

әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті

ӘОЖ: 57.042(043)

Қолжазба құқығында

ЕСТЕМИРОВА ГҮЛФИРА ӘБДІҚАЙЫМҚЫЗЫ

**Биоактивті табиғи заттардың жаңа цитотоксикалық және
дифференциялаушы қосындыларының антилейкемиялық белсенділігі**

8D05101 – Биология

Философия докторы (PhD)
дәрежесін алу үшін дайындалған диссертация

Отандық ғылыми кеңесші:
б.ғ.к., әл-Фараби атындағы
Қазақ ұлттық университетінің профессоры
Есимсиитова Зура Беркутовна

Шетелдік ғылыми кеңесші:
PhD, Негевтегі Бен-Гурион атындағы
университетінің профессоры
Михаил Петрович Даниленко
Беэр-Шева, Израиль

Қазақстан Республикасы
Алматы, 2025

МАЗМҰНЫ

НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР	4
АНЫҚТАМАЛАР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР	5
КІРІСПЕ	6
1 ӘДЕБИ ШОЛУ	11
1.1 Бензин буының адам және жануарлар организміне әсері	11
1.2 Лейкоз түрлері және олардың классификациясы	15
1.3 D дәруменінің белсенді метаболиттері мен туындыларының терапевтік потенциалы және олардың ісікке қарсы әсері	19
1.4 Табиғи полифенолдардың емдік қасиеттері және олардың ісікке қарсы әсері.	23
1.5 D дәруменінің белсенді метаболиттері мен өсімдік тектес полифенолдардың комбинациясының антилейкемиялық әсері	26
2 ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ	29
2.1 Лейкоздық клетка өсіндісі және оларды <i>in vitro</i> зерттеу әдісі	29
2.1.1 Химиялық реагенттер	29
2.1.2 Ағындық цитометрия әдісі арқылы HL60 клеткаларының дифференция маркерін анықтау	29
2.1.3 Трипан көгімен бояу негізінде тірі және өлі HL60 клеткаларын санау және олардың өміршендігін анықтау	31
2.2 <i>Curcuma longa</i> L. тамыры ұнтағын фитохимиялық зерттеу әдісі	32
2.2.1 <i>Curcuma longa</i> L. тамыры ұнтағының фитокомпоненттерін сандық анықтау	32
2.2.2 Куркуминоидтарды экстракциялау және ЖӨСХ –талдау	35
2.3 Эксперименттік егеуқұйрықтар және оларды морфологиялық зерттеу әдісі	37
2.3.1 Қоректік қоспалар және бензин буымен ингаляциялау	39
2.3.2 Дене салмағының динамикасын бақылау	40
2.3.3 Макроскопиялық зерттеу әдісі	40
2.3.4 Гистологиялық зерттеу әдісі	41
2.4 Қанның биохимиясын зерттеу әдісі	43
2.5 Гематологиялық зерттеу әдісі	44
2.5 Деректерді статистикалық өңдеу	44
3 НӘТИЖЕЛЕР ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ	45
3.1 Лейкоз клеткаларына 1,25D ₃ , куркуминнің және олардың комбинациясының дифференциялаушы және антипролиферациялаушы әсерін анықтау	45
3.1.1 1,25D ₃ -тің HL60 клеткаларын дифференциялаушы әсері	45
3.1.2 Куркуминнің HL60 клеткаларына антипролиферативті белсенділігі	47
3.1.3 1,25D ₃ және куркумин комбинациясының дифференциялаушы және антипролиферативті әсерлері	49
3.2 <i>Curcuma Longa</i> L. тамыр ұнтағының фитохимиялық құрамын	51

	зерттеу	
3.2.1	<i>Curcuma longa</i> L. тамыры ұнтағындағы фитокомпоненттерін анықтау	51
3.3.2	<i>Curcuma longa</i> L. тамыры ұнтағындағы куркуминоидтардың мөлшері	53
3.3	Бензин буымен улану аясында егеуқұйрықтардың дене салмағының динамикасындағы, өкпесіндегі, бауырындағы, бүйрегіндегі, көкбауырдағы макроскопиялық және микроскопиялық өзгерістерге D ₃ дәруменінің, <i>Curcuma longa</i> L. тамыр ұнтағының және олардың комбинациясының әсерін 30, 60 және 90 күн бойы зерттеу	55
3.3.1	Егеуқұйрықтардың дене салмағының динамикасы	55
3.3.2	Егеуқұйрықтардың органдарының макроскопиялық өзгерістері	60
3.3.3	Егеуқұйрықтардың органдарының гистологиялық өзгерістері	68
3.4	Бензин буымен улану аясында егеуқұйрықтардың қан биохимиясындағы өзгерістеріне D ₃ дәруменінің, <i>Curcuma longa</i> L. тамыр ұнтағының және олардың комбинациясының әсерін 30, 60 және 90 күн бойы зерттеу	79
3.5	Бензин буымен улану аясында егеуқұйрықтардың гематологиялық өзгерістеріне D ₃ дәруменінің, <i>Curcuma longa</i> L. тамыр ұнтағының және олардың комбинациясының әсерін 30, 60 және 90 күн бойы зерттеу	90
	ҚОРЫТЫНДЫ	103
	ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ	105
	ҚОСЫМША А – Жергілікті этикалық комиссиясының отырысының хаттама көшірмесі	125

НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР

Бұл диссертациялық жұмыста төмендегі нормативтік сілтемелер пайдаланылды:

Қазақстан Республикасының «Ғылым туралы» заңы 2011 жылғы 18 ақпандағы №407-IVЗРК.

ҚР МЖМБС 5.04.034-2011. Қазақстан Республикасының мемлекеттік жалпыға міндетті білім беру стандарты. Жоғары оқу орнынан кейінгі білім беру. Докторантура. Негізгі ережелер (2012 жылғы 23 тамыздағы №1080 өзгерістермен).

МЕМСТ 7.1-2003. Библиографиялық жазба. Библиографиялық сипаттама. Жалпы талаптар мен құрастыру ережелері.

МЕМСТ 7.32.-2001. Библиотекалық (кітапханалық) және баспа ісі ақпараттары бойынша стандарттар жүйесі. Ғылыми-зерттеу жұмыстарына есеп беру. Рәсімдеудің құрылымы мен ережелері.

МЕМСТ 4517-87. Реактивтер. Талдау кезінде пайдаланылатын қосымша реактивтер мен ерітінділерді дайындау. Типтері, негізгі параметрлері және өлшемдері.

МЕМСТ 25336-82. Зертханалық шыны ыдыстар мен құралдар.

МЕМСТ9284-75. Микрокескіндер жасауға арналған заттық шынылар. Техникалық шарты.

МЕМСТ 6672-75. Микрокескіндер жасауға арналған жабын шынылар. Техникалық шарты.

МЕМСТ24104-2001. Зертханалық таразы. Жалпы техникалық шарттар.

МЕМСТ 6962-67. Этил спирті. Техникалық шарты.

Туре: 655850. «Техном МЗП-01» («Техном», Екатеринбург, Ресей) жартылай автоматты жоғары сапалы микротом.

№ФС 2005\314. «MicroOptix МХ 300 Т» жарық микроскобы (Micro Optix, Винер Нойдорф, Австрия).

АНЫҚТАМАЛАР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР

D ₃	–	Холекальциферол
1,25D ₃	–	1,25-дигидроксивитамин D ₃
VDR	–	D дәруменінің рецепторы
VDBP	–	D дәруменін байланыстыратын белок
ЖМЛ	–	Жедел миелоидты лейкоз
ЖЛЛ	–	Жедел лимфоидты лейкоз
СМЛ	–	Созылмалы миелоидты лейкоз
СЛЛ	–	Созылмалы лимфоидты лейкоз
КУР	–	Куркумин
ББ	–	Бензин буы
CUR	–	<i>Curcuma longa</i> L. тамыры ұнтағы
СОД	–	Супероксиддисмутаза
ДДСҰ	–	Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымы
ЖӨСХ	–	Жоғары өнімділікті сұйық хроматография
АЛТ	–	Аланинаминотрансфераза
АСТ	–	Аспартатаминотрансфераза
НЕРЕС	–	2-(4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинил)-этансульфон қышқылы
RPMI	–	«Roswell Park Memorial Institute» қоректік ортасы
FBS	–	Fetal bovine serum, ірі қара ұрығының сарысуы
PBS	–	Phosphate buffered saline
ОАФ	–	Оттегінің активті формалары
ДМСО	–	Диметил сульфоксиді
ДМС	–	Деметоксикуркумин
БДМС	–	Бисдеметоксикуркумин

КІРІСПЕ

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Зерттеу жұмысы биоактивті табиғи заттардың жаңа цитотоксикалық және дифференциялаушы қосындыларының антилейкемиялық белсенділігін *in vitro* және олардың бензин буының токсикалық әсерінен қорғау потенциалын *in vivo* жағдайында зерттеу.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. Халық санының жылдам өсуі, автомобиль көліктері мен жанармай құю станцияларының көбеюі және өнеркәсіптік зауыттардың санының артуы – ауа ластануын туындатып отыр. Ауаның бензин буымен (ББ) ластануы – жер шарына төнген экологиялық қауіп қана емес, сонымен қатар адам денсаулығына да зиян келтіретін өзекті мәселелердің біріне айналды. Бензиннің құрамында алкандар (60–70%), ароматтық қосылыстар (25–30%) және алкендер (6–9%) сияқты улы заттарға жататын 150-ден астам көмірсутектері бар белгілі канцероген. Ілгерідегі зерттеулер көрсеткендей, ББ-на тұрақты ұшырайтын мұнай өңдеу зауыттары мен жанармай құю станциясы қызметкерлерінің арасында өкпенің, бүйректің, қуықтың [1-3] және гематологиялық ісіктердің, соның ішінде лейкемияның даму қаупі жоғары екені анықталған [4]. Лейкемия немесе лейкоз — бұл қан түзуші органдар жүйесінің қатерлі ісігі болып табылады. Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымының соңғы мәліметі бойынша, лейкоз 2022 жылы бүкіл әлемдегі онкологиялық аурулардың 2,4%-ын құрап, 13-орын алса, ал Қазақстанда бұл көрсеткіш 1,8%-ды көрсетіп, елімізде кездесетін ісік аурулары арасында 15-орынға ие [5]. Сондықтан ББ-ның токсинді әсерінен қорғану және олардың салдарын жеңілдету шараларын әзірлеу маңызды және өзекті мәселе болып табылады. Алайда, бүгінгі таңда бұл мәселеге аз көңіл бөлінуде. Онкологиялық аурулардың алдын алу әдістерінің бірі — организмнің төзімділігі мен компенсаторлы-бейімделу реакцияларын арттыратын табиғи қосылыстарды іздеу болып табылады.

Қазіргі таңда, бірнеше зерттеулерде лейкоздық клетка модельдеріне кейбір табиғи агенттердің қорғаныштық әсері *in vitro* деңгейінде көрсетілген. Мысалы, D дәруменінің белсенді метаболиттерін қолдану лейкоздық клетка линияларында дифференцияны күшейтетін қасиетке ие екені анықталған [6]. Бүгінгі күні, D дәрумені организмдегі көптеген физиологиялық процестерге әсер ететін маңызды биоактивті қосылыс екені белгілі. Сонымен қатар, ұқсас *in vitro* зерттеулерде *Curcuma longa* L. тамырында болатын полифенол – куркуминнің лейкоздық клеткалардың пролиферациясын айтарлықтай тежейтіні көрсетілген [7]. Куркуминнің емдік әсері көптеген жұмыстарда зерттелген және бүгінгі күнге дейін оның фармакологиялық белсенділігінің кең ауқымы ұсынылған. Алайда, жоғарыда аталған агенттердің антилейкемиялық қасиеттеріне қарамастан, олардың жеке немесе комбинациясы жануарлар модельдерінде ББ-ның зиянды әсерінен қорғау немесе оның салдарын жұмсарту әсері *in vivo* жағдайда бүгінгі күнге дейін зерттелмеген. Осылайша, қатерлі ісік ауруларының алдын алу үшін D₃ дәрумені мен *Curcuma longa* L. тамыры қамтамасыз ететін терапевтік шаралар қарастырылуы керек және осы

екі агенттің комбинацияланған терапиясы бойынша болашақ зерттеулер қатерлі ісіктердің профилактикасын жасау үшін маңызды болып табылады.

Бұл зерттеу жұмысы D₃ дәрумені мен куркуминнің *in vitro* жағдайдағы антилейкемиялық белсенділігін негізге ала отырып, D₃ дәрумені мен *Curcuma Longa* L. тамыр ұнтағының ББ-ның уыттылығына қарсы профилактикалық әсерін және оның теріс салдарын жеңілдетуді *in vivo* тәжірибеде зерттеуге бағытталған. ББ-ның уытты әсерін болдырмау түрлі аурулардың, соның ішінде лейкозбен сырқаттанушылықтың үлесінің азаюына көмектесуі мүмкін. Зерттеу тақырыбы өте өзекті, себебі ол маңызды ғылыми, экологиялық және әлеуметтік мәселені шешуге бағытталған және жаңа фундаменталды білім алуға ықпал етіп, оны кейіннен практикалық қолдануға мүмкіндік береді.

Зерттеу жұмысының мақсаты. Биоактивті табиғи заттардың жаңа цитотоксикалық және дифференциялаушы қосындыларының антилейкемиялық белсенділігін зерттеу.

