рыскелдиев Б.А., Байболова Л.К. Мясная промышленность Республики Казахстан // Пищевая промышленность Казахстана. – Алма-Ата, 2004. – № 5. – С. 16-19.
- [13] Жузенов Ш.А., Жусупов М., Кулиев Т.М. Как правильно выращивать бычков казахской белоголовой породы до высокой кондиции // Агроинформ. – Астана, 2006. – № 8. – С. 17-18.
- [14] Жузенов Ш.А., Жазылбеков Н.А., Жусупов М. Эффективность производства говядины в зависимости от сёмной живой массы бычков казахской белоголовой породы // Животноводство, кормопроизводство и ветеринария. – Алматы: Бастау, 2006. – № 2. – С. 72-73.
- [15] Байболова Л.К., Таева А.М., Сулейменова Г.Х. Использование субпродуктов II категории в производстве кулинарных изделий // Тез. докл. науч.-практ. конф. – Алматы: Бастау, 1997. – С. 87-93.
- [16] Дьяков С.М. Высокопитательные корма в рационах молодняка крупного рогатого скота на откорм // Молочные и мясные скотоводство. – М., 1990. – Вып. 12. – № 8. – С. 18.
- [17] Никитченко В.Е., Бойко И.А., Гудыменко В.И., Мавромати П.П. Мясная продуктивность и качество мяса бычков вкармливания им люцерновых гранул. // Молочное и мясное скотоводство. – М., 1990. – Вып. 12. – С. 20.
- [18] Афанасьев Г.И., Никитченко В.Е. Эффективность производства говядины при выращивании и откорме помесных симментальных гомитинских бычков // Молочное и мясное скотоводство. – М., 1990. – Вып. 12. – С. 19.
- [19] Кажыбаева Г.Т., Булеуов Е.Т. Проектирование рецептуры паштета «жағымды» с применением белкового комплекса // Матер. Межд. науч.-техн. конф. – Алматы: Бастау, 2000. – С. 391.
- [20] Тулеуов Е.Т., Кажыбаева Г.Т. Использование кишечного сырья в производстве мясных продуктов // Хранение и переработка сельхозсырья. – Алматы: Бастау, 1998. – № 6. – С. 44.
- [21] Абрамова Ж.И., Березовецкова И.П., Котельникова Н.Е., Куманичкин С.Д., Щедрунов В.В. Способ приготовления мясных рубленых изделий // Описания изобретения. SU 1591929 (51)5 A23L1/31. – М., 1990. – № 34. – С. 25.
- [22] Петенко А.И., Кофман М.В. Описания изобретения. Способ откорма молодняка крупного рогатого скота. СИ. 1801384(51) 5A23K1/16. № 10.1993. – С. 10.
- [23] Горошко Г.П., Коршунова Т.Н., Лицын А.В., Любченко В.И. Пищевая добавка для производства мясных изделий, например сырокопченых колбас // Описания изобретения RU 2115341 6A23L1/314. – М., 1998. – № 20. – С. 269.
- [24] Рогов И.А. Общая технология мяса и мясопродуктов. – М.: Колос, 2000. – С. 367.
- [25] Фомичев Ю.П., Архипов Г.И., Кислов А.В., Матусевич В.Е., Комаров Л.Л. Интенсификация мясного скотоводства. – М.: Росагропромиздат, 1991. – 72 с.
- [26] Файшиевский М.Л. Малоотходные технологии на мясокомбинатах. – М.: Колос, 1993. – С. 207.
- [27] Кажыбаева Г.Т., Тулеуов Е.Т. Использование кишечного сырья в колбасном производстве // Информ.листок Семипалатинский ЦНТИ. – Семей, 1998. – 23 с.
- [28] Баймұхамбетов М.А., Рахимов К.Д., Алимгазина Б.Ш., Нургожин Т.С. Фитотерапия сердечно-сосудистых заболеваний. – Алматы, 2000. – 212 с.
- [29] Ушбаев К.У., Никонов Г.К. Лечебные свойства растений Казахстана. – Алматы, 1994. – 214 с.
- [30] Антипова Л.В., Рогов И.А., Глотова И.А. Методы исследования мяса и мясных продуктов. – М.: Колос, 2001. – 376 с.

REFERENCES

- [1] Podar C., Sievas E., Daneasa M. Unele aspect ale cresterii compensatoare in ingrasarea tineretului taurin // Prod. Anim. Zootehn. Med. veter. 1991. Vol. 39, N 11. P. 17-24.
- [2] Tamarovskij M.V. Jekonomicheskie i social'nye predposylki razvedenie gallovejskogo skota v Respublike Kazahstan // Zharshy. Almaty: Bastau, 2004. N 4. P. 14-15.
- [3] Chervinskij A.P. Razvitie kostjaka u ovec pri normal'nyh uslovijah, pri nedostatochnom pitanii i posle kastarcii samcov v rannem vozraste. M., 1990. Vol. 1. P. 148-170.
- [4] Zarpullaev Sh.N., Alihanov Zh. Intensivnye metody podgotovki nekondicionnogo molodnjaka krupnogo rogatogo skota na mjaso // Mater. mezhd. nauch.-prak. konf. Almaty, 2000. P. 112-113.
- [5] Kazhibaeva G.T., Tuleuov E.T. Ispol'zovanie kishechnogo syr'ja v kolbasnom proizvodstve // Inform. listok Semipalatiniskij CNTI. Semej, 1998. 23 p.

- [6] Uzakov Ja.M. Sovremennoe sostojanie i puti razvitija mjasnoj promyshlennosti v Respublike Kazahstan // Pishhevaja i pererabatyvajushhaja promyshlennost' Kazahstana. Alma-Ata, 2004. N 1. P. 4-6.
- [7] Antipova L.V., Rogov I.A., Glotova I.A. Metody issledovanija mjasa i mjasnyh produktov. M.: Kolos, 2001. 376 p.
- [8] Zarpullaev Sh.N., Zhumanbaev A.S., Alihanov Zh. Intensivnoe vyrashhivanie, otkrm i mjasnaja produktivnost' nekondicionnogo molodnjaka krupnogo rogatogo skota // Nauchnye osnovy razvitija sel'skogo hozjajstva na juge Kazahstana: sb. nauch. trudov JuKINIISH. Almaty: Bastau, 2001. P. 204-216.
- [9] Amanzholov K.Zh., Meldebekov A.M. Proizvodstvo govjadiny i kozhevennoo syr'ja vysokogo kachkstva v Kazahstane: Monografija. Almaty, 2001. 164 p.
- [10] Amanzholov K.Zh., Құлмыхамедов А.І. Et өндірудің қолajly tehnologijasy // Zharshy. Almaty: Bastau, 2003. N 9. P. 3-9.
- [11] Levahin V.I. Intensivnoe vyrashhivanie molodnjaka krupnogo rogatogo skota // Sb.nauch.trudov Vsesojuznogo NII mjasnogo skotovodstva. M., 1990. P. 6.
- [12] Uzakov Ja.M., Ryskeldiev B.A., Bajbolova L.K. Mjasnaja promyshlennost' Respubliki Kazahstan // Pishevaja promyshlennost' Kazahstana. Alma-Ata, 2004. N 5. P. 16-19.
- [13] Zhuzenov Sh.A., Zhusupov M., Kuliev T.M. Kak pravil'no vyrashhivat' bychkov kazahskoj belogolovoj porody do vysokoj kondicii // Agroinform. Astana, 2006. N 8. P. 17-18.
- [14] Zhuzenov Sh.A., Zhazylybekov N.A., Zhusupov M. Jeffektivnost' proizvodstva govjadiny v zavisimosti ot s'emnoj zhivoj massy bychkov kazahskoj belogolovoj porody // Zhivotnovodstvo, kormoproizvodstvo i veterinacija. Almaty: Bastau, 2006. N 2. P. 72-73.
- [15] Bajbolova L.K., Taeva A.M., Sulejmenova G.H. Ispolzovanie subproduktov II kategorii v proizvodstve kulinarnyh izdelii // Tez. dokl. nauch.-prakt. konf. Almaty: Bastau, 1997. P. 87-93.
- [16] D'jakov S.M. Vysokopitatel'nye korma v racionah molodnjaka krupnogo rogatogo skota na otkorm // Molochnye i mjasnye skotovodstvo. –M., 1990.-Vyp.12. -№8.-p.18.
- [17] Nikitchenko V.E., Bojko I.A., Gudymenko V.I., Mavrommati P.P. Mjasnaja produktivnost' i kachestvo mjaso bychkov vskarmlivanii im ljucernovyh granul // Molochnoe i mjasnoe skotovodstvo. M., 1990. Vyp. 12. P. 20.
- [18] Afanas'ev G.I. Nikitchenko V.E. Jeffektivnost' proizvodstva govjadiny privyrashhivanii i otkorme pomesnyh simmental'nyh gomitinskih bychkov // Molochnoe i mjasnoe skotovodstvo. M., 1990. Vyp. 12. P. 19.
- [19] Kazhibaeva G.T., Buleuov E.T. Proektirovanie receptury pashteta «zhařymdy» s primeneniem belkovogo kompleksa // Mater. Mezhd. nauch.-tehn. konf. Almaty: Bastau, 2000. P. 391.
- [20] Tuleuov E.T., Kazhibaeva G.T. Ispol'zovanie kishechnoo syr'ja v proizvodstve mjasnyh produktov // Hranenie i pererabotka sel'hozsyr'ja. Almaty: Bastau, 1998. N 6. P. 44.
- [21] Abramova Zh.I., Berezeckova I.P., Kotelnikova N.E., Kumanichkin S.D., Shhedrunov V.V. Sposob prigotovlenija mjasnyh rublenykh izdelij // Opisanija izobretenija. SU 1591929 (51)5 A23L1/31. M., 1990. N 34. P. 25.
- [22] Petenko A.I., Kofman M.V. Opisanija izobretenija. Sposob otkorma molodnjaka krupnogo rogatogo skota. SI. 1801384(51) 5A2ZK1/16. №10.1993. P. 10.
- [23] Goroshko G.P., Korshunova T.N., Liacyn A.V., Ljubchenko V.I. Pishhevaja dobavka dlja proizvodstva mjasnyh izdelij, naprimer syropkopyh kolbas // Opisanija izobretenija RU 2115341 6A23L1/314. M., 1998. N 20. P. 269.
- [24] Rogov I.A. Obshhaja tehnologija mjasa i mjasoproduktov. M.: Kolos, 2000. P. 367.
- [25] Fomichev Ju.P., Arhipov G.I., Kislov A.V., Matusевич V.E., Komarov L.L. Intensifikacija mjasnogo skotovodstva. M.: Rosagropromizdat, 1991. 72 p.
- [26] Fajshievskij M.L. Maloethodnye tehnologii na mjasokombinatah. M.: Kolos, 1993. P. 207.
- [27] Kazhibaeva G.T., Tuleuov E.T. Ispol'zovanie kishechnogo syr'ja v kolbasnom proizvodstve // Inform.listok Semipalattinskij CNTI. Semej, 1998. 23 p.
- [28] Bajmuhambetov M.A., Rahimov K.D., Alimgazinova B.Sh., Nurgozhin T.S. Fitoterapija serdechno-sosudistyh zabolevanij. Almaty, 2000. 212 p.
- [29] Ushbaev K.U., Nikonov G.K. Lechebnye svojstva rastenij Kazahstana. Almaty, 1994. 214 p.
- [30] Antipova L.V., Rogov I.A., Glotova I.A. Metody issledovanija mjasa i mjasnyh produktov. M.: Kolos, 2001. 376 p.

Л. Н. Сайдуллаева¹, Ж. Ш. Юсупбаев², Д. Е. Кудасова¹,
А. А. Оспанова¹, А. А. Абубакирова¹

¹ЮКГУ им. М. Ауэзова, Шымкент, Казахстан,

²Региональный социально-инновационный университет, Шымкент, Казахстан

ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Аннотация. В статье рассмотрено мясо цельной туши животного или отдельные части туши: ценная пищевая продукция. Она состоит из мышц, жиров, сухожилий и костей. Самой питательной и ценной является мягкая часть мышечной ткани: позвоночник, спина, бедро, филе, тазобедренные мышцы. Мышечная ткань в среднем состоит на 73-77 % из воды, 18-21% белка, 1-3% жира, 1,7-2% экстракта азотного вещества, 0,9-1,2% экстракта безазотного вещества, 0,8-1,0% минеральных солей, а также В, В2, В6, РР и других витаминов. В мышечной ткани присутствуют все аминокислоты, необходимые для организма человека. Экстрактные вещества придает мясу аромат и улучшают функцию пищеварительных желез.

Основным показателем качества мясной продукции является химический состав продукта. В таком случае этот показатель внутренних органов при определении качества мяса играет главную роль.

Пищевая ценность мясных продуктов зависит от состава биологически важных пар, изменение при обработке влияет на качество готовой продукции.

Каждое поголовье одногодки в опытной группе и контрольной группе по сравнению дает выгоду на 40 310 тенге или 44 % выше.

Экономическая эффективность интенсивно выращенных в группе бычков (83,2%) по сравнению с молодняками в контрольной группе (66,7%) выше.

Ключевые слова: мясные продукты, биохимический состав, химический состав, степень кормления, пищевая ценность, экономическое воздействие.

Авторлар туралы мәлімет:

Юсупбаев Жақсылық – ауылшаруашылығы ғылымдарының кандидаты, доцент, «Биология» кафедрасы, Аймақтық әлеуметтік-инновациялық университеті

Абубакирова Ажар Абдугапарқызы – магистр, аға оқытушы, «Химиялық инженерия және Биотехнология» ЖМ, «Биотехнология» кафедрасы, М. Әуезов атындағы ОҚМУ

Құдасова Дариха Ерәділқызы – магистр-оқытушы, «Химиялық инженерия және Биотехнология» ЖМ, «Биотехнология» кафедрасы, М. Әуезов атындағы ОҚМУ

Оспанова Айкерим Абдрахманқызы – магистр, аға оқытушы, «Химиялық инженерия және Биотехнология» ЖМ, «Биотехнология» кафедрасы, М. Әуезов атындағы ОҚМУ

Сайдуллаева Лайла Нұрланқызы – магистрант, «Биология» кафедрасы, Аймақтық әлеуметтік-инновациялық университеті

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 198 – 202

**B. K. Zayadan, N. R. Akmukhanova, A. K. Sadvakasova,
K. Bolatkhan, M. O. Bauenova, D. Kirbaeva**

Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: zbolatkhan@gmail.com

**INFLUENCE OF HEAVY METALS
ON VEGETATIVE REPRODUCTION LEMNA MINOR**

Abstract. In the work were considered the impact of heavy metals (Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+}) on vegetative reproduction Lemna minor. It has been established that the minimum concentration of metals, in which there are significant and visible changes in populations of Lemna tiny are: cadmium and lead - 2 MPC, copper - 5 MPC, zinc - 10 MPC. The concentration of cadmium in 5 MPC led to total loss of plants, presence in Wednesday 10 and 20 MPC metal caused the loss of almost the entire population. Lead ions were much more toxic than zinc and copper ions for plants. Zinc showed the lowest toxicity for duckweed tiny metals studied. The resulting us a number of toxicity of metals: $Zn > Cu > Pb > Cd$ is generally consistent with literature data. Found that the presence of listecov and its coloring intensity can serve as indicators of the presence in water of some heavy metals. The results of the analysis, HM in the investigated us plants Lemna minor have shown that almost all metals have tended to accumulate in plant tissues.

Keywords: heavy metals, Lemna, indicator, toxics.