Зерттеу жұмысының міндеттері:

1. Лейкоз клеткаларына 1,25D₃, куркуминнің және олардың комбинациясының дифференциялаушы және антипролиферациялаушы әсерін анықтау;

2. *Curcuma Longa* L. тамыр ұнтағының фитохимиялық құрамын зерттеу;

3. Бензин буымен улану аясында егеуқұйрықтардың дене салмағының динамикасындағы, өкпесіндегі, бауырындағы, бүйрегіндегі, көкбауырдағы макроскопиялық және микроскопиялық өзгерістерге D₃ дәруменінің, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағының және олардың комбинациясының әсерін 30, 60 және 90 күн бойы зерттеу;

4. Бензин буымен улану аясында егеуқұйрықтардың қан биохимиясындағы көрсеткіштердің өзгерістеріне D₃ дәруменінің, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағының және олардың комбинациясының әсерін 30, 60 және 90 күн бойы зерттеу;

5. Бензин буымен улану аясында егеуқұйрықтардың гематологиялық көрсеткіштердің өзгерістеріне D₃ дәруменінің, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағының және олардың комбинациясының әсерін 30, 60 және 90 күн бойы зерттеу.

Зерттеу нысандары. *in vitro* зерттеу нысаны ретінде адамның жедел миелоидты лейкоз (ЖМЛ) HL60 (миелобластикалық лейкоз) клеткалық линиясы Негевтегі Бен-Гурион университетінің (Беэр-Шева, Израиль) Денсаулық сақтау ғылымдары факультеті, Клиникалық биохимия және фармакология кафедрасының зертханасынан алынды.

Фитохимиялық зерттеулер нысаны ретінде АҚШ Ауылшаруашылығы Министрлігімен сертификацияланған *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы Kevala International LLC компаниясынан алынды. Стандарт ретінде тазартылған негізгі куркуминоидтар – куркумин, деметоксикуркумин және бисдеметоксикуркумин арнайы тапсырыспен Aktin Chemicals, Inc. компаниясынан (Чэнду, Қытай) алынды.

in vivo зерттеулер нысаны ретінде 3 айлық тұқымсыз ақ аталық эксперименттік егеуқұйрықтар әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің вивариумынан алынды. Егеуқұйрықтарға бензин буы аясында D₃ дәрумені, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағы жеке және олардың комбинациясы жеммен бірге берілді. Егеуқұйрықтардың дене салмағы өлшеніп, өкпе, бауыр, бүйрек, көкбауыр және қаны зерттелді.

Зерттеу әдістері: клеткаларды *in vitro* дақылдау, ағынды цитометрия әдісі (CytoFLEX S, Kaluza 2.1., Beckman Coulter, Калифорния, АҚШ), трипан көгі бояуы арқылы клеткаларды санау және өміршендігін анықтау (Vi-Cell'XR Cell Viability Analyzer, Beckman Coulter, Калифорния, АҚШ), Жоғары өнімділікті сұйық хроматография (ЖӨСХ; Shimadzu LC-40, Shimadzu Corporation, Киото, Жапония), дене салмағын өлшеу (CAS SW-5, CAS Corporation, Сеул, Оңтүстік Корея), макроскопиялық, гистологиялық (MicroOptix MX 300 T, Micro-Optix, Винер-Нойдорф, Австрия), биохимиялық (HumaStar 100, Human Diagnostics Worldwide, Висбаден, Германия), гематологиялық (Advia-2120i, Siemens, Мюнхен, Германия), статистикалық деректерді өңдеу (GraphPad Prism 6.0, GraphPad, Сан-Диего, Калифорния, АҚШ).

Зерттеудің ғылыми жаңалықтары:

1. Алғашқы рет бензин буымен интоксикация аясында D₃ дәрумені мен *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағының жеке және олардың комбинациясының егеуқұйрықтардың дене массасына және өкпесіне, бауырына, бүйрегіне, көкбауырына әсері 30, 60 және 90 күн бойында зерттелді.

2. Алғашқы рет бензин буымен интоксикация аясында D₃ дәрумені мен *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағының жеке және олардың комбинациясының егеуқұйрықтардың қан биохимиясына және гематологиялық параметрлеріне әсері 30, 60 және 90 күн бойында зерттелді.

3. Алғаш рет D₃ дәруменін пероральді қабылдау егеуқұйрықтардағы бензин буының әсерінен туындаған дене массасының төмендеуінен, өкпедегі, бауырдағы, бүйректегі, көкбауырдағы және қандағы зиянды өзгерістерден қорғайтыны дәлелденді.

4. Алғаш рет D₃ дәрумені мен *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы арасында қандай да бір антагонизм бар екені анықталды, олардың арасындағы өзара әрекеттесудің болмауы түрінде немесе әр агенттің жеке әсерлеріне қарағанда олардың комбинациясының қорғаныштық әсері әлсіздеу болуымен көрсетілді.

Жұмыстың ғылыми және практикалық маңызы. Жұмыстың ғылыми маңызы, осы, клиникаға дейінгі *in vitro* және *in vivo* зерттеулерден алынған нәтижелер, D₃ дәрумені мен куркумин/*Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы арасындағы антагонистік әрекеттестіктердің ашылуы бензин буының уытты әсерлерін болдырмау немесе оларды жұмсарту үшін, екі агенттің комбинацияланған терапиясын әзірлеу кезінде мұқият қарауды қажет ететінін көрсетеді. Бұл олардың профилактикалық және клиникалық мақсаттарда қолданылуын оңтайландыруға жол ашады.

Практикалық тұрғыдан алғанда, зерттеудің нәтижелері бензин буының зиянды әсерін азайтуға бағытталған профилактикалық шаралар мен терапиялық тәсілдерді дайындау үшін пайдаланылуы мүмкін. Алынған эксперименттік нәтижелер, әсіресе, бензин буының әсеріне ұшырау қаупі жоғары адамдарға, мысалы, мұнай өңдеу зауыттары мен жанармай құю станцияларының қызметкерлері үшін маңызды.

Қорғауға шығарылған негізгі қағидалар.

1. 1,25D₃ пен куркуминнің HL60 клеткаларына әсерін зерттеу барысында, екі агенттің комбинациялық емдеуімен салыстырғанда 1,25D₃ дәруменін жеке қабылдау жоғарғы ($p < 0,0001$) дифференциялық қасиет көрсетті.

2. Фитохимиялық зерттеулер *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының құрамында негізгі куркуминоидтардың жоғары концентрациясы (куркумин – 69,8 мг/г, деметоксикуркумин – 31,6 мг/г және бисдеметоксикуркумин – 20,9 мг/г) анықталды. Сонымен қатар, флавоноидтар (2,8 мг/г), таниндер (27,0 мг/г), алкалоидтар (15,8 мг/г) және сапониндер (41,8 мг/г) анықталды.

3. D₃ дәруменін 90 күн бойы ішке қабылдау егеуқұйрықтардағы бензин буының уыттылығынан туындаған дене салмағының төмендеуінен, өкпенің, бауырдың, бүйректің, көкбауырдың макроскопиялық және микроскопиялық зақымдануынан айтарлықтай қорғайтындығын көрсетті.

4. *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының жеке және оның D₃ дәруменімен комбинациясының егеуқұйрықтардағы бензин буының уыттылығына қарсы әсері өзара ұқсас болды, бірақ D₃ дәруменінің монотерапиясымен салыстырғанда тиімділігі төмен қорғаныс жасады.

5. D₃ дәрумені мен *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының арасында өзара антагонистік әрекеттесу анықталды, бұл не синергетикалық әсерлердің жоқтығын немесе тіпті әрбір агенттің жеке әсерлерімен салыстырғанда олардың комбинациясының қорғаныш тиімділігінің төмен екендігін көрсетеді.

Автордың жұмыстағы жеке үлесі.

Зерттеліп отырған мәселе бойынша әдеби деректерді талдау, жұмыстың мақсаты мен міндеттерін анықтау, эксперименттер жүргізу, зерттеу нәтижелерін өңдеу, алынған мәліметтерді статистикалық талдау, мақалаларды жариялауға дайындалу, алынған нәтижелерді интерпретациялау және рәсімдеу, негізгі нәтижелерді диссертацияда баяндау — осының бәрі бірлескен авторлардың қатысуымен жүзеге асырылды.

Жұмыстың ғылыми зерттеу бағдарламасымен байланыстылығы.

Диссертациялық жұмыс диссертанттың және ғылыми жетекшілердің жеке орындаған жұмысы болып табылады. *in vitro* эксперименттер Бен-Гурион атындағы университетінің Денсаулық жайлы ғылым факультеті, клиникалық биохимия және фармакология кафедрасының зертханасында жүргізілді (Негев, Беэр-Шева, Израиль). Фитохимиялық зерттеулер әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің Дәрілік өсімдіктерді зерттеу орталығында (Алматы, Қазақстан) жүргізілді. *in vivo* эксперименттер әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің виварий орталығында, РГП «Адам және жануарлар физиологиясы институты» (Алматы, Қазақстан) КҒМ Жергілікті этикалық

комиссиясымен бекітілген хаттамаға сәйкес (№ 12-28, 2023 жылғы 3 ақпан) жүргізілді.

Жұмыстың сыннан өтуі. Диссертацияның зерттеу нәтижелері және негізгі ережелері келесі Халықаралық ғылыми конференцияларда баяндалып, талқыланды:

1. Халықаралық студенттер мен жас ғалымдар конференциясы «Фараби әлемі», 2020 ж. 6-9 сәуір, Алматы, Қазақстан;

2. Жас ғалымдар, магистранттар, студенттер мен оқушыларының халықаралық ғылыми конференциясы «ХХ Сәтбаев оқу оқулары», 2020 ж. 10 сәуір, Павлодар, Қазақстан;

3. Халықаралық студенттер мен жас ғалымдар конференциясы «Фараби әлемі», 2021 ж. 6-8 сәуір, Алматы, Қазақстан.

4. Диссертацияның негізгі нәтижелері әр жарты жылдық сайын әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің Биология және биотехнология факультетінің, биоалуантүрлілік және биоресурстар кафедрасының мәжілістерінде тыңдалды.

Басылымдар. Диссертацияның негізгі нәтижелері 10 жарияланымдарға енгізілген: оның ішінде бір мақала халықаралық рецензияланатын Scopus және Web of Science (Q1) деректер базаларына кіретін импакт-факторы бар журналда; 6 мақала Қазақстан Республикасының Ғылым және білім сапасын қамтамасыз ету комитеті ұсынған басылымдар тізіміне енгізілген журналдарда; 3 тезис халықаралық конференциялар жинақтарында жарияланған.

Диссертациялық жұмыстың құрылымы мен көлемі. Диссертациялық жұмыс 124 бет компьютерлік мәтіннен, белгілер мен аббревиатуралардан, кіріспеден, әдеби шолудан, зерттеу материалдары мен әдістерінен, зерттеу нәтижелері және олардың талқылаудан, қорытындыдан, 220 әдебиеттер тізімінен, 3 кестеден, 41 суреттен және 1 қосымшадан тұрады.

1 ӘДЕБИ ШОЛУ

1.1 Бензин буының адам және жануарлар организміне әсері

Халық санының жылдам өсуі, автомобиль көліктері мен жанармай құю станцияларының көбеюі және өнеркәсіптік зауыттардың санының артуы бүкіл әлемдегі – ауа ластануы мәселесін туындатып отыр. Ауаның, әсіресе бензин буымен ластануы жер шарына төнген тек қана экологиялық қауіп қана емес, сонымен қатар адам және жануарлар денсаулығына да зиян келтіретін өзекті мәселелердің біріне айналды. Ауаның ластануы тек біздің өмір сүріп жатқан қоршаған ортаға ғана емес, атап айтқанда, шаң, озон қабатының бұзылуы, қышқыл жаңбырлар және т.б., сонымен қатар адам мен жануарлардың әл-ауқатына зиян келтіреді, бұл денсаулыққа ең маңызды экологиялық қауіп болып табылады [8]. Ластану адамдардың өмір сүру ұзақтығына, өмір сапасына және экономикалық әлеуетіне теріс әсер етеді. Бұл біздің аурушандықты азайту мақсаттарына жету жолындағы негізгі кедергілердің бірі болып табылады. Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымының (ДДСҰ) мәліметтері бойынша, ауаның ластануы ластанған ауадағы ұсақ бөлшектердің әсерінен жыл сайын шамамен 7 миллион адамның өліміне әкеледі. Сондай-ақ, жер халқының 91% ДДСҰ ұсынған шектерден төмен ауа сапасы бар жерлерде тұрады [9]. Атмосфералық ауаның ластану деңгейлері дамушы елдерде жиі ДДСҰ ұсыныстарынан асып түсетіні кеңінен танылған. Дамушы елдерде тез өсу үшін төлем ретінде зиянды ауаның ластануы жиі кездеседі, бұл жыл сайын алаңдатарлық өлім санына әкеледі [10]. Алматы Қазақстандағы, сондай-ақ жалпы Орталық Азияда ең ірі қала болып табылды. Қазіргі уақытта Алматы қаласы – Қазақстан халқының жалпы санының шамамен 15% тұратын қаржылық, экономикалық, мәдени, білім беру және ғылыми орталығы. Соңғы онжылдықтарда Алматы қаласының ауа сапасы айтарлықтай төмендеді және бүгінгі күні қала әлемдегі ең ластанған қалалардың қатарына кіреді [11]. Алматы қаласындағы нашар ауа сапасынан туындаған денсаулық мәселелері айтарлықтай баршылық. Соңғы 10 жылда аурушандық 1,5 есе өскен. Алматы қаласы аймағында ірі өнеркәсіптік нысандардың болмауына қарамастан, қала тыныс алу, эндокриндік және қан аурулары, қатерлі ісік және бронх демікпесі бойынша Республикада бірінші орында тұр [12]. Ішкі ауаның ластануы атмосфералық ауаның ластануымен бірге бүкіл әлемде денсаулыққа ең маңызды қауіптердің бірі болып табылады. ДДСҰ-ның ауа сапасы туралы деректер базасы соңғы жылдары айтарлықтай өсті және қазіргі уақытта 91 елдегі 1600 қаланы қамтыды [13]. Бұл бүкіл әлем бойынша көбірек қалалардың ластанған ауаның халық денсаулығына әсер ету қаупін мойындап, атмосфералық ауаның сапасын бақылауды жүзеге асыратынын білдіреді.

Сұйық бензин – бұл жеңіл көмірсутектердің күрделі біртекті емес қоспасы, нақтырақ айтқанда, шамамен 60-70% алкандар (парафиндер), 25-30% ароматикалық қосылыстар және 6-9% алкендерден тұратын кемінде 150 көмірсутек [14]. Бұл қосылыстардың нақты қатынастары өндірушіге және

орналасқан жеріне байланысты. Шикі мұнайдың көзі – оны өндіруде қолданылатын тазарту процесі және өнімнің техникалық сипаттамалары сияқты факторларға байланысты [15-16]. Сатылатын бензиннің негізгі түрі – автомобиль бензині, ішкі жану қозғалтқыштары үшін негізгі отын, дизельді емес автомобильдерде, мотоциклдерде, дизельді емес жүк көліктерінде және басқа да шағын қозғалтқыштарда қолданылады [17]. Автокөлікті отынмен толтырғанда, бұл зиянды химиялық заттар бөлінуі мүмкін [18] және олардың кейбіреулері адамның денсаулығына теріс әсер ететіні белгілі. Зерттеулер ББ жұту әртүрлі және қауіпті денсаулық мәселелерінің пайда болуына ықпал ететінін анықтады. Әдетте адамдар жанармай құю станциясында жанармай құю кезінде ББ-на ұшырайды, бірақ жанармай құю станциясы қызметкерлері кәсіби әсер етуіне байланысты үлкен қауіпке ұшырайды [19] және олар бензинді жұтудың уыттылығына ең сезімтал болып табылады. Жұмысшылар негізінен неврологиялық симптомдардан зардап шекті, соның ішінде: бас ауруы, шаршау, ашуланшақтық және ұйқының бұзылуы, қолданылған сауалнамаларда тіркелген және әдебиетте [20] көрсетілген. Зерттеулер нәтижесінде ғалымдар бензинді ұзақ уақыт жұту организмдегі тотығу стрессін және қабыну жолдарын күшейту арқылы биохимиялық және иммундық бұзылуларға әкеледі деген қорытындыға келді [21]. Бензин компоненттерінің уыттылығына негізделі отырып, оны адам мен жануарлар үшін белгілі канцероген деп айтуға болады. Бензол 1А тобының канцерогені ретінде жіктелді, өйткені оның қан түзу жүйесіне уытты әсері жақсы белгілі [22]. Бензин компоненттерінің ішінде бензолдың кәсіби және кәсіби емес жағдайларда оның канцерогендігін растайтын ең сенімді дәлелдер жиынтығы бар. Қоршаған ортаны қорғау агенттігі, АҚШ Денсаулық сақтау және әлеуметтік қызметтер министрлігі және Халықаралық қатерлі ісіктерді зерттеу агенттігі (IARC) барлығы бензолды адам үшін канцероген ретінде анықтайды [23]. Жалпы халық бензолға автокөліктердің буларын, техникалық қызмет көрсету станцияларын және темекі түтінін жұту арқылы ұшырайды. Сонымен қатар, ластанған азық-түлік немесе суды тұтыну арқылы ластану орын алуы мүмкін. Бензолдың кәсіби әсері көптеген өнеркәсіптік жағдайларда, мысалы, фабрикалар, мұнай өңдеу зауыттары және резеңке өндіру зауыттары, сондай-ақ аяқ киім және баспа фабрикаларында орын алады [24].

Сондықтан адамдар бензолдың әсеріне қоршаған ортада да, жұмыс орнында да ұшырайды, бұл қоғамдық денсаулық сақтау үшін маңызды мәселе болып табылады [25]. Бензолдың адам организміне қысқа мерзімді әсері ұйқышылық, бас ауруы және бас айналуына әкеледі, ал ұзақ мерзімді әсері лейкемияның себебі болуы мүмкін [26]. Бензолдың тіпті аз концентрациялары да адам организмінің клеткаларына теріс әсер етеді. Эпидемиологиялық және токсикологиялық деректер бензолдың артық әсері адамдарда жедел миелоидты лейкоздың (ЖМЛ) дамуына әкелуі мүмкін екенін көрсетеді [27-30]. Басқа лейкоздар, соның ішінде жедел лимфоцитарлы емес лейкоз және миелодиспластикалық синдром, сондай-ақ бензолдың жоғары әсерімен байланысты [31-32]. Сонымен қатар, бензол көптеген денсаулық мәселелерімен, соның ішінде тыныс алу, жүйке және иммунологиялық

аурулармен байланысты [33]. Эпидемиологиялық және эксперименттік зерттеулер бензолдың әсері адамның бірнеше ұлпалары немесе органдарын зақымдауы мүмкін көптеген жедел және созылмалы ауруларды тудыруы мүмкін екенін көрсетті. Бензолдың жедел және созылмалы әсерлері орталық жүйке жүйесіне [34], репродуктивті және даму жүйесіне [35-37], иммундық жүйеге [38-39] және тыныс алу жүйесіне [40] әсер етуі мүмкін. Бензолдың ЖМЛ, жедел және созылмалы лимфолейкоз, Ходжкин емес лимфома, көптік миелома және апластикалық анемия сияқты гематологиялық ауруларды тудыруы мүмкін екені кеңінен танылған [41-42]. Бензолдың қан компоненттерінің қатерлі ісігін тудыруы мүмкін екендігіне қоса, жануарларға жүргізілген зерттеулерде бензолдың сүт безі қатерлі ісігін тудыруы мүмкін екендігі де хабарланған [43-44]. Алайда, бензолдың сүт безі қатерлі ісігінің даму қаупі факторларының бірі екенін болжайтын адамдарға арналған зерттеулер шектеулі [45]. Бірнеше зерттеулер бензолдың әсері қатерлі меланома, асқазан қатерлі ісігі, қуық асты безі қатерлі ісігі және мұрын қатерлі ісігін тудыруы мүмкін екенін көрсетті [46-49].

Бензолдың уыттылығының бірнеше ықтимал механизмдері ұсынылған [50-52]. Оның метаболизмі бір немесе бірнеше реактивті метаболиттердің қатысуымен токсиктілік үшін шешуші маңызға ие екені жалпы мойындалған, олар миелопероксидазалар және басқа гемопротеин пероксидазаларымен әрі қарай биоактивацияланып, эмихинондар мен хинондардың реактивті қосылыстарына айналады [53]. Бұл реактивті өнімдер оттегінің белсенді формаларының (ОАФ) түзілуіне әкелуі мүмкін, олар ДНҚ, липидтер және ақуыздар сияқты негізгі молекулалық нысандарды тікелей зақымдап, жаңа қосылыстар мен модификацияланған құрылымдардың, мысалы, кеңейтілген тотығу өнімдері, гликирлеудің соңғы өнімдері және липопероксидацияның соңғы өнімдері [54] түзілуіне әкеледі, олар бензолға кәсіби әсер ететін жұмысшылардың тәуекелін бағалау үшін биомаркерлер ретінде қолданылған [55]. ОАФ сонымен қатар маңызды киназалар мен сигнал беру жолдарына әсер етуі мүмкін (митогенмен белсендірілген протеинкиназдар (МАРК) отбасы, р38-МАРК, ядролық фактор (NF)-κB және сигнал түрлендіргіші және транскрипцияның активаторы 3 (STAT3)), олар клеткалық пролиферация мен апоптозға қатысады [56-57]. Бірнеше авторлар клеткалық стресс, мысалы, ОАФ-ның шамадан тыс мөлшері немесе қабыну процесстері сияқты, осы жолдардың белсендірілуі клеткалардың аберрантты өсуіне және канцерогенезге әкелуі мүмкін екенін көрсетті [58-59]. Сонымен қатар, ОАФ мен кейбір клеткалық компоненттер арасындағы байланыс ДНҚ тізбектерінің үзілуіне, еншілес хроматидтердің алмасуына, сондай-ақ микроядролық және хромосомалық аберрацияларға ықпал етуі мүмкін [60-61]. Smith және әріптестері [62] бензолға әсер ету дені сау жұмысшылардың айналымдағы лимфоциттерінде t(8;21) және 8 және 21 гипердиплоидиясының айтарлықтай жоғары деңгейлерімен байланысты екенін көрсетті, бұл бақылау тобымен салыстырғанда, әсер етпеген. Бұл бензолмен шақырылған лейкомиядағы осы аберрациялардың рөлін және хромосомаларды бояу арқылы перифериялық қан клеткаларында олардың

анықталуы бензол және басқа ықтимал лейкемогендерден туындаған гематологиялық қатерлі ісіктердің даму қаупінің биомаркері ретінде пайдалы болуы мүмкін екенін болжайды [63]. Bassig және авторлар бензолға кәсіби әсер ететін жұмысшыларда қатерлі ісік қаупімен байланысты лейкоциттердің теломер ұзындығының (TL) өзгерістерін бағалады. Авторлар бензолға әсер етпегендермен салыстырғанда, фабрика жұмысшыларына бензолдың өте жоғары деңгейлеріне байланысты TL-дің айтарлықтай ұлғаюын байқады [64]. Бензолдың токсинді және канцерогендік әсерлері бірнеше факторларға, мысалы, әсер ету ұзақтығы мен деңгейіне, әсер ету жолына (ингаляция, жұту немесе тері арқылы байланыс) және жеке сезімталдық факторларына (жасы, жынысы, өмір салты және бұрыннан бар аурулар немесе бұзылулар) байланысты. Көптеген эпидемиологиялық және эксперименттік зерттеулерде тұрғын және өндірістік жағдайларда бензолдың жоғары дозаларының денсаулыққа әсері бағаланды. Сонымен қатар, бірқатар зерттеулерде тыныс алу жолдары арқылы әсер ету туралы айтылған [65], және тек бірнеше жағдайда жұту [66-67] немесе тері арқылы байланыс [68-69] туралы хабарланған. Тышқандарда жүргізілген соңғы зерттеулер бензолдың созылмалы әсері гематотоксиктілікпен және апластикалық анемия мен лейкемияның дамуымен байланысты деген гипотезаны растайды [70]. Алынған деректер бензолмен шақырылған гематотоксиктілікте PP2A-B56 α , β -катенин және Cyp2e1-ді қамтитын реттеуші каскадтың рөлін түсінуге маңызды түсінік бере отырып, PP2A-ның қоршаған орта химиялық заттарына реакциядағы рөлін қолдайды.

Сондай-ақ, егеуқұйрықтарда жүргізілген зерттеулер бензиннің ингаляциясы салмақ қосу жылдамдығының айтарлықтай ($P < 0,05$) төмендеуімен және корпускулярлық бірліктердегі гемоглобиннің орташа концентрациясының және эритроциттердің таралу ені төмендеуімен байланысты екенін көрсетті [71]. Бұдан басқа, бензиннің ингаляциясы мегакариоциттердің ядроларындағы өзгерістермен байланысты екені байқалды, осылайша ядролары ажыраған және дезинтеграцияланған аномальды мегакариоциттердің пайызын арттырды. Алайда, бензиннің ингаляциясы эритроциттердегі оксидативті маркерлерде елеулі өзгерістер тудырмады [71]. Бензиннің екі түрінің буларымен ластанған ауаны өткір ингаляциялау (1/2 LC50 30 минут ішінде) аспарагин және глутамин қышқылдарының деңгейін арттырып, глицин мен ГАМК-ның төмендеуін тудырғаны зерттелді, бұл егеуқұйрықтардың миының зерттелген аймақтарының көпшілігінде байқалды. Бензиннің екі түрін де созылмалы ингаляциялау (1/5 LC50 60 күн бойы күнделікті 30 минуттық бір реттік сеанс) гиппокамптағы аспарагин және глутамин қышқылдарының концентрациясын айтарлықтай арттырды, бірақ ГАМК немесе глицин деңгейлеріне әсер етпеді [72]. Бензолдың кейбір сызықтардағы айырмашылықтармен бірге тышқандарда ЖМЛ-ның күшті индукторы болуы мүмкін екендігі туралы деректер бар. Зерттеу нәтижелері гемопоэтикалық жаңа түзілімдердің төменгі дозаға шекті емес жауап беретінін көрсетеді, ал бензолдың әсер ету дозасы артқан сайын, ЖМЛ-ды қоса алғанда, аурушандықтың 100%-ға дейін өсуін көрсетті [73]. Сонымен қатар, қатерлі

ісікпен байланысты емес нәтижелерді бағалайтын зерттеулер жанармай құю станцияларының қызмет көрсету персоналында эритроциттер санының, гемоглобин деңгейінің және гематокриттің төмендеуін анықтады [74].