УДК 504.4.054:001.5

**Б. К. Заядан, Н. Р. Акмуханова, А. К. Садвакасова,
К. Болатхан, М. О. Бауенова, Д. К. Кирбаева**

Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан

**ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ
НА ВЕГЕТАТИВНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ LEMNA MINOR**

Аннотация. В работе были рассмотрены влияние тяжелых металлов (Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+}) на вегетативное размножение Lemna minor. Установлено, что минимальные концентрации металлов, при которых наблюдаются значимые и видимые изменения популяции ряски крошечной, составляют: для кадмия и свинца – 2 ПДК, для меди – 5 ПДК, для цинка – 10 ПДК. Концентрация кадмия в 5 ПДК привела к полной гибели растений, присутствие в среде 10 и 20 ПДК металла вызвало гибель практически всей популяции. Ионы свинца оказались намного токсичнее, чем ионы цинка и меди для растений. Цинк показал наименьшую токсичность для ряски крошечной из исследованных металлов. Полученный нами ряд токсичности металлов: $Zn > Cu > Pb > Cd$ – в целом соответствует литературным данным. Обнаружено, что наличие окраски листочков и её интенсивность могут служить индикаторами наличия в воде некоторых тяжелых металлов. Результаты анализа ТМ в исследованных нами растениях Lemna minor показали, что почти все металлы проявляли тенденцию накапливаться в растительных тканях.

Ключевые слова: тяжелые металлы, ряска, индикатор, токсиканты.

В настоящее время растущее поступление сточных вод в природные водоемы приобретает характер глобальной экологической угрозы. Водные экосистемы подвергаются значительному антропогенному загрязнению, что отражается на их продуктивности и качестве воды. Стоки

предприятий химического и нефтехимического профилей содержат различные токсиканты, среди которых особую опасность представляют тяжелые металлы (ТМ), обладающие биологической активностью, мутагенными и канцерогенными свойствами. Для минимизации отрицательного влияния ТМ на гидросферу необходима разработка новых и усовершенствование существующих методов очистки стоков путем снижения концентраций токсикантов, в том числе и методом биоконверсии с использованием высшей водной растительности. Среди тяжелых металлов Co^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} имеют наиболее широкое распространение в сточных водах многих предприятий (горнодобывающих, металлургических, текстильных, гальванических, машиностроения) [1, 2]. В последнее время, в связи с возрастающим загрязнением окружающей среды тяжелыми металлами, изучение реакций растений на указанные вещества является важной экологической проблемой. Развитие методов очистки воздуха, почв и сточных вод и от ионов тяжелых металлов с помощью растений [3, 4] так же повышает интерес к выявлению механизмов взаимодействия растений с металлами.

Целью исследований являлось изучение влияние тяжелых металлов (Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+}) на *Lemna minor*.

Объекты и методы исследований

Объектами исследования являлись водные растения ряска малая *Lemna minor*. Для эксперимента был произведен отбор растений, сходных по морфологическим параметрам. Растения ряски выращивали в стеклянных емкостях объемом 500 мл при комнатной температуре 20-22 °С и постоянном освещении люминесцентной лампой. В качестве питательной среды использовалась среда Штейнберга [6]. В стаканчиках (150 мл) с готовыми растворами помещалось по пять растений ряски. В опытные сосуды добавляли ТМ в концентрации 2, 5, 10, 20 ПДК в виде CuCl_2 , ZnCl_2 , PbCl_2 , $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$. Контролем служил вариант без добавления металлов. Стаканы на двое суток ставили под люминесцентную лампу при комнатной температуре. Через 48 часов проводился анализ морфологических изменений растений. По фотографиям у ряски малой учитывали изменение количества листочков (видоизмененный побег, который имеет вид округлого листа), состояние корней, омертвление – некроз тканей растений и изменение окраски, а также разделение розеток на отдельные листочки. В контроле и в каждой концентрации на основании полученных результатов рассчитывали коэффициент роста популяции по формуле $r = (N_t - N_0) / t$, где N_0 – начальная численность листочков; N_t – конечная численность листочков; t – время экспозиции [7,8]. Содержание тяжелых металлов в растениях определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии на iCAP 6300 Duo ("Thermo Electron", США-Великобритания) после мокрого озоления 70% HNO_3 (о.с.ч.).

Результаты и обсуждение

Тяжелые металлы играют важную роль в жизнедеятельности растений. Многие из них являются микроэлементами (медь, никель, кобальт, цинк и др.), участвующие в самых разнообразных физиологических процессах: от фотосинтеза до регуляции активности генов. Однако значительные концентрации микроэлементов способны вызвать патологические изменения в клетках: образование активных форм кислорода, окислительный стресс и т. д. Для ряда металлов (кадмий, ртуть, свинец, серебро) не выявлены жизненно необходимые функции, кроме деструктивных [9]. В водной среде подвижность, биодоступность металлов выше, чем в почве [10].

При действии тяжелых металлов в разных концентрациях превышающие ПДК для природных вод было установлено, что наибольшим токсическим эффектом обладают ионы кадмия: концентрация в 2 ПДК вызвала значимое снижение скорости роста и времени удвоения листочков на 15 %. Концентрация кадмия в 5 ПДК привела к полной гибели растений, присутствие в среде 10 и 20 ПДК металла вызвало гибель практически всей популяции, к 12 суткам оставались лишь мелкие, не более 1 мм в диаметре почки, соединенные с мертвыми некротизированными материнскими листочками (таблица 1).

Ионы свинца оказались намного токсичнее, чем ионы цинка и меди для растений. Первая реакция на металл при концентрации 2 ПДК – появилась через 4 часа после начала эксперимента. Наследующий день листья приобрели светло-зеленую окраску (таблица 1). Концентрации свинца 5, 10 и 20 ПДК привела к полной гибели растений.

Таблица 1 – Реакция ряски малой (*Lemna minor*) на тяжелые металлы

Металл	Концентрация (ПДК)	Тестовые реакции			Коэффициент роста
		Окраска листиков	Рассоединение листиков	Реакция листиков	
Контроль	0	Интенсивно зеленая	–	Нет	3,59
Cd ²⁺	2	Коричневая	+	Сильное усыхание	0,53
Cu ²⁺	2	Светло зеленая	+	Усыхание краев	3,0
Pb ²⁺	2	Светло-бурая	+	Усыхание	0,60
Zn ²⁺	2	Желто-зеленая	–	Увядание незначительное	3,2
Cd ²⁺	5	Темно –коричневая	+	Сильное усыхание	0,2
Cu ²⁺	5	Белая	+	Сильное усыхание	2,1
Pb ²⁺	5	Темно –коричневая	+	Сильное усыхание	0,23
Zn ²⁺	5	Светло-зеленая, бурая	+	Увядание	3,1
Cd ²⁺	10	Белая	+	Подсыхание	0
Cu ²⁺	10	Белая	+	Подсыхание	0
Pb ²⁺	10	Белая	+	Подсыхание	0
Zn ²⁺	10	Светло- бурая	+	Усыхание	2,8
Cd ²⁺	20	Белая	+	Подсыхание	0
Cu ²⁺	20	Белая	+	Подсыхание	0
Pb ²⁺	20	Белая	+	Подсыхание	0
Zn ²⁺	20	Белая	+	Увядание, частичное подсыхание	1,4

В питательной среде с концентрацией Cu²⁺ 2 ПДК у старых листиков были отмечены признаки хлороза, но скорость размножения в этом случае значимо не отличалась от контроля. При 5 ПДК показатель скорости роста снизился на 63 % по сравнению с контролем. Кроме этого отмечались некрозы и гибель взрослых пересаженных листиков (таблица 1).

Цинк показал наименьшую токсичность для ряски крошечной из исследованных металлов. В диапазоне концентраций от 2 до 5 ПДК он не вызывал статистически значимых снижений скорости роста и времени удвоения листиков. Только при концентрации 10 ПДК в культуральной среде данный металл вызвал снижение скорости вегетативного размножения на 20%, а увеличение концентрации до 20 ПДК снизило скорость размножения на 63%. Кроме этого, цинк в столь высоких концентрациях повлиял и на морфологию растущих листиков (таблица 1). Было обнаружено, что у молодых, развивающихся листиков, формируется характерная зона некроза, своего рода перетяжка в центре листеца, либо вблизи основания, в проксимальной части.

Известно, что растения довольно чутко реагируют на повышение концентрации химических элементов в окружающей среде. Исследованиями многих авторов было показано, что при увеличении количества металлов в питательном растворе наблюдается увеличение их содержания в растительных тканях [11]. Нами исследовалось накопление тяжелых металлов растениями *Lemna minor* при концентрации металлов, которых наблюдаются значимые и видимые изменения популяции ряски крошечной т.е, кадмия и свинец при 2 ПДК, медь при 5 ПДК, цинка при 10 ПДК. Результаты анализа ТМ в исследованных нами растениях *Lemna minor* показали, что почти все металлы проявляли тенденцию накапливаться в растительных тканях (таблица 2). Полученные данные свидетельствуют о том, что за исследованный срок концентрация изучаемых элементов в модели с растениями значительно снизилась от первоначального уровня металлов.

Таблица 2 – Аккумуляция тяжелых металлов растениями *Lemna minor*

Тяжелый металл	Концентрация до начала эксперимента, мг/л	Концентрация в среде после эксперимента, мг/л	Концентрация в растениях после эксперимента, мг/л
Zn	1	0,13±0,02	0,86±0,05
Cu	0,5	0,16±0,004	0,33±0,03
Pb	0,06	0,012±0,006	0,046±0,02
Cd	0,002	0,0006±0,008	0,0012±0,02

Установлено, что минимальные концентрации металлов, при которых наблюдаются значимые и видимые изменения популяции ряски крошечной, составляют: для кадмия и свинца – 2 ПДК, для меди – 5 ПДК, для цинка – 10 ПДК. Концентрация кадмия в 5 ПДК привела к полной гибели растений, присутствие в среде 10 и 20 ПДК металла вызвало гибель практически всей популяции. Ионы свинца оказались намного токсичнее, чем ионы цинка и меди для растений. Цинк показал наименьшую токсичность для ряски крошечной из исследованных металлов. Полученный нами ряд токсичности металлов: Zn>Cu>Pb>Cd – в целом соответствует литературным данным. Обнаружено, что наличие окраски листочков и ее интенсивность могут служить индикаторами наличия в воде некоторых тяжелых металлов. Результаты анализа ТМ в исследованных нами растениях *Lemnaminog* показали, что почти все металлы проявляли тенденцию накапливаться в растительных тканях.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Drost W., Matzke M., Backhaus T. Heavy metal toxicity to *Lemna minor*: studies on the time dependence of growth inhibition and the recovery after exposure // *Chemosphere*. – 2007. – Vol. 67(1). – P. 36-42.
- [2] Mojiri A. Phytoremediation of heavy metals from municipal wastewater by *Typha domingensis* // *African Journal of Microbiology Research*. – 2012. – Vol. 6(3). – P. 643-647.
- [3] Khellaf N., Zerdaoui M. Growth response of the duckweed *Lemna gibba* L. to copper and nickel phytoaccumulation // *Ecotoxicology*. – 2010. – Vol. 19. – P. 1363-1368.
- [4] Singh D., Tiwari A., Gupta R. Phytoremediation of lead from wastewater using aquatic plants // *Journal of Agricultural Technology*. – 2012. – Vol. 8(1). – P. 1-11.
- [5] El-Kheir W.A., Ismail G., El-Nour F.A. et al. Assessment of the efficiency of duckweed (*Lemna gibba*) in wastewater treatment // *International journal of agriculture & biology*. – 2007. – Vol. 9, N 5. – P. 681-687.
- [6] Медведев С.С. Физиология растений: учебник. – СПб.: Изд-во СПб ун-та, 2004. – 336 с.
- [7] Мелехова О.П., Егорова Е.И., Евсеева Т.И. и др. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / Под ред. О. П. Мелехова и Е. И. Егоровой. – М., 2007.
- [8] Воробьев В.Н. Практикум по физиологии и биохимии растений. Электрофизиология высших растений (внеклеточное отведение): Учебно-методическое пособие. – Казань: Казанский университет, 2013. – 32 с.
- [9] Hooda V. Phytoremediation of toxic metals from soil and waste water // *Journal of Environmental Biology*. – 2007. – N 28(2). – P. 367-376.
- [10] Dixit A., Dixit S., Goswami C.S. Process and plants for wastewater remediation: a review // *Scientific Reviews & Chemical Communications*. – 2011. – N 1(1). – P. 71-77
- [11] Kumar J. I. N., Soni H., Kumar R.N., Bhatt I. Macrophytes in Phytoremediation of Heavy Metal Contaminated Water and Sediments in Pariyej Community Reserve, Gujarat, India. *Turk // J. Fish. Aquat. Sci.* – 2008. – N 8. P. 193-200.

REFERENCES

- [1] Drost W. (2007) Heavy metal toxicity to *Lemna minor*: studies on the time dependence of growth inhibition and the recovery after exposure [Text] / W. Drost, M. Matzke, T. Backhaus // *Chemosphere*. 67(1): 36-42.
- [2] Mojiri, A. (2012) Phytoremediation of heavy metals from municipal wastewater by *Typha domingensis* [Text] / A. Mojiri // *African Journal of Microbiology Research* 6(3): 643-647.
- [3] Khellaf, N. (2010) Growth response of the duckweed *Lemna gibba* L. to copper and nickel phytoaccumulation [Text] / N. Khellaf, M. Zerdaoui // *Ecotoxicology*. 19:1363-1368.
- [4] Singh, D. (2012) Phytoremediation of lead from wastewater using aquatic plants [Text] / D. Singh, A. Tiwari, R. Gupta // *Journal of Agricultural Technology*. 8(1): 1-11.
- [5] Assessment of the efficiency of duckweed (*Lemna gibba*) in wastewater treatment (2007) / W. A. El-Kheir, G. Ismail, F. A. El-Nour et al. // *International journal of agriculture & biology*. 9. 5: 681-687.
- [6] Medvedev, S. S. (2004) *Fiziologija rastenij: uchebnik*. 336 (In Russian)
- [7] Melekhova O.P., Egorova E.I., Evseeva T.I. (2007) *Biologicheskij kontrol' okruzhajushhej sredy: bioindikacija i biotestirovanie*: (In Russian)

[8] Praktikum po fiziologii i biohimii rastenij. Jelektrofiziologija vysshih rastenij (vnekletochnoe otvedenie) (2013) 32 (In Russian)

[9] Hooda, V. (2007) Phytoremediation of toxic metals from soil and waste water // Journal of Environmental Biology. 28(2): 367-376.

[10] Dixit, A. (2011) Process and plants for wastewater remediation: a review [Text] / A. Dixit, S. Dixit, C. S. Goswami // Scientific Reviews & Chemical Communications.1(1):71-77

[11] Kumar, J. I. N., H. Soni, R. N. Kumar, and I. Bhatt (2008). Macrophytes in Phytoremediation of Heavy Metal Contaminated Water and Sediments in Pariyej Community Reserve, Gujarat, India. Turk. J. Fish. Aquat. Sci. 8: 193- 200.

Б. К. Заядан, Н. Р. Акмуханова, А. К. Садвакасова, К. Болатхан, М. О. Бауенова, Д. К. Кирбаева

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан

LEMNA MINOR ВЕГЕТАТИВТІ ӨСУІНЕ АУЫР МЕТАЛЛДАРДЫҢ ӘСЕРІ

Аннотация. Жұмыста Lemnaminog вегетативті өсуіне ауыр металлдардың әсері (Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+}) зерттелді. Балдыршөп өсімдігінің популяциясында айтарлықтай өзгерістер бақыланатын минимальды концентрация: кадмий мен қорғасын үшін – 2 ШМК, мыс үшін – 5 ШМК, мырыш үшін – 10 ШМК құрайтыны анықталды. Кадмийдің концентрациясы 5 ШМК өсімдіктің толық өліміне, ал 10 және 20 ШМК популяцияның толық жойылуына алып келеді. Қорғасын иондары мыс пен мырышпен салыстарғанда өсімдіктерге улылығы жоғары болды. Зерттелген металдардан улылығы бойынша төменгі көрсеткішті мырыш көрсетті. Ауыр металлдардың токсинділігі келесі қатарды құрайды: $Zn > Cu > Pb > Cd$ – жалпы әдеби мәліметтерге сәйкес келеді. Өсімдік жапырақтарындағы түстің қарқындылығы мен болу болмауы ауыр металлдармен ластану деңгейін анықтауда индикатор қызметін атқара алатыны анықталды. Ауыр металлдарды талдау нәтижесінде зерттелген Lemna minor өсімдігі барлық металлдарды жинау тенденциясын көрсетті.