Осылайша, бензин буының ұзақ уақыт әсер етуі гематотоксикалық, генотоксикалық, иммунологиялық және репродуктивтік әсерлерді, сондай-ақ әртүрлі қатерлі ісік түрлерін, әсіресе ЖМЛ тудыруы мүмкін [75].

1.2 Лейкоз түрлері және олардың классификациясы

Лейкоз немесе лейкемия – қан өндіру жүйесінің клональды қатерлі ісігі, бұл әртүрлі этиологияға ие аурулардың кең тобына жатады. Бұл ауру қан клеткаларының, әдетте лейкоциттердің, аномальды көбеюімен сипатталады, бұл ДНҚ-дағы соматикалық мутациялардың нәтижесі болып табылады. Белгілі мутациялар онкогендерді белсендіру немесе ісік супрессор гендерін деактивациялау арқылы лейкемияны тудырады, осылайша клеткалардың өлуін, дифференциясын немесе бөлінуін реттеуді бұзады. Бұл мутациялар өздігінен немесе радиацияның мен канцерогендік заттардың әсерінен пайда болады және оларға генетикалық факторлар ықпал етуі мүмкін [76]. Әлемде әртүрлі жас пен нәсілдегі адамдар арасында лейкемияның қатерлі ісіктен өлімнің негізгі себептерінің бірі ретінде танылуы осы аурумен күресуде қарқынды зерттеу жұмыстарына және көптеген клиникалық зерттеулерге әкелді [77].

Лейкоздардың ісікке айналуы – қай клетка-ізашарларында болғанына байланысты екі түрге бөлінеді: лимфобластты және миелобластты. Лимфобластты лейкоз жағдайында лимфоидты клеткалар, ал миелобластты лейкозда миелоидты клеткалар өзгеріске ұшырайды [78]. Клиникалық ағымына байланысты: жедел лейкоздар және созылмалы деп екіге бөлінеді. Жедел миелоидты лейкоздар (ЖМЛ) – кенеттен басталып, тез дамиды және емделмеген жағдайда бірнеше апта немесе ай ішінде өлімге әкеледі. Мұндай науқастардың сүйек кемігінде және қанында әдетте жас (бластты) клеткалардың көп мөлшері анықталады. Сондықтан, жедел миелоидты лейкозды тереңірек зерттеу өзекті мәселе болып отыр [79]. Созылмалы лейкоздар (СМЛ) біртіндеп басталып, баяу дамиды – тіпті емделмеген жағдайда да науқастар бірнеше жыл өмір сүре алады. Қанда әдетте жетілмеген, бірақ жетілуге бейім клеткалар анықталады.

ЖМЛ – қанның қатерлі ауруы, ол миелоидты клеткалардың рақтық трансформациясы және дифференцировкасының бұзылуы нәтижесінде пайда болады [80]. ЖМЛ-дің бастапқы кезеңі әдетте симптомсыз өтеді: науқастар өздерін сау сезінеді, бірақ ісік клеткалары қан өндіру жүйесіне таралғанға дейін. Диагноз морфологиялық түрде қойылуы мүмкін – қан немесе сүйек кемігінде бластты клеткалардың анықталуы арқылы. Науқастарда қалыпты қан өндіру өсінділерінің неопластикалық клеткалармен ығыстырылуы салдарынан формалық элементтердің саны азаяды. Нәтижесінде анемия, тромбоцитопения (тромбоциттер санының азаюы) және нейтропения (нейтрофильді лейкоциттер санының азаюы) пайда болады, бұл жиі инфекциялық аурулар және шырышты

кабықтарда жаралар түрінде көрінеді. Перифериялық қанда бласттардың болуы арқылы лейкоцитоз (лейкоциттер санының көбеюі) анықталады, сондай-ақ «лейкемиялық үзіліс» байқалады, яғни бластты клеткалардың санының күрт көбеюі және өтпелі жетілетін формалардың болмауы аясында жеке жетілген элементтердің болуы. Кейде лейкоциттер саны көбеймейді, бірақ бластар міндетті түрде болады. ЖМЛ диагнозын қоюдың негізгі критерийлерінің бірі – сүйек кемігінде 30%-дан астам миелобласттардың болуы. Емдеуді уақтылы бастау және заманауи әдістерді қолдану аурудың ремиссиясына және өмір сүру ұзақтығын арттыруға мүмкіндік береді [81].

Қазіргі уақытта ЖМЛ-дің екі негізгі классификациясы бар: бастапқы FAB (Франко-Американдық-Британдық) классификациясы және заманауи ДДСҰ классификациясы. Жедел лейкоздардың FAB-классификациясы клеткалардың морфологиялық және цитохимиялық белгілері негізінде жасалған [82]. FAB-классификациясына сәйкес, ЖМЛ 8 қосалқы класқа бөлінеді, M0–M7. Аурулардың болжамы және емдеу тәсілдері олардың түріне байланысты әртүрлі болады. Бүгінгі таңда FAB классификациясы келесідей көрінеді (Кесте 1)

Кесте 1 – FAB бойынша жедел миелоидты лейкоздардың классификациясы [82].

Түрі	Анықтамасы
M0	Жедел дифференцияланбайтын лейкемия – минималды дифференциясы бар жетілмеген бластты клеткалар.
M1	Жедел жетілмеген миелобластты лейкемия - миелоидты дифференция белгілері жоқ жетілмеген бластты клеткалар
M2	Гранулоциттік жетілуімен жедел миелобластты лейкемия
M3	Промиеоцитарлық немесе жедел промиеоцитарлық лейкемия
M4	Жедел миеломоноцитарлық лейкоз
M4	Сүйек кемігінің эозинофилиясы бар миеломоноцитарлық лейкемия
M5	M5a – жедел жетілусіз моноцитарлы лейкемия M5b – жедел жартылай жетілуімен моноцитарлы лейкемия
M6	Жедел эритромиелоз
M7	Жедел мегакариобластты лейкоз

ЖМЛ ДДСҰ классификация жүйесі FAB жүйесін ескере отырып жасалған, бірақ ол клиникалық қолдануға ыңғайлырақ, себебі аурудың ең маңызды болжамдық белгілерін ескереді (2-кесте). ЖМЛ генетикалық өзгерістерімен сипатталатын мутациялар кейбір химиялық препараттардың әсерінен зақымдануға өте сезімтал гендерде кездеседі, сондықтан олар ЖМЛ және алдыңғы емдеумен байланысты миелодиспластикалық синдромның (МДС) пайда болуына қатысуы мүмкін [83]. ЖМЛ емдеу қиын және ол АҚШ-тағы қатерлі ісіктен болатын өлімнің шамамен 1.6%-ын құрайды [84].

Химиотерапиядан кейін науқастардың шамамен 65%-ында толық ремиссия байқалғанымен, 70% жағдайда 5 жыл ішінде рецидив болады [85]. СМЛ – миелоидты, эритроидты, В-лимфоидты клеткалар және мегакариоциттердің полипотентті дің клеткаларына әсер ететін клональды миелопролиферативті ауру. Аурудың сипаттамалық белгісі – 95% науқастарда анықталатын филадельфиялық (Ph) хромосома.

СМЛ-дің ерекшелігі аурудың әртүрлі клиникалық фазаларының болуы. Аурудың бастапқы фазасының симптомдары, әдетте, созылмалы фаза деп аталады, жиі байқалмай дамиды және шаршаудың жоғарылауы, спленомегалия, анемия және лейкоцитозбен сипатталады. Лейкоциттер, саны 200 млн./мл-ге жетуі мүмкін, әдетте дифференцияның барлық сатыларындағы миелоидты клеткалармен ұсынылған, дегенмен олардың арасында жетілген типтегі клеткалар басым [86]. Созылмалы саты миелоидты прекурсорлардың айқын кеңеюімен сипатталады. Орташа есеппен 3-4 жылдан кейін созылмалы фазаның агрессивтілеу акселерация фазасына трансформациясы орын алады [87].

Аурудың акселерация сатысына өтуінің негізгі белгісі — бұрын тиімді болған терапияға сезімталдықтың төмендеуін көрсететін қан көрінісінің өзгеруі. Бұрын лейкоцитозды толық бақылауда ұстаған терапия кезінде лейкоциттер санының өсу үрдісі байқалады, миелоциттер мен метамиелоциттер саны артады, промиелоциттер пайда болады, жиі 2-10% бластты клеткалар анықталады. Бластты криз (БК) немесе жедел фаза акселерация фазасынан кейін пайда болуы мүмкін және кенеттен дамиды. Бұл фаза әдетте өліммен аяқталады, бластты криз анықталған кезде өмір сүру медианасы шамамен 4 айды құрайды. СМЛ-дің бластты кризі миелоидты немесе лимфоидты типте өтеді, соңғысы 20-30% науқастарда кездеседі. Бластты криз сатысындағы науқастар әдетте химиотерапияға төзімді, олардың қанында қосымша цитогенетикалық өзгерістерді (мысалы, екінші Ph-хромосома, 8-хромосоманың трисомиясы немесе 7q изохромосомасы және сирек жағдайда 19-хромосоманың трисомиясы) алып жүретін Ph-позитивті клеткалардың клондық популяциялары жиі анықталады.

Екінші Ph-хромосома әдетте бастапқы Ph-хромосоманың дупликациясы нәтижесінде пайда болады, бұл M-bcr локусындағы үзіліс нүктесінде өзгерістердің болмауымен анықталады. СМЛ-ның бласттық криз кезеңіндегі цитогенетикалық көріністің динамикасы лейкемиялық діңгек клеткаларынан генетикалық тұрақсыз неопластикалық клеткалық популяциядан пайда болатын жаңа клондардың пайда болуымен сипатталады [88]. СМЛ барлық лейкоздардың шамамен 20%-ын құрайды. Еуропа мен Солтүстік Америка елдерінде СМЛ таралу жиілігі бойынша жедел лейкоздар мен созылмалы лимфолейкоздардан кейін үшінші орында, ал Жапония, Үндістан, Индонезия және созылмалы лимфолейкоздың төмен таралуы бар басқа елдерде екінші орында. СМЛ-ның жылдық аурушандығы барлық елдерде 100 мың адамға 1-1,5 құрайды және соңғы 50 жыл ішінде іс жүзінде тұрақты болып қалды [89-90]. Ерлер әйелдерге қарағанда сәл жиі ауырады, науқастардың 55-60%-ын құрайды. Науқастардың жартысы 30-50 жас аралығында ауырады, көбінесе 30-

40 жас аралығында, дегенмен кейбір авторлар аурушандықтың шыңы өмірдің бесінші және алтыншы онжылдықтары арасында екенін атап өтеді. Балаларда типтік СМЛ сирек кездеседі, балалар лейкоздарының 1-2%-ынан аспайды [91].

ЖЛЛ барлық жедел лейкоздардың 15%-ын құрайды. ЖЛЛ-ның екі түрі бар: В-линиялық және Т-линиялық, клеткалардың түріне байланысты - лимфоидты прекурсорлар. Пісіп-жетілу және даму (дифференция) процесінде барлық лимфоидты клеткалар бірнеше кезеңнен өтеді, олардың біріншісі бласттық кезең (лимфобласттар) болып табылады. Сүйек кемігін ісік зақымдағандықтан, лимфоциттер өздерінің қорғаныс функцияларын толық орындау үшін жеткілікті түрде дами алмайды. Көп жағдайда ЖЛЛ кезінде В-лимфоциттер (шамамен 85% жағдайда) зақымдалады, олар организмде антиденелердің түзілуіне жауап береді [92-93]. ЖЛЛ балалар мен жасөспірімдердегі ең кең таралған қатерлі ауру болып табылады. Аурушандықтың шыңы 1 жастан 6 жасқа дейінгі кезеңге келеді. Ұлдар жиі ауырады. Ауру сүйек кемігін, лимфа түйіндерін, көкбауырды, тимусты, сондай-ақ басқа органдарды зақымдай отырып өтеді. Химиотерапиядан кейінгі рецидивтер кезінде орталық жүйке жүйесінің зақымдануы жиі кездеседі [94]. ЖЛЛ-ның келесі түрлері бар: пре-В-клеткалық, В-клеткалық, Т-клеткалық, нөл-клеткалық, пре-Т-клеткалық. Пре-В-клеткалық ЖЛЛ кезінде бласттар В-лимфоциттердің ерте клеткаларына жатады, өйткені олар цитоплазмалық иммуноглобулин-ауыр тізбек IgM-ді қамтиды және бетінде иммуноглобулиндер жоқ. Бұл лейкоз түрі В-формасына қарағанда қолайлырақ ағымға ие. В-клеткалық ЖЛЛ кезінде лейкоздық клеткаларға (мысалы, Беркитт лимфомасы, созылмалы лимфолейкоздың өте сирек бласттық криздері) олардың бетінде IgM жоғары тығыздығы тән. Т-клеткалық ЖЛЛ жиі үлкен жастағы балаларда анықталады (науқастардың орташа жасы 10 жыл).

Жартылай жағдайларда асқыну экстремедулярлық өсуінен, көбінесе жүйке жүйесінің зақымдануынан басталады. Науқастардың өмір сүру ұзақтығы 24 айдан аз. Нөл-клеткалық ЖЛЛ шамамен 70% жағдайды құрайды. Бұл ЖЛЛ түрінде клеткалар перифериялық Т- және В-лимфоциттердің детерминанттарынан айырылған, бірақ В-клеткаларға тән Ia-антигені көп. Пре-Т-клеткалық ЖЛЛ лейкоздың сирек түрі болып табылады, ол барлық ЖЛЛ жағдайларының 2-5% құрайды. Пре-Т-клеткалық ЖЛЛ-дің клиникалық ағымы Т-клеткалық ЖЛЛ-ден іс жүзінде айырмашылығы жоқ, алайда, бұл нұсқадағы болжам Т-клеткалық нұсқамен салыстырғанда сәл жақсырақ [95]. Созылмалы лимфобласттық лейкоз көбінесе 50 жастан асқан адамдарда дамиды және өте ұзақ уақытқа созылады. Бұл лимфа ұлпасының онкологиялық ауруы, онда ісік лимфоциттері перифериялық қанда, сүйек кемігінде, лимфа түйіндерінде, бауырда және көкбауырда жиналады. Жедел лейкоздардан айырмашылығы, ауру баяу дамиды, сондықтан қан түзілуінің бұзылуы аурудың дамуының кеш сатыларында ғана дамиды. Көбінесе СЛЛ-дің алғашқы симптомы лимфа түйіндерінің ұлғаюы болып табылады. Көкбауырдың айтарлықтай ұлғаюы (кейде бірнеше кг-ға дейін) нәтижесінде іште ауырлық сезімі пайда болуы мүмкін. Науқастар жиі айтарлықтай жалпы әлсіздік сезінеді, салмақ жоғалтады,

оларда жұқпалы аурулардың даму жиілігі жоғарылайды. Аурудың шамамен 25% жағдайында басқа себеппен (диспансеризация, гематологиялық емес ауру бойынша тексеру) тағайындалған қан талдауында кездейсоқ анықталады. Ауру дамыған сайын лейкоцитоз біртіндеп артады, ол жылдар бойы емделмей кейде үлкен сандарға жетеді, сонымен қатар лейкоцитарлық формуладағы лимфоциттердің саны біртіндеп 75-85-99% дейін артады. Жетілген формалар басым, бірақ әдетте 5-10% пролимфоциттер және жиі 1-2% лимфобласттар анықталады. Аурудың ерте кезеңдерінде эритроциттер мен тромбоциттердің саны жиі қалыпты, ал жоғары лейкоцитоз және айтарлықтай лимфоцитоз кезінде әдетте патологиялық лимфоциттердің сау өскіндерді ығыстыруы немесе аутоиммундық асқынулардың қосылуы салдарынан төмендейді.

Қазіргі заманғы критерийлерге сәйкес, 1989 жылы Халықаралық жұмыс кеңесінде бекітілген, СЛЛ диагнозын қою үшін үш белгі болуы қажет: 1) қандағы лимфоциттердің абсолютті саны $10,0 \cdot 10^9/\text{л}$ -ден асуы; 2) сүйек миының пункциясында 30%-дан астам лимфоциттердің анықталуы; 3) лейкемиялық лимфоциттердің В-клеткалық клонының иммунологиялық расталуы. В-клеткалық иммунфенотип СЛЛ-мен ауыратын науқастардың 95-98%-ында анықталады, тек 2-5% жағдай Т-клеткалық ауру нұсқасына тиесілі, бірақ бұл қатынастар тек Еуропа мен Солтүстік Америка елдеріне қатысты. Азия елдерінде, атап айтқанда Жапония мен Қытайда, Т-клеткалық СЛЛ басым [96]. Еуропа және Солтүстік Америка елдерінде СЛЛ барлық лейкоздардың шамамен 30%-ын құрайды [97]. Бұл елдерде СЛЛ-мен жыл сайынғы аурушандық 100 мың адамға 3-3,5, ал 65 жастан асқан адамдар арасында 100 мың адамға дейін 20-ға жетеді [98].

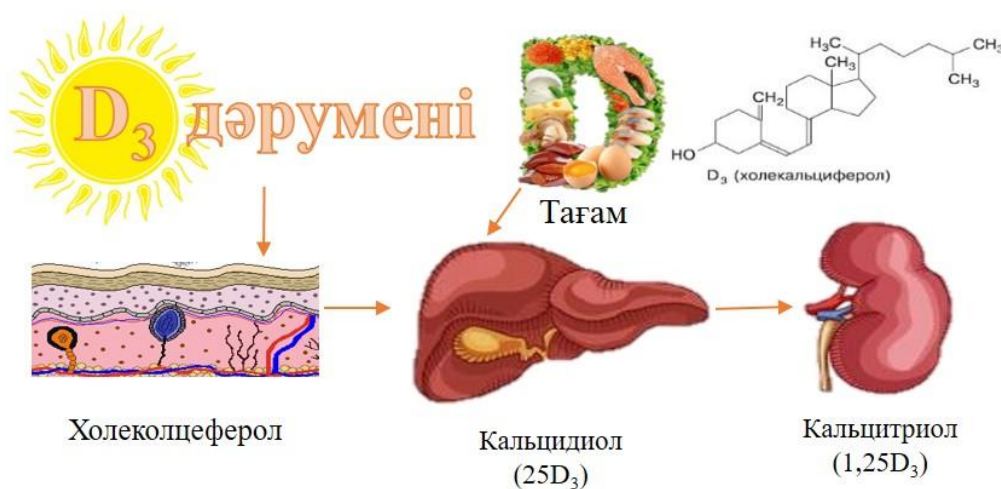
1.3 D дәруменінің белсенді метаболиттері мен туындыларының терапевтік потенциалы және олардың ісікке қарсы әсері

D дәрумені (кальциферол) майда еритін секостероидты прогормон болып табылады [99]. Барлық басқа дәрумендерден айырмашылығы, D дәрумені – деген атау бұл терминнің классикалық мағынасында ғана, алайда ол дәрумен болып табылмайды, себебі ол биологиялық тұрғыдан белсенді емес, организмдегі екі сатылы метаболизм арқылы белсенді – гормондық формаға айналады және көптеген ұлпалар мен органдардың клетка ядроларында орналасқан арнайы рецепторлармен өзара әрекеттесу арқылы әртүрлі биологиялық әсерлер көрсетеді. Осы тұрғыдан алғанда, D дәруменінің белсенді метаболиті шынайы гормон сияқты әрекет етеді, сондықтан ол D-гормон деп аталады. Дегенмен, тарихи дәстүрге сәйкес, ғылыми әдебиетте оны D дәрумені деп атайды [100].

Табиғатта D дәрумені екі негізгі формада қолжетімді: D₂ дәрумені, яғни эргокальциферол және D₃ дәрумені – холекальциферол. D₂ дәрумені өсімдіктерде, ашытқыларда және саңырауқұлақтарда синтезделеді, ал D₃ дәрумені жануарлардан алынады [101-102]. D₂ дәрумені эргостеролдан алынады, ол ультракүлгін сәулесінің әсерінен виостеролға айналады, содан

кейін эргокальциферолға айналады. Бұл формада D_2 дәрумені тағаммен және тағамдық қоспалармен бірге қабылдануы мүмкін. Ал D_3 дәрумені Ультракүлгін сәулесінің (290–320 нм) теріге әсер етуі нәтижесінде 7-дегидрохолестеролды (DHCR7) продәрумен D_3 -ке (1,25-дигидроксихолекальциферол немесе кальцитриол) айналдырады, ол D_3 дәруменіне изомерленеді [103].

Қазіргі уақытта D дәруменінің 50-ден астам метаболиттерінің бар екендігі анықталды. Алайда, тек екі D_3 дәруменінің метаболиттері – атап айтқанда, 25-гидроксивитамин D_3 (« $25(OH)D_3$ » немесе жай ғана « $25(OH)D$ ») және 1,25-дигидроксивитамин D_3 (« $1,25(OH)_2D_3$ » немесе « $1,25(OH)2D$ »), зерттеушілердің ең көп назарын аударуда [104]. Ең биологиялық белсенді D дәрумені $1,25(OH)_2D_3$, яғни кальцитриол болып табылады. Кальцитриол холекальциферолдан (оны дұрыс айтқанда про-дәрумен D деп атау керек) екі кезеңде синтезделеді, ал D дәруменінің негізгі биотрансформация процестері теріде, бауырда және бүйректе жүреді. Теріде, УФ-сәулеленудің әсерінен, 7-дегидрохолестеролдан D_3 дәрумені (холекальциферол) түзіледі. Сонымен қатар, холекальциферол тағаммен бірге организмге түседі. Бауырдың купфер клеткаларында D_3 дәрумені гидроксилденіп, 25-гидроксивитамин D_3 -ке айналады, бұл процесс 25-гидроксилаза (CYP3A4) ферменті арқылы жүзеге асады. Қандағы осы метаболиттің деңгейі организмнің D дәруменімен қамтамасыз етілуінің стандартты биомаркері болып табылады (Сурет 1).



Сурет 1 – D_3 дәруменінің организмдегі матаболизмі

Бүйректерде, олардың қалыпты жұмыс істеуінде, $25(OH)D_3$ 1,25-диоксихолекальциферолға ($1,25(OH)D_3$), дәруменнің ең белсенді түріне, 1 альфа-гидроксилаза (CYP27B1) ферменті арқылы айналады. Бұл белсенді дәрумен түрі қан айналымында дәрумен-D-байланыстырушы ақуыз VDBP арқылы тасымалданады. VDR рецептор молекуласы дәрумен-байланыстырушы және ДНҚ-байланыстырушы домендерді қамтиды. VDR-ге тән ДНҚ-байланыстырушы доменнің құрылымдық ерекшеліктері VDR-дің ДНҚ-ның белгілі бір учаскелерімен, «дәрумен-D-реагирлеуші элементтер»

(VDRE) деп аталатын, өзара әрекеттесу мүмкіндігін анықтайды. 1,25(OH)₂D (кальцитриол) мақсатты ұлпалардың клеткаларындағы рецептормен байланысады. Кальцитриолдың дәрумен D рецепторына (VDR) 100 есе жоғары жақындығы бар, кальцидиол, 25(OH)D-мен салыстырғанда. VDR рецепторы адам организмінің барлық дерлік ұлпаларында кездеседі. Басқа ұлпалармен салыстырғанда, VDR экспрессиясының жоғары деңгейлері миелоидты клеткаларда, тері клеткаларында, тоқ ішекте және бүйрек үсті безінің қыртысында табылған [105].

D дәруменінің организмдегі рөліне деген қызығушылық оның ашылған кезінен бастап тұрақты түрде өсіп келеді, және оның кальциймен байланысты белгілі функцияларынан басқа [106], D дәрумені мен оның метаболиттері ісік клеткаларына *in vitro* антипролиферативті, пролифференцирлеуші және иммуномодуляциялық әсер етуі мүмкін екендігі туралы дәлелдер көбейіп келеді, сондай-ақ ісіктің өсуін *in vivo* баяулатуы мүмкіндігі жайлы бірқатар зерттеулер жүргізілген [107]. D дәрумені өзінің әсерімен физиологиялық реакциялардың кең ауқымын тудырады, классикалықтан бастап, сүйек морфогенезі және иммундық функция сияқты неклассикалық әрекеттерге дейін. Көптеген зерттеулерде белсенді гормондық форма – кальцитриолдың антипролиферативті, проапоптотикалық, антиангиогендік әсерлері сипатталады, олар оның ісікке қарсы белсенділігін арттырады.

Біздің D дәруменін түсінуіміз соңғы жылдары айтарлықтай жақсарды. D дәруменінің кальций мен фосфат гомеостазын қолдаудағы архетиптік рөлі, олар сүйек морфогенезі мен ремоделдеу үшін қажет екендігі қазіргі уақытта жақсы белгілі. Алайда, соңғы онжылдықта D дәруменінің белсенді формасының (1,25-дигидроксивитамин D) сүйектен басқа ұлпаларға әсері белсенді зерттелуде. D дәруменінің рецепторы (VDR) барлық жерде экспрессияланатынының көрсетілуі, сарысудағы 25-гидроксивитамин D деңгейі мен созылмалы метаболикалық бұзылулар, жүрек-қан тамырлары аурулары және жаңа түзілістер арасындағы байланысты растайтын бақылау деректерінің көбеюімен бірге, оның жаңа анықтамасына әкелді. D дәрумені стероидты гормон ретінде жоғарыда аталған аурулардың алдын алу немесе оларды емдеу үшін оны қолдану тиімді болуы мүмкін. Қазіргі уақытта «гормон D дәруменінің» әртүрлі сүйексіз немесе классикалық емес әсерлері туралы жаңартылған деректер бар, және оның кейбір ауруларда алдын алу немесе терапиялық рөлі болуы мүмкін.

Көптеген эпидемиологиялық зерттеулер қан сарысуындағы 25-гидроксивитамин D (25(OH)D₃) деңгейлері мен тоқ ішек [108], сүт безі [109], қуық асты безі [110-111], асқазан және басқа да қатерлі ісік түрлерінің жоғары қаупі арасында кері корреляцияны анықтады. Сонымен қатар, клеткалар мен жануарлардағы зерттеулерден алынған сенімді дәлелдер бар, олар D дәруменінің ісікке қарсы әсерін растайды [112-114]. Эксперименттік бақылаулар D дәруменінің ісікке қарсы әсерлері негізінен клеткалардың пролиферациясы мен дифференциясы, өсу факторларының гендерінің экспрессиясы, сигнал беру және апоптоз сияқты маңызды биологиялық

функцияларға модуляциялық белсенділігімен байланысты екенін көрсетеді [115]. Апоптозды индукциялау D дәруменінің қатерлі ісік клеткаларының өсуіне қарсы әсер ететін қосымша маңызды механизм болып табылады.