Түйін сөздер: ауыр металл, балдыршөп, индикатор, токсикант.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 203 – 207

UDC 541.128

Zh. K. Ibraimova, R. E. Aitkulova, D. E. Kudasova, A. A. Ospanova, Zh. N. Baimirzayeva

South Kazakhstan State University M. Auezov, Shymkent, Kazakhstan.

E-mail: dariha_uko@mail.ru

**STUDYING THE INFLUENCE OF COMBINED SILOS
ON COW'S MILK PRODUCTION**

Abstract. In order to preserve the nutritional value of herbs, 4 options of combined silos have been designed: option I (reference) - maize, option II (experimental) - maize (70%), Sudan grass (30%), option III (experimental) - maize (70%), alfalfa (30%) and option IV (experimental) - maize (60%), Sudan grass (20%), and alfalfa (20%). Options II-IV of combined silage contained lactic -acid bacterium *Lactobacillus plantarum-52* at the rate of 1 billion cells per kg of green mass. Study of the combined silos chemical composition 120 days later showed that in the experimental options, as compared to the reference one, protein content was higher (II - 11.4%. III - 12.2%. IV - 12.91%) and, conversely, fiber content was decreased. Feeding cows with combined silage that contains probiotics has a positive effect on their milk production. Within 100 days of the experiment, cows in experimental groups gave milk more by 60-230 kg.

Keywords: combined silage, cow, *Lactobacillus plantarum-52* culture, milkiness, maize, Sudan grass, alfalfa, milk, fat.

Introduction. According to the data from Donaldson E. [1], Luck E. [2], Wiegmann C. [3], Spoelstra S.F. et. Al. [4], increasing attention in foreign countries is paid to combined silos obtained with the use of various bacteria, which improve the quality of ensilaged cultures to a certain extent.

At the same time, many of the bacteria used proved to be unsuitable for hardly ensilaged grass, particularly legumes. Inefficiency of preparations based on osmotolerant lactic-acid bacteria in ensilaging high-protein legumes can be explained by the lack of sugar required for formation of a sufficient amount of organic acids.

Various preparations and biological preservatives have been used for ensilaging hardly ensilaged herbs [5, 6]. In recent years, works appeared that evidence a positive solution to the problem of ensilaging high protein legumes with the use of the *Lactobacillus plantarum-52* lactic acid bacterium [7-9]. According to G. Y. Laptev [10] and V. A. Ramensky [11], *Lactobacillus plantarum-52* is suitable for preserving nutrients and for improving quality of grass silage of virtually any plant material. Besides, *Lactobacillus plantarum-52* possesses antibacterial properties together with well expressed fungicidal abilities, as well.

The purpose of the research was to develop combined silage in the Southern region of Kazakhstan, using the *Lactobacillus plantarum-52* culture, from a variety of forage crops, including legumes, that stably maintains nutritional assets of freshly cut grass and, when subsequent used for feeding lactating cows, contribute to increased milk production.

Materials and methods of research. The research was carried out in the laboratories of the South-Kazakhstan State University named after M. Auezov and in production conditions in accordance with "Guidelines for studying preservative effects of chemicals used in silages in the laboratory" [12]. The study of combined silage influence on dairy cows was made using Auliatinsk breed. The digital material obtained from the studies was mathematically processed by N. A. Plokhinsky [13].

Main part. In laying silage, the following crops were used: maize, Sudan grass and alfalfa. These crops were used for laying 4 kinds of silage. Silage of option I (reference) consists of maize, option II

(experimental) - of maize (70%) and Sudan grass (30%), option III (experimental) - of maize (70%) and alfalfa (30%), and option IV (experimental) - of maize (60%), Sudan grass (20%), and alfalfa (20%). Experimental options of combined silage contain lactic-acid bacterium *Lactobacillus plantarum-52*.

Green plants were ensilaged using containers (1 dm³) with 4 repetitions of each option. Freshly mowed green mass was milled and chemically analyzed in a laboratory for 24 hours. 10 ml of preservatives diluted in water at the ratio of 1:1 were added to 1 kg of freshly mowed mass. After introducing bacterial cultures, raw materials were mixed and loaded into a laboratory container rammed to profuse juice discharge from the silage mass.

The containers were weighed, capped, sealed with paraffin and stacked for storage in an unlit, dry and cool room. The silages were allowed to ripen for 120 days, then they were evaluated by organoleptic characteristics, their acidity was determined, and the content of solids was analyzed.

The results of silos chemical analysis showed (table 1) that complex silage with probiotics (groups 2 through 4) features a higher content of nutrients, as compared to maize silage. Thus, the amount of dry matter in silage of maize, Sudan grass and alfalfa was 29.36%, or by 1.60% higher, as compared to option I ($P < 0.01$). Content of dry matter in option IV is also higher than in option II by 2.02% ($P < 0.05$), and in option III by 2.82%. Content of crude protein was also significantly higher in silage of option IV. At the same time, crude fat content in the compared silages containing *Lactobacillus plantarum-52* (Groups 2-4) is virtually the same (4.7-4.8%). By this indicator, the experimental groups outperform the reference group by 1.4 to 1.5%. The highest content of crude fibre was seen in the reference option of silage - 7.67%, in the option with Sudan grass and alfalfa, fibre content is less by 0.46%, and in the maize and alfalfa option- by 0.89%. Acidity of the reference and experimental options of complex silages was 3.8 to 3.9.

Table 1 – Characteristics of the compared combined silages by chemical composition

Indicators	Maize silage	Complex silage (70% maize + 30% Sudan grass+ <i>Lactobacillus plantarum-52</i>)	Complex silage (70% maize + 30% alfalfa+ <i>Lactobacillus plantarum-52</i>)	Complex silage (60% maize + 20% Sudan grass + 20% alfalfa + <i>Lactobacillus plantarum-52</i>)
	I (reference)	II (experimental)	III (experimental)	IV (experimental)
Dry matter,% including:	27.76±1.2	26.34±0.97	26.54±0.93	29.36±0.68
Protein, %	9.52 ±0.01	11.61±0.08	12.18±0.3 7*	12.91±0.78*
Fat, %	3.49 ± 0.02	4.14 ±0.03*	4.83 ±0.05**	4.86 ±0.06**
Fibre,%	37.03 ±1.04	35.93± 0.92*	32.34 ± 1.31**	30.82 ± 1.74**
Ash, %	1.97±0.15	1.89±0.13	1.92±0.13	1.96±0.17
Nitrogen-free extractive substances %	47.99± 1.74	46.43 ±2.14	48.73 ±2.76	49.45 ±1.43
pH	3.8 ±0.03	3.9 ±0.04	3.9 ±0.08	3.9 ±0.07
Acids ratio, %				
lactic	71.7 ±2.08	79.6±2.47	80.5±2.11	81.1±2.43
acetic	28.3±0.7	20.4±2.36	19.5±3.21	18.9±1.62
oleic	0.0	0.0	0.0	0.0
Carotene, mg/kg	19.40±1.84	22.42	26.7 ±2.42	29.8 ±2.19
Forage units in 1kg of natural forage	0.19±0.007**	0.22±0.005	0.23±0.006	0.24±0.008
* p < 0.05; ** -p < 0.01.				

An equally important quality characteristic of the harvested silages is preservation of nutrients (Table 2). Results in Table 2 show that the maize & alfalfa & Sudan grass option (IV experimental) is the best in preserving dry matter (87.89%), organic matter (86.78%), protein (92.51%), ash (85.96 %), nitrogen-free extractives (78.49%) and carotene (65.71%).Fibre is best preserved in maize silage (83,72%).

Table 2 – Preservation of nutrients in silages (% of initial weight)

Indicators	Maize silage	Complex silage (70% maize + 30% Sudan grass + <i>Lactobacillus plantarum</i> -52)	Complex silage (70% maize + 30% alfalfa + <i>Lactobacillus plantarum</i> -52)	Complex silage (60% maize + 20% Sudan grass + 20% alfalfa + <i>Lactobacillus plantarum</i> -52)
Dry matter	81.32±2.53	82.87±2.69	82.72±2.59	87.89±2.49*
Organic matter	81.21±2.67	85.62±3.83	85.92±3.27	86.78±2.12
Protein	85.23±1.98	86.63±3.02	87.54±3.05	92.51±2.32*
Fibre	93.26±2.64	83.28±3.34	83.84±3.57	83.72±2.91
Ash	81.92±3.62	83.87±3.51	85.92±2.78	85.96±2.89
Nitrogen-free extractive substances	74.99±2.39	75.73±3.12	76.43±3.41	78.49±2.83
Carotene, mg/kg	52.29±5.29	61.44±2.02	61.72±1.56	65.71±1.89
Forage units	82.61±1.45	84.64±3.51	85.81±3.38	94.37±2.29*

Based on the above data about qualitative and quantitative composition of ready silages, it can be stated that *Lactobacillus plantarum*-52 is suitable for the preservation of green mass of cereals and legumes. In all options, studies with the use of probiotics gave results superior to mono-component silage. It was established that combined silages containing maize, Sudan grass and alfalfa with probiotic added feature the least loss of nutrients. Especially, silaged grass proteins were preserved in sufficient quantities (86.63 to 92.51%). Cereals mixed with legumes and lactic acid bacterium *Lactobacillus plantarum*-52 make a silage with good organoleptic characteristics, high degree of preservation of dry and organic substances, and less loss of carotene of observed during storage.

Feeding complex silage made of maize, Sudan grass and alfalfa to lactating cows results in increased milk production by animals (Table 3). Introduction of silages of maize and Sudan grass with probiotic (II experimental) increases milk production by 8.6% in comparison with maize silage. A similar 11.3% increase in cows' milk yield was found in case of feeding them with maize and alfalfa silage with probiotic. Milk productivity in cows that received combined silage (group IV) consisting of: maize (60%), Sudan grass (20%) and alfalfa (20%) with *Lactobacillus plantarum*-52 was higher than that in other groups. Milk production in cows of the fourth group was higher by 17.9% than that in the reference group, and by 8.6% higher than that in the second group, and by 4.4% higher than the one in the third group. Eatability by cows of the silage from group I was 90.2%, from groups II and III - 92.6%. The best combined silage eatability was found in cows in group IV- 94.3%.

Table 3 – Influence of combined silages on cows' milk production

Indicators	I reference (no preservative)	Combined silage with <i>Lactobacillus plantarum</i> -52 lactic-acid bacterium		
		II experimental	III experimental	IV experimental
Daily milk yield, kg	13.9±0.84	15.1±0.71	15.7±0.76	16.4±0.83
Milk fat, %	3.83±0.06	3.93±0.09	3.91±0.07	3.90±0.08
Obtained in 100 days of experiment: milk	1390.0±62.2	1510.0±49.2	1570.0±53.6	1640.0±67.4
Milk fat	53.2±1.51	55.4±1.59	61.3±2.04	63.9±1.84

The study of the qualitative composition of milk from experimental cows showed that they were practically identical in chemical composition and technological properties at the beginning of the experiment. However, after 100 days of receiving combined silage with lactic-acid ferment (*Lactobacillus plantarum*-52), improvement in milk quality indicators in all experimental groups was found.

Thus, a positive effect of the combined silos on cows' milkiness and content of essential nutrients in milk was found in the experiment. These data speak for potential use of *Lactobacillus plantarum*-52 for ensilaging hardly ensilaged crops, and the use of these combined silages for feeding cows in order to increase their milk production.

Discussion. The obtained experimental results show the possibility of ensilaging hardly ensilaged alfalfa with the *Lactobacillus plantarum-52* preservative that has antibacterial properties and fungicidal action and is present in maize and Sudan grass. Bactericidal properties of *Lactobacillus plantarum-52* were first reported by A. Polnomochnov et al., [14, 15] who suggested using this culture in the production of antibiotics. More detailed studies of morphological, cultural, and biological properties of *Lactobacillus plantarum-52* was performed by N. P. Tarabukina [16], which became the basis for developing the possibility of using herbs for preserving animal forage [17, 18]. V. Duborezov, V. Vinogradov [19] studied cellular features of *Lactobacillus plantarum-52* in detail and characterized their zymoplastic features. Our research has shown that silage combined with *Lactobacillus plantarum-52* by its protein and fat content exceeds the reference group and has a positive effect on cows' milkiness, which also confirms previous findings of some authors [20].

Conclusions.

1. The studies have shown high preservative activity of the *Lactobacillus plantarum-52* strain in ensilaging legumes and cereals. In combined silages containing this probiotic, protein and fat content increases, and fibre content decreases.

2. Feeding combined silage with the *Lactobacillus plantarum-52* strain to lactating cows results in an increase in milkiness by 11.3% -17.9%, and an increase in protein content by 3.32%.

REFERENCES

- [1] Donaldson E. Getting the right silage // Machinery for silage. Hurley, 1985. P. 12-17.
- [2] Luck E. Chemische Lebensmittelkonservierung. Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 1995. P. 225.
- [3] Wiegmann S. Konservierung von Herbstgrasern mit einem Silierzusatz aus Lactobakterien. Diplomarbeit an der Technischen Universität. Berlin, 1996. P. 95.
- [4] Spoelstra S.F., Courtin M.G., Beers J.A.C. Acetic acid bacteria can initiate aerobic deterioration of whole crop maize silage // J. of Agr. Sci. 1988. N 1. P. 127-132.
- [5] Levahin V.I. Ispol'zovanie konservantov pri silosovanii kormov. Kazan', 2001. 291 p.
- [6] Pobednov Ju.A., Hudokormov V.V. Novyj preparat dlja silosovanija provjalennyh trav // Kormoproizvodstvo. 2000. N 6. P. 30-31.
- [7] Pobednov J.A. Effect of the bacterium *Bacillus subtilis* on the safety and quality of dried grass silage. 2001. N 11. P. 29-32.
- [8] Mamaev A.A. Efficacy preserving herbs culture *Bacillus subtilis* and use of the resulting feed ration cattle: Author. diss. k.s.h.n. 2005.
- [9] Kostin D.N. Meat efficiency of calves when used in canned rations of alfalfa silage. M.: Kolos, 2008. P. 113.
- [10] Laptjev G.Ju. Biotrof mikrobiologija dlja zhivotnovodstva // Sel'skohozjajstvennye vesti. 2003. N 1. P. 10.
- [11] Ramenskij V.A. Sravnitel'naja karakteristika bakterial'nyh zakvasok i himicheskikh konservantov pri silosovanii trav: Dis. kand. s.-h. nauk: 06.02.02. M., 1991. 205 p.
- [12] Guidelines for the study in the laboratory preservative effects of chemicals used in the silage (AUIAB) Dubrovicy, 1993. 9 p.
- [13] Plohinsky H.A. Rukovodstvo biometrics for Animal Husbandry. M.: Kolos, 1969. 25 p.
- [14] Polnomochnov A. Zagotovka silosa s biologicheskim konservantom // Zhivotnovodstvo Rossii. 2001. N 6. P. 36-37.
- [15] Panov A.A. Razrabotka i sovershenstvovanie tehnologij silosovanija zelenoj massy kormovyh kul'tur s ispol'zovaniem himicheskikh i biologicheskikh preparatov: Avtoref. dis. dokt. s.-h. nauk: 06.02.02. M., 1998. 38 p.
- [16] Tarabukina N.P. Morphological, cultural, and biological properties of *Bacillus subtilis* «TNT-3.» // Scientific support veterinary problems in livestock: Sat scientific. tr. Novosibirsk, 2000. P. 264-266.
- [17] Allaberdin I.L. Nauchnye i prakticheskie osnovy primeneniya himicheskikh, biologicheskikh i rastitel'nyh konservantov pri zagotovke silosa i ispol'zovanija ego v kormlenii krupnogo rogatogo skota: Avtoref. dokt. diss. Orenburg, 1999. 46 p.
- [18] Hudokormov B.B. Jefferktivnost' konservirovanija provjalennyh trav preparatom Biotrofi- ispol'zovanie poluchennogo korma v racionah krupnogo rogatogo skota: Avtoref. dis. kand. s.-h. nauk: 06.02.02. M., 2002. 16 p.
- [19] Duborezov V., Vinogradov V. Biokonservanty povyshajut pitatel'nost' kormov // Zhivotnovodstvo Rossii. 2004. N 5. 1. P. 9.
- [20] Bezborodov I.N. Polnocennoe kormlenie krupnogo rogatogo skota. Belgorod: Izd-vo BGSHA, 2001. 35 p.

Ж. К. Ибраимова, Р. Э. Айткулова, Д. Е. Кудасова, А. А. Оспанова, Ж. Н. Баймирзаева

М. Әуезов атындағы ОҚМУ, Шымкент, Қазақстан

СЫРЛАРДЫҢ СҮТ ӨНІМДІЛІГІНЕ ЖИЫНТЫҚ ТҮРІНДЕГІ СҮРЛЕМНІҢ ӘСЕРІН ЗЕРТТЕУ

Аннотация. Шөптердің қоректік құндылығын сақтау мақсатында жиынтық түріндегі сүрлемнің 4 нұсқасы жасалды. Жиынтық түріндегі сүрлемнің I нұсқасының (бақылаудағы) құрамы – жүгері сүрлемі, II нұсқа (сынақтық) - жүгері (70%), судан шөбі (30%), III нұсқа (сынақтық) – жүгері (70%), люцерна (30%) және IV нұсқа (сынақтық) – жүгері (60%), судан шөбі (20%), люцерна (20%). Жиынтық түріндегі сүрлемнің II-IV нұсқаларына *Lactobacillus plantarum*-52 сүт қышқылды бактериялар қосылды. Жиынтық түріндегі сүрлемнің 120 күн өткен соң химиялық құрамын зерттеу көрсеткендей, сынақтық нұсқаларда протеин құрамы жоғары (II - 11,4%, III - 12,2%, IV - 12,91%) және керісінше клетчатка құрамының деңгейі төмендейді. II, III, IV нұсқаларда сиырларды жиынтық түріндегі сүрлеммен азықтандыру олардың сүттілік өнімділігіне оң әсер етеді. 100 күндік сынақ жүргізу кезінде осы топтардағы сиырлардан көп мөлшерде сүт (60-230 кг) және май (5,7-12,7 кг).

Түйін сөздер: жиынтық түріндегі сүрлем, сиырлар, *Lactobacillus plantarum* -52 культураны, сүттілігі, жүгері, судан шөбі, люцерна, сүт, май.

Ж. К. Ибраимова, Р. Э. Айткулова, Д. Е. Кудасова, А. А. Оспанова, Ж. Н. Баймирзаева

Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауэзова, Шымкент, Казахстан

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО СИЛОСА НА МОЛОЧНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ КОРОВ

Аннотация. С целью сохранения питательную ценность трав разработаны 4 варианта комбинированных силосов. I вариант (контрольная) комбинированного силоса включает кукурузный силос, II вариант (опытная) - кукурузы (70%), суданская трава (30%), III вариант (опытная) - кукурузы (70%), люцерны (30%) и IV вариант (опытная) - кукуруза (60%), суданская трава (20%), люцерна (20%). Во II-IV варианты комбинированного силоса добавлены молочнокислой бактерий *Lactobacillus plantarum*-52. Исследования через 120 дней химического состава комбинированных силосов показали, что в опытных вариантах более высокое содержание протеина (II - 11,4%, III - 12,2%, IV - 12,91%) и наоборот снижены уровня содержания клетчатки. Скармливание коров комбинированным силосом II, III, IV вариантов положительно влияют на их молочную продуктивность. За 100 опытных дней от коров этих групп получено больше молока (60-230 кг) и жира (5,7-12,7 кг).

Ключевые слова: комбинированный силос, коровы, культура *Lactobacillus plantarum* -52, молочность, кукуруза, суданская трава, люцерна, молоко, жир.

Сведения об авторах:

Ибраимова Жулдыз Кайратовна – преподаватель, доктор PhD, Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауэзова, Высшая школа «Химическая инженерия и Биотехнология», кафедра «Биотехнология».

Айткулова Райхан Алтайбековна – кандидат химических наук, доцент, Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауэзова, Высшая школа «Химическая инженерия и Биотехнология», кафедра «Биотехнология»

Кудасова Дариха Ерадиловна - магистр, преподаватель, Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауэзова, Высшая школа «Химическая инженерия и Биотехнология», кафедра «Биотехнология».

Оспанова Айкерим Абдрахмановна - старший преподаватель, Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауэзова, Высшая школа «Химическая инженерия и Биотехнология», кафедра «Биотехнология»

Баймирзаева Жамила Нуралиевна – магистр, преподаватель, Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауэзова, Высшая школа «Химическая инженерия и Биотехнология», кафедра «Биотехнология».

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 208 – 213

V. V. Boyko, A. G. Krasnojaruzhsky, V. G. Groma, V. V. Kritzak

Institute of General and Emergency Surgery of V. T. Zaytsev, Kharkov, Ukraine.

E-mail: knmu.surgery@gmail.com

**PREOPERATIVE ENDOBRONCHIAL SANITATION
AS PREPARATION FOR THORACIC INTERVENTIONS**

Abstract. The results using the preoperative endoscopic photodynamic therapy, with the introduction of the tracheobronchial tree in an aqueous solution of brilliant green dye in a concentration of 0,04%, followed by irradiation of the solution by laser radiation with a wavelength of 0,63 microns in an independent form and in combination with conventional antiinflammatory therapy. There was a significant reduction or complete relief of clinical symptoms accompanying endobronchitis as soon as possible which leads to a significant reduction in the amount of endobronchial complications during surgical interventions.

Keywords: preoperative endoscopic photodynamic therapy, complications.

УДК6 616.233-002.616-248-086:615.837.3

В. В. Бойко, А. Г. Краснояружский, В. Г. Грома, В. В. Крицак

ГУ «Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева НАМН Украины», Харьков, Украина

**ПРЕДОПЕРАЦИОННАЯ ЭНДОБРОНХИАЛЬНАЯ САНАЦИЯ
КАК ПОДГОТОВКА К ТОРАКАЛЬНЫМ ВМЕШАТЕЛЬСТВАМ**

Аннотация. Представлены результаты предоперационной подготовки с использованием эндоскопической фотодинамической терапии, с введением в трахеобронхиальное дерево водного раствора красителя бриллиантового зеленого в концентрации 0,04%, с последующим облучением данного раствора лазерным излучением с длиной волны 0,63 мкм в самостоятельном виде и в сочетании с традиционной противовоспалительной терапией. Отмечено достоверное снижение или полное купирование клинических проявления сопутствующего эндобронхита в кратчайшие сроки что приводит к достоверному уменьшению количества эндобронхиальных осложнений при проведении оперативных вмешательств.

Ключевые слова: предоперационная подготовка, эндоскопическая фотодинамическая терапия, осложнения.

Введение. Несмотря на совершенствование методик оперирования и предоперационной подготовки непосредственные результаты радиальных операций по поводу новообразований легкого остаются неудовлетворительными. Послеоперационные осложнения встречаются у 5-37,5% оперированных больных [4].

Наиболее тяжелыми и опасными осложнениями хирургического лечения рака легкого являются бронхоплевральные, к которым относятся несостоятельность культи бронха, бронхиальный свищ с развитием эмпиемы плевральной полости, диффузный гнойный эндобронхит [2, 6].

По мнению различных авторов, представленные осложнения составляют в общей структуре послеоперационных осложнений 3-12% [5].

Послеоперационная летальность среди больных с бронхиальными свищами отмечается в 21-30% случаев [1].

Послеоперационные эндобронхиальные осложнения у больных раком легкого тяжело протекают, представляют большие трудности при лечении и значительно ухудшают качество жизни радикально прооперированных больных. Консервативное лечение бронхиальных свищей может быть успешным лишь на ранних стадиях формирования свища, до образования стойкого рубцового канала и тем более, его эпителизации [2, 7].

Воспалительный процесс в слизистой бронхиального дерева обычно сопровождается отеком и гиперемией слизистой оболочки, снижением ее эластичности, контактной кровоточивостью и наличием мокроты в просвете бронхиального дерева. При этом происходит ухудшение дренажной функции мерцательного эпителия, с нарушением микроциркуляции и накоплением густого бронхиального секрета [8].

Общепризнанно, что состояние эпителия бронхов в предоперационном периоде у онкологических больных имеет решающее значение для течения регенераторных процессов в культе бронха. Поэтому, в настоящее время успех в лечении хронических бронхитов определяется поиском новых методов терапии, в том числе тех, действие которых направлено на стимуляцию регенераторных процессов [9].

Одним из них является метод низкоинтенсивного лазерного облучения, который широко используется в общей клинической практике. Но в торакальной хирургии применяется сдержанно и осторожно, в связи с тем, что не до конца изучен механизм действия и его влияние на клетки опухоли [7].

В ряде экспериментальных и клинических работ показано, что низкоинтенсивное лазерное излучение красной части спектра ($\lambda = 0,63-0,66$ мкм), оказывает не только выраженное противовоспалительное и стимулирующее регенерацию ткани действие, но и не стимулирует рост опухоли [3].

Однако, в доступной литературе практически отсутствуют работы, посвященные применению фотодинамической терапии в качестве метода предоперационной подготовки бронхиального дерева и лечения послеоперационных эндобронхиальных осложнений у пациентов после торакальных вмешательств.

Материалы и методы

Проведено изучение эффективности эндоскопической фотодинамической терапии по разработанной нами методике, с введением в трахеобронхиальное дерево водного раствора красителя бриллиантового зеленого в концентрации 0,04%, с последующим облучением данного раствора лазерным излучением с длиной волны 0,63 мкм (гелий-неоновый лазер АФЛ-2) в самостоятельном виде и в сочетании с традиционной противовоспалительной терапией, в качестве предоперационной подготовки трахео-бронхиального дерева у больных раком легкого. В исследование включены 181 пациент с раком легкого II-III стадией, с морфологически подтвержденным диагнозом рака легкого и сопутствующего эндобронхита.

В предоперационном периоде все больные были разделены на III репрезентативные группы. Пациенты, получившие в предоперационном периоде эндоскопическую фотодинамическую терапию (63 пациента) составили I группу, больные, получившие комплексное лечение – эндоскопическую лазерную терапию в сочетании с традиционной противовоспалительной терапией составили II группу (60 человек). Третью группу составили больные, получившие в предоперационном периоде только традиционную противовоспалительную терапию (58 человек).

Исследуемые группы равнозначны и сопоставимы по основным прогностическим критериям: по полу, возрасту, стадии рака и локализации опухолевого процесса, а также по степени выраженности клинических, эндоскопических признаков сопутствующего эндобронхита и исходному составу микрофлоры бронхиального дерева.

Эндоскопическая эндобронхиальная санационная терапия, осуществлялась низкоинтенсивным излучением красной части спектра ($\lambda = 0,63-0,66$ мкм), в импульсном режиме, с мощностью 12 мВт. Сеансы проводились через день, больные получили 3-6 сеансов бронхосанации, которая включала в себя – непосредственную санацию бронхиального дерева и лазерное облучение в указанном режиме.

В группе сравнения проводился комплекс традиционной предоперационной подготовки, состоящий из назначения антибиотиков широкого спектра действия, с учетом чувствительности микрофлоры бронхиального дерева, бронхолитиков, противокашлевых препаратов, ингаляции щелочных растворов, кислород терапии, дыхательной гимнастики.

В группе больных, получивших комплексное лечение по поводу сопутствующего хронического эндобронхита, в качестве предоперационной подготовки проводилось традиционное противовоспалительное лечение, по вышеуказанной схеме в сочетании с эндоскопической лазерной терапией.

Результаты и их обсуждение

После окончания курса предоперационной подготовки с использованием различных методов санации трахео-бронхиального дерева были отмечены существенные изменения воспалительного процесса в бронхиальном дереве, по ряду клинико-лабораторных, эндоскопических и морфологических критериев.

Отмечено улучшение общего самочувствия и уменьшение основных клинических симптомов сопутствующего хронического бронхита во всех исследуемых группах. При этом, уже на 3-5 сутки после начала предоперационной подготовки после 1-2 сеансов эндоскопической бронхосанации у больных улучшалось общее самочувствие, уменьшалось количество откашливаемой мокроты и изменялся ее характер со слизисто-гношной на слизистую. У больных группы сравнения эти изменения клинических проявлений бронхита зафиксированы в более поздние сроки через 10-14 дней с момента начала лечения.

Для полного купирования клинических явлений эндобронхита потребовалось провести 5-6 сеансов эндоскопической фотодинамической терапии по разработанной нами методике, с введением в трахеобронхиальное дерево водного раствора красителя бриллиантового зеленого в концентрации 0,04%, с последующим облучением данного раствора лазерным излучением с длиной волны 0,63 мкм (гелий-неоновый лазер АФЛ-2), Мощность на выходе световода 12 мВт. У больных без выраженных клинических симптомов сопутствующего хронического бронхита было достаточно выполнить всего 3 сеанса бронхосанации по предложенной методике.

По окончании курса предоперационной подготовки, было отмечено, что кашель и одышка у пациентов, получивших эндоскопическую лазеротерапию в самостоятельном виде сохранились в 12,7% и в 6,3% случаев, соответственно. При проведении комплексной предоперационной подготовки, до лечения кашель и одышка наблюдались у 96,6 и 63,3% больных соответственно. После лечения указанные симптомы сохранились у 8,3 и 6,7% больных, соответственно. В группе сравнения, после выполненной предоперационной подготовки кашель наблюдался у 20 больных (34,5%), одышка у 18 пациентов (31,3%). Различия в группах статистически достоверны ($p < 0,05$).

По завершении курса предоперационной подготовки отмечены значительные изменения эндоскопической картины бронхиального дерева. После эндоскопической бронхосанации по предложенной методике в самостоятельном виде гиперемия слизистой оболочки бронхов сохранилась только у 7,9% больных, отек слизистой оболочки бронхов у 3,3%, а наличие мокроты в просвете бронхиального дерева наблюдалось лишь в 4,7% случаев.

В группе сочетанной предоперационной подготовки результаты проведенного лечения еще более эффективны - отек слизистой оболочки не наблюдался мокрота в просвете бронхиального дерева сохранилась лишь у одного пациента (1,6%), и гиперемия слизистой оболочки наблюдалась в 3,3% случаев.

При проведении предоперационной подготовки с использованием традиционной противовоспалительной терапии ни один из эндоскопических признаков воспаления полностью купировать не удалось, а лишь незначительно уменьшить их количество. После лечения гиперемия слизистой оболочки бронхов наблюдалась в 27,5% случаев, отек слизистой оболочки в 20,6% мокрота в просвете бронхиального дерева отмечена в 24,1% случаев. Различия между основной и контрольной группами статистически достоверны ($p < 0,05$).