Сондықтан, D₃ дәруменінің белсенді формасы ішекте кальцийдің сіңуіне ықпал етеді, клеткалық циклді реттеуге қатысады және иммундық жүйенің жұмысын оңтайландыруға көмектеседі, иммунитеттің Т-клеткаларының көбеюін тікелей модуляциялайды және әртүрлі клетка түрлеріне әсер еткенде антипролиферативті қасиеттерді көрсетеді [116]. Соңғы онжылдықтарда D дәруменінің әсері кальций мен сүйек метаболизмінен тыс екені анық болды. D дәрумені әртүрлі клеткалар мен ұлпаларға әсер етеді. Бұл нысандарға ісік клеткалары кіреді, және алынған нәтижелер D дәруменінің клетка өсуін реттеуге, қатерлі ісікті емдеуге және қатерлі ісік клеткаларының өсуін тежейтін күшті синтетикалық D дәрумені баламаларын әзірлеуге әсерін зерттеуге арналған кең ауқымды зерттеулер сериясына әкелді [117]. Эксперименттік және клиникалық бақылаулар D дәрумені және оның баламалары қатерлі трансформацияның алдын алуда және/немесе адамның әртүрлі ісік түрлерінің, соның ішінде сүт безі қатерлі ісігі, қуық асты безі қатерлі ісігі, колоректальды қатерлі ісік және кейбір гематологиялық қатерлі ісіктердің прогрессиясында тиімді болуы мүмкін екенін болжауға мүмкіндік береді. Мұндай нәтижелер бұл молекулаларды жаңа әлеуетті химиофилактикалық және ісікке қарсы агенттер ретінде клиникалық қолдану мүмкіндігін ұсынады [118]. Осылайша, қатерлі ісіктерді тиімді емдеу үшін D₃ дәрумені ұсынатын терапиялық араласу жолдарын қарастыру қажет, болашақта аралас емдеу әдістерін зерттеу қатерлі ісіктерді емдеуді ілгерілету үшін маңызды болады.

Осылайша, бірқатар ғылыми зерттеулер бұл дәруменнің бірнеше механизм арқылы қатерлі ісік клеткаларының өсуін тежеуге және олардың таралуын шектеуге ықпал ететінін көрсетеді. Соның бірі клеткалық циклды реттеу, яғни D₃ дәрумені қатерлі ісік клеткаларында циклді реттейтін ақуыздарға әсер етеді, бұл клеткалардың бөлінуін бәсеңдетеді. Кальцитриол G1 кезеңіндегі тоқтауды тудырады, бұл клеткалардың шамадан тыс бөлінуін тоқтатады. Келесі бір қасиеті, апоптозды ынталандырады, яғни кальцитриол қатерлі ісік клеткаларының бағдарламаланған өлімін (апоптозды) күшейтеді. Бұл механизм сау ұлпаларды зақымдамай, ісік клеткаларын жоюға бағытталған. Апоптозды күшейтетін ақуыздардың (мысалы, BAX) белсенділігі артып, антиапоптоздық ақуыздар (мысалы, BCL-2) төмендейді. Келесі бір әсері – ангиогенезді (қан тамырларының түзілуін) тежеу, яғни қатерлі ісік клеткаларының өсуі үшін жаңа қан тамырлары қажет. Ал D₃ дәрумені бұл процесті тежеп, ісіктің қоректенуін азайтады. Бұл VEGF (vascular endothelial growth factor) секілді ангиогенездік факторлардың экспрессиясын төмендету арқылы жүзеге асады. Тағы бір әрекеті – D₃ дәрумені қабынуды төмендету арқылы ісікке қолайлы ортаны жоюға көмектеседі. Ол қабынуға ықпал ететін цитокиндердің (мысалы, TNF- α , IL-6) деңгейін төмендетеді. Сонымен қатар, ісікке қарсы күресуде маңызды

әрекеттердің бірі ол – метастаздың алдын алу. Кальцитриол қатерлі ісік клеткаларының жылжуын (миграциясын) және басқа ұлпаларға енуін шектейді, бұл метастаздың алдын алуға көмектеседі. Бұл процесс клеткааралық байланыс пен адгезияны жақсарту арқылы жүзеге асады. Келес бір қасиеті – ДНҚ тұрақтылығын сақтау, яғни D₃ дәрумені ДНҚ зақымдалуын азайтып, генетикалық тұрақтылықты сақтауға ықпал етеді, бұл қатерлі ісіктің алдын алуға көмектеседі.

1.4 Табиғи полифенолдардың емдік қасиеттері және олардың ісікке қарсы әсері

Дәрілік өсімдіктерді тиімді пайдалану – бұл қазіргі заманғы медицинада табиғи ресурстарды қолдану арқылы терапевтикалық және профилактикалық мақсаттарға қол жеткізуді оңайлатады. Оларды орынды әрі дұрыс қолдану денсаулыққа пайдасын тигізеді және химиялық препараттармен салыстырғанда жанама әсерлері аз болып келеді [119].

Полифенолдар табиғи шығу тегі бар суда еритін органикалық қосылыстар тобы болып табылады. Олар өсімдіктерде кең таралған екінші реттік метаболиттердің әртүрлі тобын құрайды, мұнда олар өсу, метаболизмді реттеу, ультракүлгін сәулеленуден және әртүрлі патогендерден қорғауда маңызды рөл атқарады [120]. Бұл табиғи өсімдік компоненттеріне ерекше қызығушылық жаңа химиопрофилактикалық құралдарды іздеумен байланысты болды, олар дәстүрлі емдеу әдістеріне қарағанда тиімдірек және аз уытты. Полифенолдар тобы клеткалық пролиферацияны, ісік өсуін, ангиогенезді, метастазды, қабынуды және апоптозды модуляциялау сияқты антиканцерогендік қасиеттерге ие болу мүмкіндігі зерттелді [121]. Жоғарыда атап өткендей, қазіргі таңда полифенолдардың 8000-нан астам түрі анықталған, бірақ оларды негізгі 5 топқа бөлуге болады: 1-ші – Флавоноидтар: радикалдарды жоюға және қабыну реакцияларына ықпал етуі мүмкін. Олар негізінен жемістерде, көкөністерде, бұршақ тұқымдастарда, қызыл шарапта және жасыл шайда кездеседі. Бұдан әрі олар бірнеше топтарға бөлінеді, атап айтқанда флавоңдар, флавонолдар, флаванондар, изофлавоңдар, антоцианидиндер, халкондар және катехиндер. 2-ші – Стилбендер: олар күріш өнімдерінде, қызыл шарапта және жержаңғақта кездеседі. Ресвератрол осы топтағы ең танымал қосылыс болып табылады. 3-ші – Лигнандар: олар тұқымдарда, мысалы, зығыр, зығыр тұқымы, бұршақ тұқымдастар, дәнді дақылдар, жемістер, балдырлар және кейбір көкөністерде кездеседі. 4-ші – Фенол қышқылдары: бұл полифенолдар гидроксibenзой қышқылдары және гидроксикоричная қышқылдарына бөлінеді. Түрлері: галлик қышқылы, хлороген қышқылы, кофеин қышқылы. 5-ші – Таниндер: бұл үлкен молекулалы полифенолдар, негізінен дәмнің тартылығын береді. Шай, жаңғақ қабығы, емен бөшкесінде сақталған шарапта кездеседі.

Адам организмінде полифенолдар антиоксиданттар болып табылады және әртүрлі биологиялық қасиеттерге ие, мысалы, антидиабеттік [122],

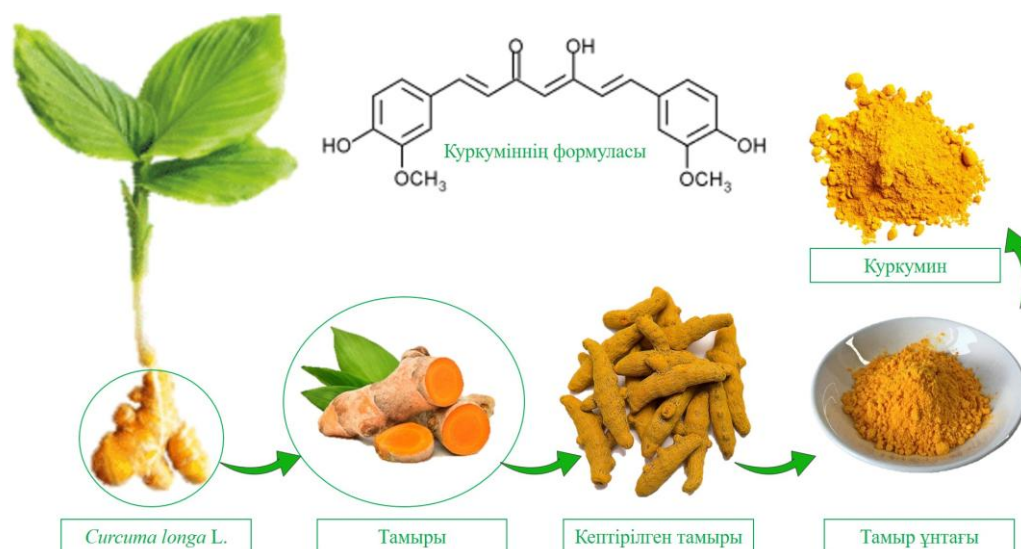
қатерлі ісікке қарсы [123], қабынуға қарсы [124], кардиопротекторлық [125], остеопротекторлық [126-127], нейропротекторлық [128-129], астмаға қарсы [130], антигипертензивтік [131], қартаюға қарсы [132], цереброваскулярлық қорғау [133], холестерин деңгейін төмендету [134], гепатопротекторлық [135], антибактериалдық [136] және антиаллергиялық қасиеттері бар [137] (Сурет 2).



Сурет 2 – Полифенолдардың организмдегі рөлдері.

Өсімдік тектес полифенолдар, мысалы, куркумин, карнозин қышқылы, эпигаллокатехин галлаты немесе ресвератрол, зертханалық және клиникалық зерттеулерде қатерлі ісікке қарсы белсенділігі бойынша кеңінен зерттелген. Әдеби деректерге сүйене отырып, полифенолдық қосылыстардың қатерлі ісік клеткаларына әсері туралы, табиғи полифенолдардың ісікке қарсы қолдануға үлкен әлеуеті бар екенін айта кетуге болады [138]. Полифенолдарды қолданыстағы химиотерапиялық құралдармен дұрыс үйлестіру, химиотерапиялық әсерлерді азайтпай, жанама әсерлерді азайтуға әкеледі. Сондай-ақ, табиғи полифенолдар қан рагын химиопрофилактикада қолдануға болашағы зор, себебі олар қауіпсіз және арзан болып табылады. Қазіргі таңда бірқатар зерттеу жұмыстары кейбір полифенолдардың жануарлар организмiне тигізетін әсері әлі де зерттелуде [139].

Куркума (*Curcuma longa* L.) – зiмбiр тұқымдасына (Zingiberaceae) жататын өсімдік, оның емдік қасиеттері үшін танылған. Куркума әртүрлі ауруларды емдеуде 2500 жылдан астам уақыт бойы негізінен Азия елдерінде кеңінен қолданылғаны айтылады. Куркума шамамен 70 % көмірсулар, 13 % ылғал, 6 % ақуыз, 6 % эфир майлары, 5 % май, 3 % минералдар, 3–5 % куркуминоидтар және дәрумендердің iздік мөлшерін қамтиды. *Curcuma longa* L. көпжылдық өсімдігінің белсенді компоненті – куркумин, ол өсімдіктің тамырында болады [140].



Сурет 3 – Куркуминді алу және оның химиялық құрылымы.

Куркумин алу үшін өсімдіктің тамырын кептіріп, ұнтаққа айналдырады, содан кейін алынған ұнтақты 95% этанолда бір тәулік бойы ұстап, сүзгіден өткізіп, кептіреді, нәтижесінде куркумин алынады (Сурет 3). Куркуминнің айқын сары түсі бар, суда нашар ериді, бірақ спиртке және диметилсульфоксидте (ДМСО) оңай ериді. Куркуманың сары түсті бөлігінде куркуминоидтар бар, олар оның негізгі ингредиенті – куркуминмен химиялық байланысқан. Куркумада кездесетін негізгі куркуминоидтар – куркумин, диметоксикуркумин, бисдиметоксикуркумин болып табылады.