При анализе титра и характера патогенной микрофлоры в просвете бронхиального дерева после проведенной предоперационной подготовки было выявлено, что при применении эндоскопи-

ческой бронхосанации в самостоятельном виде в 55 случаях (87%) патогенная микрофлора отсутствовала. При сочетании лазеротерапии с традиционной терапией патогенная микрофлора не выявлялась у 52 больных (88%). В группе традиционной подготовки без использования бронхосанационной терапии отсутствие микрофлоры отмечено лишь в 44,8%. Разница статистически достоверна ($p < 0,05$).

Полученные результаты свидетельствуют о быстром и эффективном купировании всех признаков сопутствующего хронического бронхита у больных первой и второй группы, за счет выраженного противовоспалительного эффекта низкоинтенсивного лазерного излучения, под действием которого улучшается микроциркуляция, повышается энергетический потенциал клетки и нормализуются процессы регенерации в слизистые оболочки.

Применение медикаментозной терапии также способствует стиханию симптомов хронического бронхита, однако для реализации полного эффекта от проводимого лечения требуется более длительный срок и дополнительное назначение физиотерапевтических методов лечения, абсолютно противопоказанных онкологическим больным.

При анализе полученных результатов предоперационной подготовки отмечено что более лучшие показатели зарегистрированы у больных из группы где применялось сочетание эндоскопической лазеротерапии и традиционной лекарственной коррекции. Незначительная разница положительного эффекта от данного метода предоперационной подготовки, по сравнению с группой больных, получивших эндоскопическую бронхосанацию в самостоятельном виде, вероятно связана с непродолжительным использованием традиционных лекарственных средств в течении 10-14 дней.

Быстрый и выраженный санационный эффект эндоскопического лазерного лечения с введением в трахеобронхиальное дерево водного раствора красителя бриллиантового зеленого был подтвержден при расчете индекса тяжести течения хронического бронхита, который является математическим методом оценки эффективности проводимого лечения.

В проведенном исследовании динамика индекса тяжести наглядно свидетельствовала о регрессии практически всех клинических и лабораторных признаков сопутствующего хронического бронхита у больных раком легкого на 10-14 день от начала предоперационной подготовки, при применении эндоскопической лазерной терапии.

Таким образом, за указанный достаточно короткий срок возможно проведение адекватной высокоэффективной предоперационной подготовки трахеобронхиального дерева.

Другим объективным методом оценки эффективности проводимой предоперационной подготовки явилось определение скорости мукоци-лиарного клиренса (МЦК), поскольку при длительном воспалительном процессе, которым является хронический эндобронхит всегда наблюдается значительное снижение дренажной функции бронхов. Используемые лекарственные средства, составляющие комплекс традиционной противовоспалительной терапии, вызывают лишь незначительное повышение мукоцилиарного клиренса до 30%. После проведенной предоперационной подготовки с использованием эндоскопической фотодинамической бронхосанации, показано, что скорость МЦК значительно возросла и равняется 45-50%. Это соответствует нормальному показателю скорости МЦК.

Эндоскопическая бронхосанация по предложенной методике по данным гистологического исследования способствовала не только стиханию ряда морфологических проявлений хронического воспаления, но и приводила к нормализации структуры слизистой оболочки бронхов, с восстановлением ресничек мерцательного эпителия. Это связано с тем, что в основе эффекта низкоинтенсивного фотодинамического излучения лежит стимуляция регенераторных процессов, которые характеризуются структурно-функциональной полноценностью новообразованной ткани, восстановлением ее орган специфичности.

При микроскопическом исследовании гистологических препаратов слизистой оболочки бронхов отмечено что после проведенной предоперационной эндоскопической лазерной терапии с использованием фотодинамической терапии с введением в трахеобронхиальное дерево водного раствора красителя бриллиантового зеленого в концентрации 0,04%, с последующим облучением данного раствора лазерным излучением с длиной волны 0,63 мкм отек слизистой оболочки и лейкоциты в скоплении полностью отсутствовали, тогда как у больных группы сравнения эти признаки сохранились в 40,0% случаев.

Отмечена полная регрессия метаплазии бронхиального эпителия, с восстановлением нормальной структуры слизистой оболочки у больных I и II групп. В группе контроля метаплазия эпителия, характеризующая воспалительный процесс в бронхиальной системе остается в 46,7% случаев. Выраженность остальных признаков воспалительного процесса в бронхиальном дереве достоверно снижается под воздействием бронхосанации по сравнению с группой сравнения ($p < 0,05$).

Наряду с метаплазией слизистой оболочки бронхов, у ряда больных исследуемых групп определялись диспластические изменения бронхиального эпителия различной степени выраженности. Под действием эндоскопической бронхосанационной терапии происходит достоверное снижение общего количества дисплазий эпителия бронхов у больных I и II групп, до 36,1 и 42,4%, соответственно. Следует подчеркнуть, что этот эффект наблюдается за счет полного купирования дисплазий I и II степени и перехода дисплазий III степени в дисплазию более легкой степени тяжести. У больных, получивших традиционную предоперационную подготовку диспластические изменения слизистой оболочки бронхов сохраняются в 75% случаев, причем более чем в половине случаев после лечения наблюдалась исходная степень дисплазий. В группе больных, получивших фотодинамическую бронхосанацию в сочетании с традиционной предоперационной подготовкой эндобронхиальные осложнения, были зафиксированы только в 12,1% случаев. В 3-х случаях развились бронхиальные свищи, в одном – диффузный эндобронхит.

Осложнения у пациентов получивших противовоспалительную терапию без дополнительной бронхиальной санации отмечены в 9 случаях, что составило 31,3%. У 6-ти больных наблюдался бронхиальный свищ, у 3-х эндобронхит II–III степени тяжести. Разница статистически достоверна ($p < 0,05$).

Таким образом, применение эндоскопической фотодинамической бронхосанации в предоперационном периоде у больных с целью коррекции сопутствующего эндобронхита, как в самостоятельном виде, так и в сочетании с традиционной противовоспалительной терапией позволяет достоверно снизить или полностью купировать клинические проявления сопутствующего эндобронхита в кратчайшие сроки и приводит к достоверному уменьшению количества эндобронхиальных осложнений при оперативном и комбинированном лечении новообразований легкого, по сравнению с группой сравнения.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Васильев Н.Е., Огиренко А.П. Антимикробная фотодинамическая терапия // *Лазерная медицина*. – 2002. – Т. 6, № 4. – С. 32-38.
- [2] Войтенко Н.К., Хадра З., Зильбер В.М. К вопросу о влиянии лазерного излучения низкой интенсивности на микрофлору ран // *Вестник хирургии*. – 1984. – № 4. – С. 54-56.
- [3] Занько Н.Г. Физиология человека. Методы исследования функций организма: лабораторный практикум. – СПб.: СПбГЛТА, 2003. – 36 с.
- [4] Зильбер А.П. Этюды респираторной медицины. – М.: МЕД пресс-информ, 2007. – 792 с.
- [5] Назарова Л.С., Волкова Л.И., Тузиков С.А. Дооперационное состояние функции внешнего дыхания и послеоперационные осложнения у больных раком легкого // *Материалы X межрегиональной конференции онкологов*. – Якутск, 2006. – С. 59-62.
- [6] Павлова Е.В., О.П. Собещук. Бронхоскопия при операциях на легких; Чувствительность – устойчивость стафилококков к антисептическим препаратам / О.П. Собещук, А.А. Адарченко, А.П. Красильников // *Здравоохранение (Беларусь)*. – 1996. – М.В.Б. – С. 13.
- [7] Berghmans T., Sculier J.P., Klastersky J. A prospective study of infections in lung cancer patients admitted to the hospital // *Chest*. – 2003. – Vol. 124. – P. 114-120.
- [8] Hamblin Michael, O'Donnell David, Marthy Naveen [et. al.]. Polycationic photosensitizer conjugates: effects of chain length and Gram classification on the photodynamic inactivation of bacteria // *J. of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2002. – Vol. 13, N 49. – P. 941-951.
- [9] Minami H., Yoshimura M., Matsuoka H., Toshihiko S. Lung cancer treated surgically in patients <50 years of age // *Chest*. – 2000. – Vol. 120. – P. 32-36.

REFERENCES

- [1] Vasiliev N.T., Ogirenko A.P. Antimikrobnaya fotodinamicheskaya terapiya // *Lazernaya meditsina*. 2002. Vol. 6, N 4. P. 32-38.
- [2] Voytenok N.K., Khadra Z., Zilber V.M. K voprosu o vliyaniy lazernogo izlucheniya nizkoy intensivnosti na mikrofloru ran // *Vestnik khirurgii*. 1984. N 4. P. 54-56.

- [3] Zanko N.G. Fiziologiya cheloveka. Metody issledovaniya funktsiy organizma: laboratornyy praktikum. SPb.: SPbGLTA, 2003. 36 p.
- [4] Zilber A.P. Etyudy respiratornoy meditsiny. M.: MYeD press-inform, 2007. 792 p.
- [5] Nazarova L.S., Volkova L.I., Tuzikov S.A. Dooperatsionnoe sostoyanie funktsii vneshnego dykhaniya i posleoperatsionnye oslozhneniya u bolnykh rakom legkogo // Materialy X mezhregionalnoy konferentsii onkologov. Yakutsk, 2006. P. 59-62.
- [6] Pavlova E.V., Sobeshchuk O.P. Bronkhoskopiya pri operatsiyakh na legkikh; Chuvstvitelnost – ustoychivost stafilokokkov k antisepticheskim preparatam / O.P. Sobeshchuk, A.A. Adarchenko, A.P. Krasilnikov // Zdravookhranenie (Belarus). 1996. M.V.B. P. 13.
- [7] Berghmans T., Sculier J.P., Klastersky J. A prospective study of infections in lung cancer patients admitted to the hospital // Chest. 2003. Vol. 124. P. 114-120.
- [8] Hamblin Michael, O'Donnell David, Marthy Naveen [et. al.]. Polycationic photosensitizer conjugates: effects of chain length and Gram classification on the photodynamic inactivation of bacteria // J. of Antimicrobial Chemotherapy. 2002. Vol. 13, N 49. P. 941-951.
- [9] Minami H., Yoshimura M., Matsuoka H., Toshihiko S. Lung cancer treated surgically in patients <50 years of age // Chest. 2000. Vol. 120. P. 32-36.

Сведения об авторах:

Бойко Валерий Владимирович – д. мед. н., профессор, заведующий кафедрой хирургии № 1 Харьковского национального медицинского университета, директор ГУ Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева НАМНУ.

Краснояружский Андрей Григорьевич – д. мед. н., профессор, Харьковский национальный медицинский университет, заведующий отделением торакальной хирургии ГУ Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева НАМНУ.

Грома Василий Григорьевич – д. мед. н., профессор, Харьковский национальный медицинский университет, заведующий отделением эндоскопической хирургии ГУ Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева НАМНУ.

Крицак Василий Васильевич, клинический ординатор, ГУ Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева НАМНУ. E-mail: knmu.surgery@gmail.com

Information about authors:

Boyko Valery Vladimirovich – doctor of medical sciences, professor, winner of the state award, honored worker of science and equipment, head of the department of surgery N 1, Kharkiv National Medical University; the director, Institute of General and Emergency Surgery of V. T. Zaytsev, Kharkov, Ukraine.

Krasnojaruzhsky Andrey Grigoryevich – doctor of medical sciences, professor, department of surgery N 1, Kharkiv National Medical University; the manager of office thoracic surgery, Institute of General and Emergency Surgery of V. T. Zaytsev, Kharkov, Ukraine.

Groma Vasily Grigoryevich – doctor of medical sciences, docent, department of surgery N 1, Kharkiv National Medical University; the manager of office of expeditious endoscopy, Institute of General and Emergency Surgery of V. T. Zaytsev, Kharkov, Ukraine.

Kritzak Vasily Vasilievich – postgraduate student, department of V. T. Zaytsev Institute of General and Emergency Surgery, Kharkiv, Ukraine. E-mail: knmu.surgery@gmail.com

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 214 – 220

E. K. Makashev

RGP Institute of human physiology and animals, Almaty, Kazakhstan.
E-mail: physiology75@mail.ru

**ASSESSMENT OF THE FUNCTIONAL CONDITION
OF THE PERSON AND REHABILITATION,
PREVENTIVE ACTIONS FOR INCREASE IN LEVEL OF HEALTH**

Abstract. In this article it is presented a broad set of the noninvasive methodical receptions which are used when monitoring the state of health of the person, recording physiological shifts of vegetative functions with involvement of information systems with express integrative indexes of assessment of the functional state cardiovascular and central nervous systems. Are precise specialized indexes of regulatory systems, both in the central nervous system, and at the level of spinal neurones. In a basis which physiological mechanisms according to the prevention of diseases lie and will become further a correction constituent in improving, rehabilitation, preventive actions of the reduction medicine. In a fundamental period of adaptive process the clinical and functional changes in a human body arising at impact on it of various factors of the external environment are revealed. These methods allowed to reveal the earliest adverse thin mechanisms of the hidden parties of many diseases.

Keywords: prevention, rehabilitation, non-invasive, high blood pressure, balm, correction, exercise stress.

УДК 612.766.1; 612.015.3

Е. К. Макашев

РГП Институт физиологии человека и животных, Алматы, Казахстан

**ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЧЕЛОВЕКА
И РЕАБИЛИТАЦИОННЫЕ, ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ
МЕРОПРИЯТИЯ ПО ПОВЫШЕНИЮ УРОВНЯ ЗДОРОВЬЯ**

Аннотация. В статье представлен широкий набор неинвазивных методических приемов использующихся при мониторинге состояния здоровья человека, регистрирующие физиологические сдвиги вегетативных функций с вовлечением информационных систем со специальными интегративными показателями оценки функционального состояния сердечно-сосудистой и центральной нервной систем. Являются точными специализированными показателями регуляторных систем, как в центральной нервной системе, так и на уровне спинальных нейронов. В основе, которых лежат физиологические механизмы по предупреждению заболеваний и станут в дальнейшем составной частью коррекции в оздоровительных, реабилитационных, профилактических мероприятиях восстановительной медицины. В основной период адаптивного процесса выявлены клинические и функциональные изменения в организме человека, возникающие при воздействии на него различных факторов внешней среды. Эти методы позволили выявить наиболее ранние неблагоприятные тонкие механизмы скрытых сторон многих заболеваний.

Ключевые слова: профилактика, реабилитация, неинвазивный, гипертония, бальзам, коррекция, физическая нагрузка.

Как сейчас важно обезопасить организм от многофакторного влияния внешней среды и при этом сохранить здоровье. Какие функциональные системы организма на разных уровнях жизнедеятельности участвуют в механизмах регулирования физиологических реакций на клеточном,

органом, системном уровнях для поддержания качества здоровья человека. Именно эти вопросы рассматриваются уже на протяжении последних лет в нашем институте. Разрабатываются новые инновационные подходы, методология по оценке здоровья человека, создаются системы предупреждения заболеваний и устранения факторов риска, куда должны входить физиологические, санитарно-технические, гигиенические и социально-экономические мероприятия, которые в дальнейшем станут важнейшей социально-экономической задачей государства в деле охраны и укрепления здоровья людей [1]. В первую очередь как нам кажется, стоит определить и сформировать группы по тем или иным отклонениям в фазе предболезни после оценки здоровья и отработать четкие критерии по стратегии лечебно-профилактических мероприятий. Диагностическая оценка функционального состояния и обменных процессов при адаптации организма позволит создать новые эффективные подходы для профилактики и реабилитации. Оздоровительные, реабилитационные, профилактические мероприятия являются составной частью медицины, в период адаптивного процесса в основе которых лежат физиологические механизмы по предупреждению заболеваний. При этом большое значение играют клинические и физиологические методы исследования, позволяющие выявить наиболее ранние неблагоприятные функциональные изменения в организме человека, возникающие при воздействии на него различных факторов внешней среды [2].