Клиникаға дейінгі [141] және клиникалық зерттеулердің нәтижелері куркуминнің әртүрлі ісік ауруларының түрлерінде, мысалы, лимфомалар, көптік миелома, меланома, тері рагы, өкпе, қуық асты безі, сүт безі, аналық бездер, қуық, бауыр, асқазан-ішек жолдары және ұйқы безі сияқты химиотерапиялық потенциалын көрсетті [142]. Куркуминнің ісікке қарсы қасиеттері бар екені зерттелген, бірақ бұл зерттеулердің көпшілігі *in vitro* жүргізілген. Бұл зерттеулер куркуминнің клеткалардың пролиферациясын тежейтінін және клеткалық циклдің тоқтауын, апоптозды және қартаюды тудыратындығын - әртүрлі механизмдер арқылы, әртүрлі рак клеткалық желілеріне әсер ететінін болжайды [143]. Куркуминнің көптеген ферменттердің, транскрипция факторларының, қабыну цитокиндерінің, өсу факторларының және рақтың өсуі мен дамуы үшін маңызды басқа да клеткалық сигнализация компоненттерінің экспрессиясын азайтатыны туралы зерттеу деректері болды. Куркуминнің терапиялық әсерлері көп зерттелді және бүгінгі күнге дейін оның фармакологиялық белсенділігінің кең ауқымы ұсынылды. Куркумин антимикробтық, қабынуға қарсы, антиатеросклеротикалық [144], антиоксиданттық, ангиогендік және ісікке қарсы белсенділікке ие [145-149]. Куркумин клеткалық пролиферация, апоптоз [150], аутофагия [151], ангиогенез, иммундық жауап, инвазия және

метастандану [152-155] сияқты канцерогендік сигналдық жолдарға транскрипция факторлары, рецепторлар, киназалар, цитокиндер, ферменттер және өсу факторлары арқылы әсер етеді [156].

Антиоксиданттық және қабынуға қарсы қасиеттер куркуминнің әртүрлі жағдайларға әсерін түсіндіретін екі негізгі механизм болып табылады. Куркуминнің жүйелік оксидативті стресс маркерлерін жақсартатыны көрсетілген. Кез келген организмнің тіршілік әрекетінде клеткалар мен клеткааралық кеңістікте ең әмбебап процестердің бірі – бос радикалдардың түзілуі жүреді. Шын мәнінде, қабыну клеткалары қабыну орнында реактивті түрлердің бірқатарын босатып, оксидативті стресске әкелетіні белгілі, бұл оксидативті стресс пен қабыну арасындағы байланысты көрсетеді. Оксидативті стресс параметрлері бойынша тазартылған куркуминоидтар қоспаларының тиімділігіне қатысты бақылау деректерінің жүйелі шолуы және мета-анализі куркуминоидтарды қосудың оксидативті стресс параметрлерінің барлығына, соның ішінде плазмалық супероксиддисмутаза (СОД) және каталаза белсенділігіне, сондай-ақ сарысудағы глутатионпероксидаза және липидті пероксидтер концентрациясына айтарлықтай әсерін көрсетті. Куркуминнің бос радикалдарға әсері бірнеше түрлі механизмдер арқылы жүзеге асады. Ол реактивті оттегі және азот сияқты бос радикалдардың әртүрлі түрлерін жинай алады; ол глутатионпероксидаза, каталаза және СОД ферменттерінің белсенділігін модуляциялай алады, олар бос радикалдарды бейтараптандыруда белсенді; сонымен қатар ол липоксигеназа/циклооксигеназа және ксантингидрогеназа/оксидаза сияқты ОАФ-генерациялайтын ферменттерді тежей алады. Куркуминнің қабынуды әртүрлі механизмдер арқылы басатыны көрсетілген, осылайша ол өзін қатерлі ісікке және қабынуға қарсы әлеуетті құрал ретінде танытты.

Осылайша, әдебиетте жарияланған, дәлелді медицина талаптарына сәйкес келетін деректер, полифенолдарға бай куркуманың, атап айтқанда куркуминнің, организмдегі патологиялық бөліну процестеріне, әсіресе онкологиялық процестерге жағымды әсерін растайды. Бұл полифенолды қосылыстың клеткалық әрекет ету механизмін зерттеу онкологияда қолдануға бағытталған және ЖМЛ терапиясының тиімділігін арттыру үшін үміт күттіретін стратегия болып табылады.

1.5 D дәруменінің белсенді метаболиттері мен өсімдік тектес полифенолдардың комбинациясының антилейкемиялық әсері

ЖМЛ көптеген науқастар үшін тиімді емі жоқ ең өлімге әкелетін гематологиялық қатерлі ісіктердің бірі болып табылады [157]. ЖМЛ ересектердегі ең жиі кездесетін жедел лейкоз болып табылады және сүйек кемігінде жоғары пролиферативті жетілмеген лейкоздық клеткалардың жиналуымен сипатталады, бұл қалыпты гемопоэзді басады [158]. ЖМЛ-мен ауыратын жас науқастардың 50–70%-ы цитотоксикалық химиотерапиядан

кейін толық ремиссияға жеткенімен, олардың көпшілігінде рецидив және өлім күтіледі [159]. Сонымен қатар, ЖМЛ-мен ауыратын науқастардың көпшілігін құрайтын егде жастағы адамдар, негізінен, қарқынды цитотоксикалық терапияға жарамсыз [160]. Сонымен қатар, жалпы уыттылығының жоғары болуына байланысты стандартты агрессивті емдеу егде жастағы адамдар үшін көбінесе қолайсыз [161]. ЖМЛ емдеуге арналған жаңа қосылыстардың бірқатары әзірленгеніне карамастан, олардың көпшілігі клиникалық сынақтардан өтпеді және соңғы 40 жылда ЖМЛ емдеуге арналған жаңа дәрі-дәрмек мақұлданған жоқ [162]. Белгілі болғандай, D дәруменінің белсенді түрі, $1\alpha,25$ -дигидроксивитамин D_3 ($1,25D_3$), моноциттер/макрофагтардың дифференцировкасын және ЖМЛ клеткаларының әртүрлі қосалқы түрлерінің өсуін тоқтатудың жақсы индукторы болып табылады [163-164], бірақ бұл әсерлер $1,25D_3$ -тің физиологиялық емес концентрацияларында байқалады, олар *in vivo* өмірге қауіпті гиперкальциемияны тудырады. Бүгінгі күнге дейін $1,25D_3$ және $1\alpha,25$ -дигидроксивитамин D_2 ($1,25D_2$) көптеген баламалары синтезделді және олардың кейбіреулері бастапқы қосылыстарына қарағанда кальциемияға аз әсер ететіні анықталды. Дегенмен, клиникалық сынақтардан өткен баламалар сенімді ісікке қарсы әсерлерді көрсетпеді, бұл, кем дегенде, ішінара олардың кальциемиялық уыттылықтың дозасын шектеуімен байланысты [163-165]. Бұл мәселенің бір шешімі $1,25D_3$ -ті төмен, уытты емес концентрацияда қолданғанда клеткалардың дифференцировкасын күшейте алатын қосылыстарды пайдалану болуы мүмкін [166]. Даниленко М. және т.б. зерттеулері карнозин қышқылы және куркумин сияқты әртүрлі өсімдік полифенолды антиоксиданттары ЖМЛ клеткаларының D дәруменінің әртүрлі туындыларына (VDD), соның ішінде $1,25D$, $1,25D_2$ және олардың синтетикалық туындыларына төмен концентрацияларда сезімталдығын арттыра алатынын көрсетті [163, 166-174]. Сонымен қатар, зерттеушілер розмарин экстрактісінің препараттарымен және $1,25D_3$ -пен біріктірілген емдеу жануар модельдерінде гиперкальциемияны тудырмай, антилейкемиялық әсерлерге әкелетінін көрсетті [175]. Полифенолдардың ЖМЛ клеткаларының VDD-индукцияланған дифференцировкасын күшейту механизмдері әлі толық анықталған жоқ. Бұрынғы зерттеулер бұл агенттердің ЖМЛ клеткаларындағы дифференцировка блогын жеңуде Nuclear Factor- κ B транскрипциялық факторын тежеу рөлін болжаған [176-177], және ғалымдар полифенолдардың клеткаларды сезімталдандыру әсері Raf-MEK-ERK1/2 [178] және JNK-AP-1-Egr-1 [179] MAPK-байланысты жолдарының активациясымен байланысты екенін анықтады.

Белгілі болғандай, полифенолдар әртүрлі қатерлі клеткаларға күшті антипролиферативті және цитотоксикалық әсер етеді, клеткалық жолдарға әсер ете отырып [180-183]. Алайда, жеке қолданылғанда бұл агенттер әдетте жоғары микромолярлық концентрацияларда тиімді болады [184-186]. Сонымен қатар, полифенолдардың ауыз арқылы қабылдағанда биожетімділігі мен биотаралуы нашар, сондықтан олардың фармакологиялық әсерлері кеміргіштердегі рак модельдерінде адам қолдануына сәйкес келмейтін

дозаларда көрінеді [187]. Сондықтан, полифенолдардың фармакологиялық тиімді концентрацияларын төмендету және олардың мүмкін болатын жанама әсерлерін азайту тәсілдерінің бірі - бұл қосылыстардың басқа ісікке қарсы агенттермен, сондай-ақ бір-бірімен өзара әрекеттесу қабілетін пайдалану, бұл *in vitro* және *in vivo* әртүрлі модельдерді қолдана отырып жүргізілген зерттеулерде көрсетілген [188-190]. Зерттеулер көрсеткендей, карнозин, куркумин және силибинин төмен концентрацияларда D дәруменінің белсенді туындыларымен күшті синергияға түсе алады, бұл адам [191] және тышқан [192] клеткалық желілерінде ЖМЛ және ЖМЛ бар пациенттердің лейкемиялық бласттарында клеткалардың күшейтілген дифференциясы мен өсуін тоқтатуға әкеледі. Ілгерідегі зерттеулер, карнозинға бай розмариннің стандартталған экстракты және кальцийі төмен D дәруменінің баламаларымен комбинацияланған терапиялық емдеу сингендік тышқан ЖМЛ модельдерінде айтарлықтай уыттылықсыз күшті бірлескен антилейкемиялық әсерге әкелді [193]. Сондай-ақ куркумин және карнозин әр қосылыстың төмен концентрацияларында күшті өзара әрекеттесе алатынын, ЖМЛ клеткаларында, бірақ қалыпты гемопоэтикалық клеткаларда емес, кальций арқылы делдалданған апоптозды синергетикалық түрде индукциялайтынын және ксенотрансплантатты тышқан ЖМЛ моделінде аурудың дамуын тежейтіні хабарланған [194]. Экспериментте өсімдіктің фенолдық қосылыстары төмен дозаларда бір-бірімен өзара әрекеттесу қабілетін көрсете отырып, қатерлі ісікке қарсы әсер берді. Бұл осы агенттерді ракқа қарсы дәрі ретінде әзірлеуде нашар биожетімділік және жоғары дозалардың уыттылығы сияқты шектеулерді жеңе алады.

Осылайша, жоғарыда келтірілген деректер өсімдік полифенолдарын VDD негізіндегі ЖМЛ дифференцировкалық терапиясында сенсibilизаторлық адъюванттар ретінде қолданудың болашағы бар екенін растайды. Сонымен қатар, онкотерапияда табиғи биоактивті қосылыстарды пайдалану соңғы уақытта зерттеушілердің назарын көбірек аударып отырған қатерлі ісікті емдеудің жаңа бағыты болып табылады.

2 ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ

2.1 Лейкоздық клетка өсіндісі және оларды *in vitro* зерттеу әдісі

Адамның жедел миелоидты лейкоз (ЖМЛ) HL60 клеткалық линиясы (миелобластикалық лейкоз) Негевтегі Бен-Гурион университетінің (Беэр-Шева, Израиль) Денсаулық сақтау ғылымдары факультеті, Клиникалық биохимия және фармакология кафедрасының зертханасынан алынды. Бастапқыда HL60 клеткалары сұйық азотта (N₂) мұздатылған күйде сақталды, материалды қолданар алдында ерітілді. Клеткалар 10% FCS, пенициллин (100 U/мл), стрептомицин (0,1 мг/мл) және 10 mM HEPES (2-(4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинил)-этансульфон қышқылы, рН=7,4) қосылған RPMI 1640 ортасында 37°C инкубаторда (95% ауа және 5% CO₂) ылғалды атмосферада өсірілді. Клеткалар 1-8×10⁶ клетка/мл мөлшерінде егілді, және оларды 1,25D₃ және куркуминмен өңдеу әдістері келесі бөлімшелерде (Бөлімше 2.1.2 және 2.1.3) баяндалған. Бақылау клеткалары еріткішпен (этанол және ДМСО) өңделді.

2.1.1 Химиялық реагенттер

RPMI 1640 қоректік ортасы және ірі қара ұрығының сарысуы (fetal bovine serum; FBS) Gibco by life technologies өндірушісінен (Нью-Йорк, АҚШ) алынды. 1,25D₃ Негевтегі Бен-Гурион университетінің (Беэр-Шева, Израиль) Денсаулық сақтау ғылымдары факультеті, Клиникалық биохимия және фармакология кафедрасының зертханасынан алынды. Куркумин (КУР) Cayman Chemicals компаниясынан (Энн-Арбор, Мичиган, АҚШ) алынды. Арнайы моноцитарлық беттік CD14 маркеріне арналған антиденелер Sigma-Aldrich (Реховот, Израиль) компаниясынан алынды.

2.1.2 Ағындық цитометрия әдісі арқылы HL60 клеткаларының дифференция маркерін анықтау

1,25D₃ HL60 клеткаларын дифференциялаушы белсенділігін зерттеу үшін арнайы моноцитарлық беттік маркер – CD14 экспрессиясын ағынды цитометрия әдісі арқылы анықтадық. Бұл әдіс дифференция кезінде пайда болатын клеткалардың бетіндегі және ішіндегі маркерлердің экспрессиясының өзгерістерін сандық және сапалық бағалауға мүмкіндік береді.