В наших исследованиях применяется широкий набор методических приемов, позволивших многократно использоваться при мониторинге состояния здоровья человека в техногенно-эколого нарушенных регионах по причине загрязненности, регистрируются физиологические сдвиги вегетативных функций с вовлечением информационных систем со специальными интегративными показателями. Важным интегральным показателем оценки функционального состояния сердечно-сосудистой и центральной нервной систем является индекс напряжения регуляторных систем (ИН). Индекс напряжения характеризует активность механизмов симпатической регуляции, состояние центрального контура. В норме ИН колеблется в пределах 10-100 условных единиц. Этот показатель очень чувствителен к усилению тонуса симпатической нервной системы. Даже небольшие изменения физиологического состояния увеличивают ИН в 1,5-2 раза. При патологических изменениях он может вырасти в 5-10 раз. У больных с постоянным напряжением регуляторных систем индекс напряженности в покое может быть равен 400-600 условных единиц. У больных с приступами стенокардии и с инфарктом миокарда ИН в покое достигает 1000-1500 единиц.

Для определения функциональных особенностей сердечно-сосудистой системы вычисляется коэффициент экономичности кровообращения (КЭК), который является исключительно важной переменной величиной сердечно-сосудистой системы, характеризующей транспортные потребности организма на конкретный момент времени, причем повышение энергетических трат, увеличение потребления кислорода вызывает пропорциональное нарастание КЭК. Для этого из максимального значения артериального давления вычитается минимальное значение, а разницу умножали на частоту пульса. По литературным данным в норме коэффициент экономичности кровообращения равен 2600. Вычисляется коэффициент выносливости по формуле Кваса: частоту пульса умножали на 10 и результат делится на величину пульсового давления (разность максимального и минимального артериального давления). Во всех группах данный показатель колеблется в пределах от 16,52 до 19,77 (норма 16). Считается, что возрастание коэффициента выносливости выше 16 является признаком ослабления деятельности сердечно-сосудистой системы, а его снижение указывает на хорошие функциональные возможности данной системы. Определяется Индекс Кердо по соотношению АД диастолического (Д) и пульса (П): $ИК = (1 - Д/П \times 100)$, что позволяет определить доминирующую роль симпатического или парасимпатического тонуса в системе вегетативной регуляции обследуемых. В норме данный показатель близок к нулю; при преобладании симпатического тонуса значения данного индекса увеличиваются, при парасимпатикотонии - уменьшаются, становясь отрицательными. При равновесии состояния вегетативной нервной системы $ИК = 0$. Это связано с тем, что при сдвиге равновесия под влиянием симпатической нервной системы диастолическое АД падает, ЧСС растет, а значение $ИК > 0$. При усиленном функционировании парасимпатической нервной системы $ИК < 0$.

Для выявления уровня психо-эмоционального состояния населения использовались компьютерные программы и тесты на адекватность поведения и психическое состояние обследуемого [3]. Для выявления уровня психо-эмоционального состояния населения использованы тесты на

адекватность поведения и психическое состояние обследуемого по программе «Нейротест», а также тесты Люшера и тест на самочувствие, активность и настроение (САН) [4]. Опросник состоит из 30 пар противоположных характеристик, по которым испытуемого просят оценить свое состояние. Полученные результаты по каждой категории делятся на 10. Средний балл шкалы равен 4. Оценки, превышающие 4 балла, свидетельствуют о благоприятном состоянии испытуемого, ниже 4 – о неблагоприятном состоянии. Нормальные оценки состояния располагаются в диапазоне 5,0–5,5 баллов. Полученная по каждой шкале сумма находится в пределах от 10 до 70 и позволяет выявить функциональное состояние индивида в данный момент времени по принципу.

< 30 баллов – низкая оценка; 30 – 50 баллов – средняя оценка; > 50 баллов – высокая оценка.

Следует упомянуть, что при анализе функционального состояния важны не только значения отдельных его показателей, но и их соотношение. Дело в том, что у отдохнувшего человека оценки активности, настроения и самочувствия обычно примерно равны. А по мере нарастания усталости соотношение между ними изменяется за счет относительного снижения самочувствия и активности по сравнению с настроением.

Метод цветowych выборов (тест Люшера, МЦВ) представляет собой глубинный метод исследования неосознаваемых переживаний, связанных как ситуативно обусловленным состоянием, так и с базовыми индивидуально типологическими особенностями конкретного человека [4]. Методика выявляет порог восприимчивости зрительного анализатора испытуемого: этот порог в значительной степени обусловлен преобладанием трофотропных (стремление к покою) или эрготропных (стремление к активности) тенденций в рамках вегетативного баланса. В то же время выбор цветового ряда зависит как от набора устойчивых (базисных) личностных характеристик, так и от актуального состояния, связанного с конкретной ситуацией. Методика показала себя как прекрасный инструмент психодиагностического исследования при решении вопросов профотбора, профориентации, расстановки кадров и психологической совместимости.

В настоящее время остается до конца неясным, что отражает мощность спектра в диапазоне VLF. Согласно данным нейрофизиологии, в продолговатом мозгу человека расположены вегетативные "центры", влияющие через периферические отделы ВНС на деятельность сердечно-сосудистой системы. Эти вегетативные центры, в свою очередь, находятся под контролем гипоталамуса, который у позвоночных представляет собой главный нервный центр, отвечающий за регуляцию внутренней среды организма и управляющий всеми основными гомеостатическими процессами.

Влияние этих отделов передается к сердечно-сосудистой системе через гипоталамус и средний мозг, а также непосредственно спинному мозгу. Согласно многочисленным исследованиям, показатели мощности спектра в низкочастотном и высокочастотном диапазонах отражают активность симпатических и парасимпатических отделов ВНС (вегетативных центров продолговатого мозга и гипоталамуса). Считается, что мощность спектра в диапазоне VLF может служить показателем преобладающего влияния корково-лимбических отделов головного мозга на регуляцию сердечного ритма [5, 6].

Автокорреляционный портрет представляет собой визуальную оценку состояния человека. Цветовая гамма соответствует различным состояниям здоровья. Преобладание красных и черных оттенков, говорит о нарушении регуляторных функций. В контрольной группе обследуемых в автокорреляционном портрете преобладали сине-зеленые цвета, а больных с артериальной гипертонией – красно-черные.

Мы уже имеем опыт по проведению скрининг-диагностики при нарушении здоровья и интегральной оценки функционального состояния, физической работоспособности, определения индивидуального риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и выборочного углубленного обследования граждан на основе донозологического подхода. Предназначенные мероприятия используется при контроле здоровья лиц опасных профессий, в спорте высших достижений, в санаториях и реабилитационных центрах с применением аппаратно-программного комплекса (АПК) серийно выпускаемых приборов «НС-Психотест», «Поли-Спектр», «Спиро-Спектр». Все более возрастающий интерес для оценки и прогнозирования функционального состояния человека вызывает изучение особенностей регуляции сердечного ритма. Установлена высокая информативность характеристик variability сердечного ритма (ВРС) для оценки напряжения регуляторных

механизмов и функциональных резервов организма человека при различных патологических состояниях [5].

В результате расстройства вегетативной регуляции снижаются функциональное состояние и адаптационные возможности организма к различным воздействиям окружающей среды, в том числе и, к физическим нагрузкам. Это в большей степени усугубляет состояние гиподинамии и как следствие, выраженность вегетативных расстройств [7-9]. В результате формируется замкнутый круг, разорвать который необходимо как можно раньше, используя современные средства и методы коррекции функционального состояния при вегетативных нарушениях. Также появилась необходимость установить взаимосвязи между показателями ВРС и маркерами, переносимыми на поверхности клеток крови у пациентов с артериальной гипертензией при использовании анализа состояния адсорбционно-транспортной функции эритроцитов и удобного для массовых обследований аппарата «Омега Медицина» точнее выявлять начальные отклонения в деятельности сердечно-сосудистой системы.

Очень важным этапом в наших исследованиях и одна из ведущих задач направления института является укрепление здоровья населения. Это внедрение научно обоснованных принципов и методов первичной профилактики и лечения заболеваний, своевременная коррекция патологического процесса. В условиях распространяющейся аллергодизации населения особую актуальность приобретает использование немедикаментозных средств оздоровления. Одним из перспективных физических методов воздействия на организм является использование гипоксических и гипоксически-гиперкапнических тренировок (оптимальных соотношений основных дыхательных газов – кислорода и углекислого газа во вдыхаемом воздухе). Отечественными и зарубежными учеными получен убедительный экспериментальный и клинический материал о возможности применения гипоксическим-гиперкапнических тренировок для профилактики и лечения широкого спектра заболеваний, а также на этапе их реабилитации. Метод может быть использован как самостоятельно, так и в комплексе с другими средствами лечения. В Институте физиологии человека и животных разработаны приборы, моделирующие гипоксически-гиперкапнические условия путем увеличения физиологически неventилируемого объема дыхательного пространства (дополнительного мертвого пространства – ДМП). Получено авторское свидетельство и выпущены методические рекомендации по применению дыхательного тренажера, одобренные Министерством здравоохранения РК. На основании полученных данных тренировка дыхания через ДМП была рекомендована и внедрена в клиническую практику для лечения больных хроническими неспецифическими заболеваниями легких, хроническим обструктивным бронхитом и бронхиальной астмой с различной степенью обструкции и дыхательной недостаточности. За короткий срок у больных повышаются функциональные резервы внешнего дыхания, укрепляется дыхательная мускулатура, уменьшается энергозатратность работы дыхания и улучшаются окислительно-восстановительные процессы в организме. У больных уменьшается выраженность бронхоспазма, субъективное ощущение одышки, улучшается общее самочувствие. Исследованиями сотрудников Института установлено, что у испытуемых, прошедших курс тренировок ДМП, нормализуется артериальное давление крови, улучшается физическая работоспособность и восстановительные процессы возрастает время задержки дыхания, увеличивается сердечный выброс и минутный объем крови. В экспериментах на животных установлено значительное улучшение функции сердечно-сосудистой системы, кровоснабжения миокарда и устойчивости к коронарному спазму, усиление противосвертывающих свойств крови. Имеются обнадеживающие сведения о повышении с помощью гипоксической терапии эффективности лечения и реабилитации наркологических больных, с улучшением переносимости нейрелептиков, антидепрессантов и транквилизаторов. Метод показан широкому кругу практически здоровых людей для повышения устойчивости организма к факторам риска на производствах с повышенной загрязненностью воздушного пространства. Это неполный перечень данных о полезности применения гипоксически-гиперкапнических тренировок в экологически неблагоприятных регионах Казахстана.

Предполагается использование метода дыхания через ДМП для улучшения качества здоровья, снижения утомляемости, повышения физической и умственной работоспособности студентов и школьников, в пульмонологической, наркологической практике, на производствах с повышенной загрязненностью окружающей среды.

Также предоставляются тренировки с гипобарической гипоксией (ГИГ) с интервалами гипероксии модифицированные и разработанные нашими сотрудниками Института.

В настоящее время тренировки гипобарической гипоксией с интервалами гипероксии и с интервалами нормоксии внедрены в практику лечебно-оздоровительных мероприятий СВО ВС РК.

Развитие этого направления имеет большие перспективы ввиду того, что гипоксические тренировки позволяют лечить многие заболевания связанные с дыхательной системой, в том числе и сердечно-сосудистые. Комплексные клиничко-физиологические исследования показали перспективность применения гипоксических тренировок для улучшения состояния здоровья. Выявлены индивидуальные особенности реакции организма на гипоксические тренировки, которые в немалой степени зависят от исходного функционального состояния.

После завершения курса ГИГ отмечается:

- 100% пациентов отмечают улучшение качества сна (сон глубокий, без неприятных сновидений, приносящий чувство отдыха и бодрости);

- 100% пациентов ощутили повышение жизненного тонуса, улучшение настроения, прилив энергии;

- 100% процентов высказали мнение о необходимости регулярного (один раз в год) прохождения курса ГИГ и изъявили желание повторно пройти курс гипокситерапии;

- 27% пациентов, ранее куривших, отмечают снижение тяги к курению, количество выкуриваемых сигарет уменьшилось в 2-3 раза;

Практически у всех существенно снижались проявления хронической усталости, улучшалось настроение, проходила раздражительность, повышалась физическая и умственная работоспособность, нормализовался сон, у мужчин повышалась потенция, нормализовалась деятельность желудочно-кишечного тракта, повышался иммунитет. В течение 0,5-1 года пациенты не болели респираторными заболеваниями и не отмечали обострения хронических болезней, возникало отвращение к курению, снижалась масса тела при неизменном режиме питания и метеозависимость, повышался жизненный тонус.

В последние годы в лабораториях Института (экологической физиологии – зав.лаб. к.б.н. Бахтиярова Ш.К., нейрофизиологии – зав.лаб. к.м.н. М.Р. Хайбуллин, лимфообращения зав.лаб. к.б.н. З.Ш. Смагулова, лимфатической системы – зав.лаб. д.м.н. Г.А. Демченко, лактации – зав.лаб. к.б.н. Б.Н. Оксикбаев, пищеварения – зав.лаб. д.б.н. Карынбаев Р.С., гипоксических состояний – зав.лаб. к.б.н. Е.В. Олейникова, физиологии мембран – зав.лаб. к.б.н. Р.С. Утегалиева), проводятся исследования по влиянию разнообразных факторов окружающей среды на организм человека и животных и обосновывается применение биологически активных веществ с антиоксидантной, адсорбирующей, тонизирующей, гепатопротекторной активностью. Были получены приоритетные данные, касающиеся действия различных токсикантов, таких как ионы тяжелых металлов, пестициды, гербициды и другие на организм экспериментальных животных. Было показано, что биологическое действие токсикантов характеризуется выраженными нарушениями процесса метаболизма и, соответственно, нарушением механизмов адаптации к меняющимся внешним условиям. Обоснованы и разработаны методы выведения солей тяжелых металлов при интоксикации организма с помощью различных пищевых и кормовых добавок.

При проведении фундаментальных исследованиях большое внимание уделяется оценке жизнедеятельности организма человека и разработкам способов коррекции выявленных сдвигов в регионах РК в зависимости от уровня загрязненности внешней среды.

Проведенные исследования показали, что содержание сывороточных иммуноглобулинов классов G, A, M у здоровых представителей различных популяций, проживающих в разных природно-климатических условиях, может различаться. Отмечено снижение Ig A уже в группе 20-30 летних обследованных жителей экологически благоприятных регионов РК, с возрастом активность иммуноглобулинов в крови еще более понижается до пределов нижней границы референсных значений. Как показали исследования – одна из основных проблем Иле-Балхашского региона – йододефицит. В связи с этим для коррекции выявленных сдвигов функций щитовидной железы применили бальзам «Возрождение». Результаты исследований показали положительный эффект применения бальзама «Возрождение» на состояние соматического здоровья у большей части трудоспособного населения Иле-Балхашского региона, повышение иммунитета, восстанов-

ление функций щитовидной железы. Показано, что применение бальзама «Возрождение» может использоваться в качестве профилактического и оздоровительного средства в комплексе мероприятий восстановления безопасного уровня здоровья у большинства населения Казахстана, проживающего в экологически неблагоприятных условиях окружающей среды. Полученные данные отражают стабильность иммуноэкологического фона при незначительных колебаниях средних значений параметров иммунного статуса, что свидетельствует о нормальных иммунофизиологических и адаптационных процессах в экологически неблагоприятном для проживания регионе.

В настоящее время оправданным является использование немедикаментозных средств, среди которых всё возрастающее значение приобретает коррекция методом адекватной температурной стимуляции [10].

Метод адекватной температурной стимуляции чувствительных зон кожи разработан сотрудниками лаборатории нейрофизиологии ИФЧЖ и применен в практике реабилитационного отделения НИИ радиационной медицины и экологии на 800 больных с целью коррекции нарушений функционального состояния организма человека при патологии ССС, заболеваний верхних дыхательных путей и ряда других заболеваний у лиц, подвергавшихся длительному воздействию малых доз ионизирующей радиации. Результаты корригирующей терапии при нарушении вегетативной регуляции с патологией соматической и репродуктивной системы методом адекватной температурной стимуляции чувствительных зон кожи, демонстрируют положительный эффект, что проявляется прекращением жалоб, нормализацией нарушений функционального состояния, повышения работоспособности и показателей variability ритма сердца по сравнению с исходным периодом, а также улучшением настроения пациентов. Применение данного метода позволяет снизить уровень психовегетативных расстройств в условиях стационарного лечения лиц подвергавшихся облучению и их потомков.

Метод адекватной температурной стимуляции чувствительных зон кожи эффективно можно использовать по повышению работоспособности людей работающих в экстремальных производственных условиях и усилению мышечного тонуса, как разгибателей, так и мышц-сгибателей у спортсменов любой квалификации. Механизм действия термостимуляции происходит на уровне центральных механизмов. Что касается влияния нагревания на мотонейроны миотатической единицы, то надо заметить, что этот вопрос освещен в литературе весьма скудно, для нас же он представляет большой интерес. Профессор Тлеулин С.Ж. показал на людях, что нагревание кожи вызывает возбуждающий эффект только с контралатеральной поверхности, все рецептивные поля ипсилатеральной конечности были для мотонейронов разгибателей обеих фракций тормозящими [11]. Он еще раз показал, что тепловое раздражение вовлекает рецепторы кожи по тонким С-волокам в спинной мозг и способствует активации мотонейронов мышц-разгибателей через постсинаптические процессы. Таким образом, изучив модель миотатической единицы, позволяет перейти на практическое применение локальной термостимуляции с включением рефлекторных реакций мотонейронов и преганглионарных нейронов.

В связи с этим разработка принципов при новых подходах реабилитации, профилактики и терапии различных заболеваний людей после экстремальных воздействий и их адаптация станут чрезвычайно важными для восстановительной медицины. Изучая модели экстремальных воздействий и раскрывая особенности процессов метаболизма в необычных, чрезвычайных ситуациях позволит исследовать и раскрыть многие механизмы скрытых сторон многих заболеваний с возникновением сердечно-сосудистых и психических отклонений. Следует отметить, что использование неинвазивных методов создадут оптимальные решения в профилактике и коррекции выявленных изменений гормонально-метаболического статуса с клинико-физиологической картиной в восстановительной медицине.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Макашев Е.К., Капышева У.Н., Карынбаев Р.С. и др. Методы повышения уровня здоровья населения, проживающего в экологически неблагоприятных регионах Казахстана. Методические рекомендации. – Алматы, 2012. – 51 с.
- [2] Вайнер Э.Н. Валеология: учебник для вузов. – М.: Флинта, 2011. – 448 с.
- [3] Райгородский Д.Я. Практическая психодиагностика. Методики и тесты. Учебное пособие. – Самара: Издательский Дом "БАХРАМ-М", 2008. – 672 с. стр.92 - 109.
- [4] Люшер М. Цвет вашего характера. – РИПОЛ: классик. – М., 1997. – 240 с.

- [5] Козупица Г.С., Степанова Д.И., Волкивская Е.Д. Сравнительный и системный анализ вариабельности сердечного ритма больных в оценке состояния вегетативного статуса организма // Системный анализ в медицине: материалы 5 международной научной конференции. – Благовещенск, 2011. – С.163-166.
- [6] Сергеев В.А. Метаболический синдром: причины, лечение и профилактика // Врач. – 2009. – № 2. – С. 36-41.
- [7] Machado F.A., Kravchychyn A.C., Peserico C.S., da Silva D.F., Mezzaroba P.V. Effect of stage duration on maximal heart rate and post-exercise blood lactate concentration during incremental treadmill test // J. Sci. Med. Sport. – 2013. – Vol. 16, N 3. – P. 276-280.
- [8] Vaile J., O'Hagan C., Stefanovic B., Walker M., Gill N., Askew C.D. Effect of cold water immersion on repeated cycling performance and limb blood flow // Br. J. Sports Med. – 2011. – Vol. 45(10). – P. 825-829.
- [9] Ihsan M., Watson G., Lipski M., Abbiss C.R. Influence of postexercise cooling on muscle oxygenation and blood volume changes // Med. Sci. Sports Exerc. – 2013. – Vol. 45(5). – P. 876-882.
- [10] Gagnon D.D., Pretorius T., McDonald G., Kenny G.P., Giesbrecht GG Cardiovascular and ventilatory responses to dorsal, facial, and whole-head water immersion in eupnea // Aviat Space Environ Med. – 2013. – Vol. 84(6). – P. 573-583.
- [11] Тлеулин С.Ж. Спиномозговые механизмы температурной чувствительности кожи. – Алма-Ата: Наука, 1984. – 204 с.

REFERENCES

- [1] Makashev E.K., Kapysheva U.N., Karynbaev R.S. i dr. Metody povysheniya urovnja zdorov'ja naselenija, prozhi-vajushhego v jekologicheski neblagoprijatnyh regionah Kazahstana. Metodicheskie rekomendacii. Almaty, 2012. 51 p.
- [2] Vajner J.E.N. Valeologija: uchebnik dlja vuzov. M.: Flinta, 2011. 448 p.
- [3] Rajgorodskij D.J.A. Prakticheskaja psihodiagnostika. Metodiki i testy. Uchebnoe posobie. Samara: Izdatel'skij Dom "BAHRAM-M", 2008. 672 p. P. 92-109.
- [4] Ljusher M. Cvet vashego haraktera. RIPOL: klassik. M., 1997. 240 p.
- [5] Kozupica G.S., Stepanova D.I., Volkivskaja E.D. Sravnitel'nyj i sistemyj analiz variabel'nosti serdechnogo ritma bol'nyh v ocenke sostojaniya vegetativnogo statusa organizma // Sistemyj analiz v medicine: materialy 5 mezhdunarodnoj nauchnoj konferencii. Blagoveshhensk, 2011. P. 163-166.
- [6] Sergeev V.A. Metabolicheskij sindrom: prichiny, lechenie i profilaktika // Vrach. 2009. N 2. P. 36-41.
- [7] Machado F.A., Kravchychyn A.C., Peserico C.S., da Silva D.F., Mezzaroba P.V. Effect of stage duration on maximal heart rate and post-exercise blood lactate concentration during incremental treadmill test // J. Sci. Med. Sport. 2013. Vol. 16, N 3. P. 276-280.
- [8] Vaile J., O'Hagan C., Stefanovic B., Walker M., Gill N., Askew C.D. Effect of cold water immersion on repeated cycling performance and limb blood flow // Br. J. Sports Med. 2011. Vol. 45(10). P. 825-829.
- [9] Ihsan M., Watson G., Lipski M., Abbiss C.R. Influence of postexercise cooling on muscle oxygenation and blood volume changes // Med. Sci. Sports Exerc. 2013. Vol. 45(5). P. 876-882.
- [10] Gagnon D.D., Pretorius T., McDonald G., Kenny G.P., Giesbrecht GG Cardiovascular and ventilatory responses to dorsal, facial, and whole-head water immersion in eupnea // Aviat Space Environ Med. 2013. Vol. 84(6). P. 573-583.
- [11] Tleulin S.Zh. Spinomozgovye mehanizmy temperaturnoj chuvstvitel'nosti kozhi. Alma-Ata: Nauka, 1984. 204 p.

Е. К. Макашев

Адам және жануарлар физиологиясы институты РМК, Алматы, Қазақстан

АДАМ ОРГАНИЗМІНІҢ ФУНКЦИОНАЛДЫҚ ЖАҒДАЙЫН БАҚЫЛАУ ЖӘНЕ ДЕНСАУЛЫҚ ДЕҢГЕЙІН КӨТЕРУГЕ БАҒЫТТАЛҒАН РЕАБИЛИТАЦИЯЛЫҚ, ПРОФИЛАКТИКАЛЫҚ ШАРАЛАР

Аннотация. Мақалада, адамның денсаулық деңгейін бақылау кезінде қолданылатын, вегетативтік жүйенің физиологиялық ауытқуын тіркейтін, жүрек-қан тамырлары және жүйке жүйесінің функционалдық жағдайын бағалайтын арнайы интегративті көрсеткішке ие ақпараттық жүйесі баринвазиялық емес әдістердің кең жиынтығына сипаттама берілген. Алынған деректер орталық жүйке жүйесі деңгейіндегіреттеуші жүйенің дәл арнайы көрсеткіштері болып табылады. Олардың негізінде болашақта медицинадағы реабилитациялық, профилактикалық сауықтыру шараларының бір бөлшегі болатын, сырқаттың алдын-алып, ескертудің физиологиялық тетіктері бар. Бейімделудің негізгі кезеңінде сыртқы ортаның әртүрлі әсерлерінің нәтижесінде пайда болатын, адам организміндегі клиникалық, функционалдық өзгерістер анықталды. Бұл әдістер көптеген аурулардың ерте басталатын жасырын, жағымсыз тетіктерін анықтауға мүмкіндік берді.

Түйін сөздер: профилактика, реабилитация, инвазиялық емес, гипертония, бальзам, «Возрождение», реттеу, физикалық жүктеме.

МАЗМҰНЫ

Крылова Ю.С., Полякова В.О., Гзззян А.М., Локшин В.Н., Кветной И.М. Сыртқы гениталды эндометриоз, эндометрия имплантациянды сезгіштігінің иммуногистохимиялық диагностикасы.....	5
Хожамуратова А., Бапаева Г., Ахмедьянова Г., Рамазанова Э. Алғашқы триместрдегі дамымайтын жүктілік барысында жүктілікті тоқтатудың әр түрлі әдістерінің тиімділігі.....	13
Сағатов І.Е., Қвашин А.В., Имаммырзаев У.Е., Данияров Н.Б., Нұрлан Д.Т. Өртүрлі атриовентрикулярлық перде ақауының радикалдық түзетудің ерте нәтижелері.....	18
Қаюпова Л.С., Кравцова Н.В., Дзоз Л.С., Курманова А.М. Плацентарлы жеткіліксіздік иммунологиялық критерийлері.....	22
Дауылбай А.Д., Абилдаева Р.А., Рысбаева Г.С., Абубакирова А.А., Оспанова А.А. Токсоплазманың эритроцитті диагностикумын алу және өндірісте бағалау.....	30
Мукиянова Г.С., Акбасова А.Ж., Позо М.Х., Омаров Р.Т. <i>Solanum lycopersicum</i> өсімдігінде резистенттілік жауаптың <i>Tomato bushy stunt virus</i> (TBSV) вирусының Р41 капсидтік ақуызымен белсендірілуі.....	34
Крылова Ю.С., Полякова В.О., Гзззян А.М., Локшин В.Н., Кветной И.М. Сыртқы гениталды эндометриоз, эндометрия имплантациянды сезгіштігінің иммуногистохимиялық диагностикасы.....	44
Хожамуратова А., Бапаева Г., Ахмедьянова Г., Рамазанова Э. Алғашқы триместрдегі дамымайтын жүктілік барысында жүктілікті тоқтатудың әр түрлі әдістерінің тиімділігі.....	53
Сағатов І.Е., Қвашин А.В., Имаммырзаев У.Е., Данияров Н.Б., Нұрлан Д.Т. Өртүрлі атриовентрикулярлық перде ақауының радикалдық түзетудің ерте нәтижелері.....	58
Қаюпова Л.С., Кравцова Н.В., Дзоз Л.С., Курманова А.М. Плацентарлы жеткіліксіздік иммунологиялық критерийлері.....	63
Бисекенова А.Л., Шалекенов Б.У., Рамазанова Б.А., Локшин В.Н., Джусубалиева Т.М., Шалекенов С.Б., Мусаева А.А. Несеп шығаратын жолдардың инфекцияларын қоздырғыш грамтеріс микроорганизмдердің антибиотикке сезімталдығы және β-лактамадарға төзімділігінің молекулалық механизмдерді.....	71
Тайпақова С.М., Акишев Ж.Д., Құлжан М.Ж., Ахметова Ж.Н., Сапарбаев М.К., Бисенбаев А.К. ДНК-гикозилазаларға тәуелсіз нуклеотидтердің инсизиялық репарациясындағы <i>A. Thaliana</i> -ның ARP агуринді/апириמידинді эндонуклеазасының ролі.....	81
Әбдірешиев С.Н., Балхыбекова А.О. Панкреатит кезіндегі лимфа түйіндерінің жиырылу белсенділігі.....	91
Бойко В.В., Сизый М.Ю., Макаров В.В., Шевченко А.Н., Лыхман В.Н., Олефир А.С. Мойын жаракатымен зардап шеккендерге арналған диагностикалық әдістер және хирургиялық тәсілдерге талдау жасау.....	97
Есжан Б.Ф., Орынбаева З.С., Төлеуханов С.Т. Сүт безінің қатерлі ісігімен фиброзды-кистозды мастопатияның салыстырмалы ерекшеліктері.....	103
Олейникова Е.А., Кузнецова Т.В., Саубенова М.Г., Айтжанова А.А., Шорманова М.М. Этанол өндіруші ашытқыларды жоғары осмотық қысымды коректік ортаға бейімдеу.....	112
Сапко О.А., Чебоненко О.В., Тұрсынова А.К., Абайлдаев А.О., Бескемпірова Ж.Д., Тілеген Б., Дё Ю.М., Отарбаева А.Ш. Картобы хитиназасының изоферменттік құрамы мен кейбір қасиеттері.....	118
Смирнова И.Э., Нурмуханбетова А.М., Султанова А.Ж. Агрономиялық бағалы микроорганизмдер қауымдастығының жайылымдық фитосеноз өсімдіктеріне әсері.....	127
Мырқасымова А.С. Алматы қаласы саябағындағы алтындай жылтыр тақтамұртшалы қоңыз <i>Cetonia aurata</i> (Linnaeus, 1758) және жасыл тақтамұртшалы қоңыздың <i>Potosia aeruginosa</i> (Drury, 1770) зиянкестігі.....	136
Иманбаева А.А., Ишмуратова М.Ю., Копбаева Г. Жалпы сырт сілемдері флористикалық ауданның мәдени өсімдіктерінің жабайы туыстарының құрамын зерттеу туралы.....	144
Аблайсанова Г.М., Барақбаев Т.Т., Жаркенов Д.Қ., Абилов Б.И. Қапшағай суқоймасы мен Іле өзенінің (жоғарғы ағысы) қазіргі кездегі гидроэкологиялық жағдайын бағалау.....	153
Қырбасова Э.А., Дюскалиева Г.У., Курманбаева М.С., Ньюсам Абигейл С. Іле Алатауы жағдайындағы <i>Aegorodium alpestre</i> L. дәрілік өсімдігінің әртүрлі популяциясындағы морфологиялық және анатомиялық құрылымының салыстырмалы биометриялық көрсеткіштері.....	159
Сайдуллаева Л.Н., Юсупбаев Ж.Ш., Кудасова Д.Е., Оспанова А.А., Абилдаева Р.А. Қосалқы ет өнімдеріне морфологиялық және химиялық құрамына сипаттама.....	167
Хакімжанов А.А., Тілеген Б., Мамытова Н.С., Шаншарова Д.А., Кузовлев В.А. Циклодекстринді бидай дөңдеріндегі крахмал гидролизінің α-амилазамен ингибируленуі.....	174
Махан А.Ж., Анарбекова А.І., Абилдаева Р.А., Дауылбай А.Д., Рысбаева Г.С. Цианобактерия <i>Spirulina</i> -ның биологиялық сипаттамасы мен биотехнологиядағы ролы.....	180
Тукбасов М.К., Қыдырбаева А.Е., Турметова Г.Ж. Қаракөл қойы қозыларының түк фолликулдарының морфометриясы.....	186
Сайдуллаева Л.Н., Юсупбаев Ж.Ш., Кудасова Д.Е., Оспанова А.А., Абубакирова А.А. Жас мал ет өнімдерінің биохимиялық құрамы мен экономикалық тиімділігі.....	191
Заядан Б.К., Акмуханова Н.Р., Садвақасова А.К., Болатхан К., Бауенова М.О., Қирбаева Д.К. <i>Letta tinor</i> вегетативті өсуіне ауыр металлдардың әсері.....	198
Ібраимова Ж.К., Айтқұлова Р.Э., Кудасова Д.Е., Оспанова А.А., Баймирзаева Ж.Н. Спырлардың сүт өнімділігіне жиынтық түріндегі сүрлемнің әсерін зерттеу.....	203
Бойко В.В., Краснояружский А.Г., Грома В.Г., Крицак В.В. Предоперационная эндобронхиальная санация как подготовка к торакальным вмешательствам.....	208
Макашев Е.К. Адам организмінің функционалдық жағдайын бақылау және денсаулық деңгейін көтеруге бағытталған реабилитациялық, профилактикалық шаралар.....	214

СОДЕРЖАНИЕ

Крылова Ю.С., Полякова В.О., Гзззян А.М., Локишин В.Н., Кветной И.М. Наружный генитальный эндометриоз, иммуногистохимическая диагностика имплантационной восприимчивости эндометрия.....	5
Хожамуратова А., Бапаева Г., Ахмедьянова Г., Рамазанова Э. Эффективность различных методов прерывания беременности при неразвивающейся беременности первого триместра.....	13
Сагатов И.Е., Квашинин А.В., Имаммырзаев У.Е., Данияров Н.Б., Нурлан Д.Т. Ранние результаты радикальной коррекции различных форм атриовентрикулярного септального дефекта.....	18
Каюпова Л.С., Кравцова Н.В., Дзоз Л.С., Курманова А.М. Иммунологические критерии плацентарной недостаточности.....	22
Дауылбай А.Д., Абилдаева Р.А., Рысбаева Г.С., Абубакирова А.А., Оспанова А.А. Производство и оценка токсоплазм эритроцитах диагностикумы.....	30
Мукиянова Г.С., Акбасова А.Ж., Позо М.Х., Омаров Р.Т. Капсидный белок Р41 вируса <i>Tomato bushy stunt virus</i> (ТBSV) активирует резистентность у растений вида <i>Solanum lycopersicum</i>	34
Крылова Ю.С., Полякова В.О., Гзззян А.М., Локишин В.Н., Кветной И.М. Наружный генитальный эндометриоз, иммуногистохимическая диагностика имплантационной восприимчивости эндометрия.....	44
Хожамуратова А., Бапаева Г., Ахмедьянова Г., Рамазанова Э. Эффективность различных методов прерывания беременности при неразвивающейся беременности первого триместра.....	53
Каюпова Л.С., Кравцова Н.В., Дзоз Л.С., Курманова А.М. Иммунологические критерии плацентарной недостаточности.....	63
Бисекенова А.Л., Шалекенов Б.У., Рамазанова Б.А., Локишин В.Н., Джусубалиева Т.М., Шалекенов С.Б., Мусаева А.А. Антибиотикочувствительность и молекулярные механизмы резистентности к β-лактамам грамотрицательных микроорганизмов – возбудителей инфекций мочевыводящих путей.....	71
Тайпакова С.М., Акишев Ж.Д., Кулжан М.Ж., Ахметова Ж.Н., Сапарбаев М.К., Бисенбаев А.К. Роль апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазы <i>ARP A.Thaliana</i> в независимой ОТ ДНК-гликозилаз инцизионной репарации нуклеотидов.....	81
Абдешиев С.Н., Балхыбекова А.О. Сократительная активность лимфатических узлов при панкреатите.....	91
Бойко В.В., Сизый М.Ю., Макаров В.В., Шевченко А.Н., Лыхман В.Н., Олефир А.С. Анализ методов диагностики и хирургической тактики при лечении пострадавших с ранениями шеи.....	97
Есжан Б.Г., Орынбаева З.С., Тулеуханов С.Т. Сравнительные особенности фиброзно-кистозной болезни и рака молочной железы.....	103
Олейникова Е.А., Кузнецова Т.В., Саубенова М.Г., Айтжанова А.А., Шорманова М.М. Адаптация этанол продуцирующих дрожжей к повышенному осмотическому давлению среды.....	112
Сапко О.А., Чебоженко О.В., Турсунова А.К., Абайлдаев А.О., Бескемпирова Ж.Д., Тилеген Б., Де Ю.М., Утарбаева А.Ш. Изоферментный состав и некоторые свойства хитиназы картофеля.....	118
Смирнова И.Э., Нурмуханбетова А.М., Султанова А.Ж. Влияние ассоциаций агрономически ценных микроорганизмов на растения пастбищных фитоценозов.....	127
Мыркасимова А.С. Вредоносность бронзовки золотистой (<i>Cetonia aurata</i> (Linnaeus, 1758)) и бронзовки зеленой (<i>Potosia aeruginosa</i> (Drury, 1770)) в парках города Алматы.....	136
Иманбаева А.А., Ишимуратова М.Ю., Копбаева Г.Б. К изучению видового состава диких сородичей Культурных растений флористического района – Отроги общего сырта.....	144
Аблайсанова Г.М., Баракбаев Т.Т., Жаркенов Д.К., Абилов Б.И. Оценка современного гидроэкологического состояния водохранилища Капшагай и р. Иле (верхняя часть).....	153
Кырбасова Э.А., Дюскалиева Г.У., Курманбаева М.С., Ньюсам Абигейл С. Сравнительные биометрические показатели морфологической и анатомической структуры разной популяции лекарственного растения <i>Aegorodium alpestre</i> L. в условиях Заилийского Алатау.....	159
Сайдуллаева Л.Н., Юсупбаев Ж.Ш., Кудасова Д.Е., Оспанова А.А., Абилдаева Р.А. Описание химического и морфологического состава дополнительных мясопродуктов.....	167
Хакимжанов А.А., Тилеген Б., Мамытова Н.С., Шанишарова Д.А., Кузовлев В.А. Ингибирование гидролиза крахмала α-амилазой из зерна пшеницы циклодекстринами.....	174
Махан А.Ж., Анарбекова А.И., Абилдаева Р.А., Дауылбай А.Д., Рысбаева Г.С. Цианобактерии <i>Spirulina</i> биологическое описание и роль в биотехнологии.....	180
Туекбасов М.К., Кыдырбаева А.Е., Турметова Г.Ж. Морфометрия волосяных фолликул ягнят каракулевой породы.....	186
Сайдуллаева Л.Н., Юсупбаев Ж.Ш., Кудасова Д.Е., Оспанова А.А., Абубакирова А.А. Экономическая эффективность и биохимический состав мясных продуктов молодняка крупного рогатого скота.....	191
Заядан Б.К., Акмуханова Н.Р., Садвакасова А.К., Болатхан К., Бауенова М.О., Кирбаева Д.К. Влияние тяжелых металлов на вегетативное размножение <i>Letna minor</i>	198
Ибраимова Ж.К., Айткулова Р.Э., Кудасова Д.Е., Оспанова А.А., Баймирзаева Ж.Н. Исследование влияние комбинированного силоса на молочную продуктивность коров.....	203
Бойко В.В., Краснояружский А.Г., Грома В.Г., Крицак В.В. Предоперационная эндобронхиальная санация как подготовка к торакальным вмешательствам.....	208
Макашев Е.К. Оценка функционального состояния человека и реабилитационные, профилактические мероприятия по повышению уровня здоровья.....	214

CONTENTS

<i>Krylova Yu.S., Polyakova V.O., Gzgzyan A.M., Lokshin V.N., Kvetnoy I.M.</i> Endometriosis genitalis externa, immunohistochemical diagnosis of endometrium implantation receptivity.....	5
<i>Khozhamuratova A., Bapayeva G., Akhmedianova G., Ramazanova E.</i> Effectiveness of different methods of termination in missed abortion of the first trimester.....	13
<i>Sagatov I.Ye., Kvashnin A.V., Imammyrzaev U.Ye., Danyarov N.B., Nurlan D.T.</i> The direct results of the radical correction of various forms of the atrioventricular septal defect.....	18
<i>Kayupova L.S., Kravtsova N.V., Dzož L.S., Kurmanova A.M.</i> Immunological criteria of placental insufficiency.....	22
<i>Dauilbai A.D., Abildaeva R.A., Rysbayeva G.S., Abubakirova A.A., Ospanova A.A.</i> Production and evaluation of toxoplasma erythrocytes diagnosticums.....	30
<i>Mukiyanova G.S., Akbassova A.Zh., Maria J. Pozo, Omarov R.T.</i> TBSV encoded capsid protein P41 triggers resistance in <i>Solanum lycopersicum</i>	34
<i>Krylova Yu.S., Polyakova V.O., Gzgzyan A.M., Lokshin V.N., Kvetnoy I.M.</i> Endometriosis genitalis externa, immunohistochemical diagnosis of endometrium implantation receptivity.....	44
<i>Khozhamuratova A., Bapayeva G., Akhmedianova G., Ramazanova E.</i> Effectiveness of different methods of termination in missed abortion of the first trimester.....	53
<i>Sagatov I.Ye., Kvashnin A.V., Imammyrzaev U.Ye., Danyarov N.B., Nurlan D.T.</i> The direct results of the radical correction of various forms of the atrioventricular septal defect.....	58
<i>Kayupova L.S., Kravtsova N.V., Dzož L.S., Kurmanova A.M.</i> Immunological criteria of placental insufficiency.....	63
<i>Bisekenova A.L., Shalekenov B.U., Ramazanova B.A., V. Lokshin V.N., Dzhusubalieva T.M., Shalekenov S.B., Musayev A.A.</i> Antibiotic susceptibility and molecular mechanisms of resistance to β -lactams of gram-negative microorganisms – causative agents of urinary tract infections.....	71
<i>Taipakova S.M., Akishev Zh.D., Kulzhan M.Zh., Akhmetova Zh.N., Saparbayev M.K., Bissenbaev A.K.</i> Role of <i>A. Thaliana</i> apurinic/apyrimidinic endonuclease ARP in DNA glycosylase-independent nucleotide incision repair.....	81
<i>Abdreshov S.N., Balchybekova A.O.</i> Contractive activity of lymph nodes at pancreatitis.....	91
<i>Boyko V.V., Sizyi M.U., Makarov V.V., Shevchenko A.N., Lyhman V.N., Olefir O.S.</i> Monitoring cytokine status in patients with neck injuries.....	97
<i>Yeszhan B.G., Orynbayeva Z.S., Tuleukhanov S.T.</i> Comparative features between fibrocystic disease and breast cancer....	103
<i>Oleinikova E.A., Kuznetsova T.V., Saubenova M.G., Aytzhanova A.A., Shormanova M.M.</i> Adaptation of ethanol producing yeast to increased osmotic pressure of the medium.....	112
<i>Sapko O.A., Chebonenko O.V., Tursunova A.K., Abildayev A.O., Beskempirova Zh.D., Tilegen B., Dyo Y.M., Utarbayeva A.Sh.</i> An isoenzyme composition and some properties of potato chitinase.....	118
<i>Smirnova I.E., Nurmuhanbetova A.M., Sultanova A.Zh.</i> The effect of associations of agronomical valuable microorganisms to the plants of pasture phytocenosis.....	127
<i>Myrkasimova A.C.</i> Harmfulness of chafer rose <i>Cetonia aurata</i> (Linnaeus, 1758) and green chafer <i>Potosia aeruginosa</i> (Drury, 1770) in Almaty city parks.....	136
<i>Imanbaeva A.A., Ishmuratova M.Y., Kopbaeva G.B.</i> To studying of specific structure of wild relatives of cultural plants of the floristic area – Spurs of Obshchy Syrt Plateau.....	144
<i>Ablaisanova G.M., Barakhbayev T.T., Zharkenov D.K., Abilov B.I.</i> Assessment of current hydroecological state of Kapshagai reservoir and the Ile river (upstream).....	153
<i>Kyrbasova E.A., Dyuskalieva G.U., Kurmanbaeva M.S., Newsome Abigail S.</i> Comparative biometric indicators of morphological and anatomical structure of different populations of medicinal plant <i>Aegopodium alpestre</i> L. in the conditions of trans-Ili Alatau.....	159
<i>Saidullayeva L.N., Yusupbayev Zh.Sh., Kudasova D.E., Ospanova A.A., Abildayeva R.A.</i> Description of chemical and morphological composition of secondary meat products.....	167
<i>Khakimzhanov A.A., Tilegen B., Mamytova N.S., Shansharova D.A., Kuzovlev V.A.</i> Inhibition of starch hydrolysis by α -amylase from wheat grains with cyclodextrins.....	174
<i>Makhan A.Zh., Anarbekova A.I., Abildaeva R.A., Dauilbai A.D., Rysbayeva G.S.</i> Cyanobacteria <i>Spirulina</i> biological characteristics and the role in biotechnology.....	180
<i>Tuyekbasov M.K., Kydyrbayeva A.E., Turmetova G.Zh.</i> The hair follicles morphometry of Cararul breed lambs.....	186
<i>Saidullayeva L.N., Yusupbayev Zh.Sh., Kudasova D.E., Ospanova A.A., Abubakirova A.A.</i> Economic efficiency and biochemical composition of meat products of young cattle.....	191
<i>Zayadan B.K., Akmukhanova N. R., Sadvakasova A.K., Bolatkhan K., Bauenova M. O., Kirbaeva D.</i> Influence of heavy metals on vegetative reproduction <i>Lemna minor</i>	198
<i>Ibraimova Zh.K., Aitkulova R.E., Kudasova D.E., Ospanova A.A., Baimirzayeva Zh.N.</i> Studying the influence of combined silos on cow's milk production.....	203
<i>Boyko V.V., Krasnojaryuzhsky A.G., Groma V.G., Kritzak V.V.</i> Preoperative endobronchial sanitation as preparation for thoracic interventions.....	208
<i>Makashev E.K.</i> Assessment of the functional condition of the person and rehabilitation, preventive actions for increase in level of health.....	214

Publication Ethics and Publication Malpractice in the journals of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Submission of an article to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan implies that the described work has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. In particular, translations into English of papers already published in another language are not accepted.

No other forms of scientific misconduct are allowed, such as plagiarism, falsification, fraudulent data, incorrect interpretation of other works, incorrect citations, etc. The National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan follows the Code of Conduct of the Committee on Publication Ethics (COPE), and follows the COPE Flowcharts for Resolving Cases of Suspected Misconduct (http://publicationethics.org/files/u2/New_Code.pdf). To verify originality, your article may be checked by the Cross Check originality detection service <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

The authors are obliged to participate in peer review process and be ready to provide corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. All authors of a paper should have significantly contributed to the research.

The reviewers should provide objective judgments and should point out relevant published works which are not yet cited. Reviewed articles should be treated confidentially. The reviewers will be chosen in such a way that there is no conflict of interests with respect to the research, the authors and/or the research funders.

The editors have complete responsibility and authority to reject or accept a paper, and they will only accept a paper when reasonably certain. They will preserve anonymity of reviewers and promote publication of corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. The acceptance of a paper automatically implies the copyright transfer to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan.

The Editorial Board of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan will monitor and safeguard publishing ethics.

Правила оформления статьи для публикации в журнале смотреть на сайте:

www.nauka-nanrk.kz

ISSN 2518-1629 (Online), ISSN 2224-5308 (Print)

<http://www.biological-medical.kz/index.php/ru/>

Редактор *М. С. Ахметова, Д. С. Аленов, Т. М. Апендиев*
Верстка на компьютере *Д. Н. Калкабековой*

Подписано в печать 20.03.2017.
Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.
14,0 п.л. Тираж 300. Заказ 1.