1,25D₃ тым жоғары концентрациясы цитоуытты болуы мүмкін. Сондықтан да, біз алдын ала дозалық сынақтар жүргіздік. Яғни, HL60 клеткаларының дифференциясын өзара салыстырмалы түрде зерттеу үшін, ең алдымен 1,25D₃ оңтайлы концентрациясын анықтадық. Зерттеулер бойынша, 1,25D₃ HL60 клеткаларын дифференциялаушы негізгі концентрациялар – 0,5 нМ, 1 нМ, 2,5 нМ, 5 нМ, 10 нМ және 25 нМ болған. Аталған керекті концентрацияларды пайдалану үшін ең бірінші 100 мкМ концентрациялы 1,25D₃ дайындалды. Бұл

келесі түрде жүзеге асырылды: бастапқы $1,25D_3$ концентрациясы – $(C1) = 186$ мкМ. $1,25D_3$ көлемі $(V1) = 185,5$ мкл. Этанол көлемі $(V1) = 159,5$ мкл. $1,25D_3$ мен этанолды араластырдық – концентрация $(C2) = 100$ мкМ. Жалпы көлем (этанол+ $1,25D_3$) $(V2) = 345$ мкл. Нәтижесінде – 100 мкМ = бұл $100\ 000$ нМ (Кесте 2).

Кесте 2 – $1,25D_3$ концентрациясы

Қорда $1,25D_3$		Финалдық $1,25D_3$	
$C1$ (мкМ)	$V1$ (мкл)	$C2$ (мкМ)	$V2$ (мкл)
186	185.5	100	345
Этанол	159.5		

100 мкМ концентрациядағы $1,25D_3$ -тен әртүрлі концентрацияларды ($0,5$; 1 ; $2,5$; 5 , 10 және 25 нМ) дайындау:

1. 100 мкМ концентрациядағы $1,25D_3$ мұздатқыштан шығарып, штативке қоямыз.

2. 15 мл түтікке 2 мл этанол жинаймыз.

3. 7 таза эпиндорф аламыз және оларды дозаларға сәйкес белгілейміз.

4. Кестеге сәйкес этанол мөлшерін дозатор арқылы алып, эпиндорфтарға құямыз.

5. Дозаторды пайдаланып, кестеге сәйкес $1,25D_3$ -тің мөлшерлерін алып, эпиндорфтарға этанолға құямыз.

6. Барлық эпиндорфтарды лабораториялық миксерде жақсылап араластырамыз.

7. $1,25D_3$ ерітіндісі дайын, оны клеткалық суспензияға қосуға болады.

Әрі қарай, дайын болған $0,5$; 1 ; $2,5$; 5 , 10 және 25 нМ $1,25D_3$ -тің концентрацияларын клеткалық суспензиямен араластыру:

1. Инкубатордан клеткалары бар пластинаны аламыз.

2. Дозатор арқылы әртүрлі концентрациялардағы ($0,5$; 1 ; $2,5$; 5 , 10 және 25 нМ) $1,25D_3$ 2 мкл аламыз.

3. Клеткалық суспензияға қосамыз. Орнында аздап айналмалы қозғалыстармен араластырамыз.

4. Инкубаторға қоямыз.

5. 96 сағаттан кейін (4 күн) клеткаларды антиденемен таңбалауға кірісеміз.

Осы уақыт аралығында, HL60 клеткаларының дифференциясы жүреді. Клеткаларды инкубациялап дифференциялау – бұл негізгі лабораториялық тәжірибе және оның мақсаты клеткаларды дифференциялау арқылы олардың функционалдық өзгерістерін зерттеу болып табылады.

$1,25D_3$ -тің $0,5$; 1 ; $2,5$; 5 , 10 және 25 нМ концентрацияларының белсенділігін салыстырмалы анықтау үшін HL60 клеткаларын моноциттердің негізгі беттік маркері CD14-ті флуоресцентті бояумен конъюгирленген

антидене РЕ-мен (фикоэритрин) таңбалап алдық. Ол келесі тәртіппен жүргізілді: клеткалық суспензияны PBS-пен жуып, 1,5 мкл CD14 қосып, бөлме температурасында 45 минут инкубацияланды. Содан кейін клеткаларды мұздай PBS-пен 3 рет жуып, 1 мл PBS-те қайта суспензияланды. Клеткалардың дифференцировкасы CytoFLEX S (Beckman Coulter, Калифорния, АҚШ; Сурет 4) анализаторында ағынды цитометрия әдісімен [190] анықталды және ақпараттар Kaluza №2.1 бағдарламалық қосымшасын пайдалану арқылы өңделді.

2.1.3 Трипан көгімен бояу негізінде тірі және өлі HL60 клеткаларын санау және олардың өміршендігін анықтау

Клеткалардың өміршендігін анықтау әдісі – абсорбциялық трипан көгімен бояу негізінде жүзеге асырылады. Трипан көгі - өлі клеткалар мен ұлпаларды таңдаулы бояу үшін қолданылатын бояу. Бұл әдіс клетка мембраналарының өткізгіштігіне негізделген. Яғни, өлі клеткалардың мембранасы зақымдалғандықтан, олар трипан көгі бояуын бойына сіңіреді де көк түске боялады. Ал тірі клеткалардың мембранасы бояғышты өткізбейді, бұл оларды өлі клеткалардан ажыратуға мүмкіндік береді.

HL60 клеткаларының өміршендігін өз-ара салыстырмалы түрде зерттеу үшін алдымен куркуминнің оңтайлы концентрациясын анықтап алдық. Зерттеулер бойынша, куркуминнің HL60 клеткаларының антипролиферациялық әсер етуші негізгі концентрациялар – 1 мкМ; 2,5 мкМ; 5 мкМ және 10 мкМ болған. Аталған керекті концентрацияларды пайдалану үшін ең бірінші DMSO еріткіші арқылы 10 mM куркумин экстракты алынды (Сауман Chemicals, Энн-Арбор, Мичиган, АҚШ). Қараңғы бөлмеде куркумин экстрактына қажетті концентрациядағы DMSO қосып, олар дозаларына сәйкес (1; 2,5; 5; 10 мкМ) белгіленді. Барлық эпиндорфтарды миксерде жақсылап араластырылды. Дайын болған куркумин ерітіндісі клеткалық суспензияға қосылды.

Келесі, куркуминнің әртүрлі концентрациясымен өңделген клеткаларды трипан көгімен бояу үшін Vi-Cell XR Cell Viability Analyzer (Beckman Coulter, Калифорния, АҚШ) автоматтандырылған құрылғысы пайдаланылды (Сурет 5). Ол үшін, Vi-Cell XR құрылғысының бояуға арналған резервуарына 0,4% концентрациялы трипан көгі ерітіндісі құйылды. 1 мл HL60 клеткалық суспензиясы микрофальконға құйылып, құрылғының үлгі алу түтігі микрофальконға орнатылды. Құрылғы клеткаларды трипан көгімен өзі автоматты түрде бояуды бастайды. Нәтижесінде, клеткалардың жалпы саны, тірі клеткалар саны, өлі клеткалар саны және тіршілік қабілеттілігі (%) автоматты түрде есептеледі.

2.2 *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын фитохимиялық зерттеу әдісі

2.2.1 *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының фитокомпоненттерін сандық анықтау

Curcuma longa L. өсімдігінің тамыр ұнтағының ылғалдылығын және құрамындағы компоненттері: флавоноидтарын, илік заттарын, алкалоидтарын және сапониндерін анықтау үшін талдаулар жүргізілді.

***Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының ылғалдылығын тұрақты температурада кептіру әдісі арқылы анықтау.**

Массасы 1 г-ға жуық *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының үлгісін кептірілген және тұрақты салмағы бар бюксқа салып, 100-105⁰С температурада кептіру шкафына 30 минутқа қойылды. Содан кейін, бюкс салқындатылады және өлшенеді, ал кептіру тұрақты салмаққа дейін қайталанады (соңғы екі өлшеу арасындағы айырмашылық 0,1 г артық емес). Шикізаттың ылғалдылығы (X) пайызбен мына формуламен есептеледі:

$$X = \frac{(M - M_1)}{M} * 100$$

мұндағы,

M – шикізаттың бастапқы массасы, г;

M₁ – тұрақты салмаққа жеткізілген шикізат массасы, г.

Флавоноидтардың жалпы мөлшерін стандарт ретінде кверцетинді пайдалана отырып, алюминий хлориді колориметриялық әдісі арқылы анықтау [195].

1 г (нақты өлшем) ұсақталған *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын 150 мл көлемді тегістелген колбаға салып, 30 мл 90 % C₂H₅OH, құрамында 1 % HCl (концентрация) немесе 10 % H₂SO₄ (гликозидтерді гидролиздеу үшін) қосады, колбаны кері тоңазытқышқа қойып, қайнап тұрған су моншасында 1 сағат бойы қыздырады, бөлме температурасына дейін салқындатады, 100 мл көлемді өлшемді колбаға қағаз сүзгі арқылы сүзеді. Экстракцияны жоғарыда көрсетілген әдіспен тағы 2 рет қайталайды, сол сүзгі арқылы сол өлшемді колбаға сүзеді, сүзгіні 90 % C₂H₅OH-пен жуады және фильтрат көлемін сол спиртпен белгіге дейін (ерітінді А) жеткізеді.

Сыйымдылығы 25 мл көлемді колбаға 2 мл ерітінді А-ны салып, 1 мл 1 % спирттік AlCl₃ (Алюминий хлориді) ерітіндісін 95 % C₂H₅OH-пен қосады және ерітінді көлемін сол еріткішпен белгіге дейін жеткізеді. 20 минуттан кейін, ерітіндінің оптикалық тығыздығын 430 нм толқын ұзындығында, қабат қалыңдығы 10 мм болатын кюветте спектрофотометрде өлшейді. Салыстыру ерітіндісі ретінде 25 мл көлемді өлшемді колбада 90 % C₂H₅OH-пен белгіге дейін жеткізілген 2 мл ерітінді А-дан тұратын ерітіндіні пайдаланады. Флавоноидтардың жалпы мөлшерін (X) кверцетинге және абсолютті құрғақ шикізатқа қайта есептегенде, % бойынша төмендегі формула арқылы есептейді:

$$X = \frac{D * 100 * 100 * 25}{764.6 * m * 2 * (100 - W)}$$

мұндағы,

D – зерттелетін ерітіндінің 430 нм толқын ұзындығындағы оптикалық тығыздығы;

764.6 – 430 нм толқын ұзындығында 1 % алюминий хлоридімен кверцетин кешенінің сіңіру көрсеткіші;

W – Шикізатты кептіру кезінде массаның жоғалуы, %;

m – Шикізаттың өлшем массасы, г.

Илік заттардың жалпы мөлшерін перманганатометриялық анықтау жалл қышқылын стандарт ретінде пайдалана отырып, термометриялық титрлеу әдісімен жүргізілді [196].

1 г (нақты өлшем) ұсақталған *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын 100 мл көлемді конустық колбаға салып, 50 мл ыстық су қосып, қайнап тұрған су моншасында 2 сағат бойы қыздырады. Су экстракциясын шикізаттың минималды жоғалтуымен тұндырып ағызады, колбадағы шикізатқа тағы 50 мл ыстық су қосып, жоғарыда көрсетілгендей шикізатты қайтадан экстракциялайды. Біріктірілген экстракцияларды 100 мл көлемді өлшемді колбаға сүзеді және ерітінді көлемін дистилденген сумен белгіге дейін жеткізеді. Алынған ерітіндінің 10 мл-ін 500 мл көлемді конустық колбаға ауыстырып, 100 мл дистилденген су, 10 мл индигосульфоқышқыл ерітіндісін қосып, тұрақты араластыру кезінде 0,02 М калий перманганаты (KMnO₄) ерітіндісімен алтын-сары түстің пайда болуына дейін титрлейді. Параллельді түрде 10 мл индигосульфоқышқылды 100 мл дистилденген суда титрлейді. 1 мл 0,02М калий перманганаты ерітіндісі 0,004157 г гидролизденетін илік заттарға немесе 0,00582 г конденсацияланған илік заттарға танинге қайта есептегенде сәйкес келеді. Абсолютті құрғақ шикізатқа қайта есептегенде илік заттардың (X) пайыздық мөлшерін төмендегі формула бойынша есептейді:

$$X = \frac{(V_1 - V_2) * K * D * V * 100}{V_3 * m * (100 - W)}$$

мұндағы,

V₁ – титрлеуге жұмсалған калий перманганатының 0.02М ерітіндісінің көлемі, мл;

V₂ – бақылау тәжірибесінде титрлеуге жұмсалған 0.02М калий перманганаты ерітіндісінің көлемі, мл;

V₃– Титрлеуге алынған экстракт көлемі, мл;

V– Экстракт көлемі, мл;

m– Шикізаттың өлшем массасы, г;

W – Шикізатты кептіру кезінде массаның жоғалуы, %;

D – Сәйкес илік заттарға қайта есептеу коэффициенті.

Алкалоидтардың мөлшерін анықтау термопсинді стандарт ретінде пайдалана отырып, қышқылдық колориметрия әдісімен жүргізілді [197].

Алкалоидтардың сандық анықтамасын термопсинді стандарт ретінде пайдаланып, қышқылдық колориметрия әдісімен бағалады. Шамамен 10 г (нақты өлшем) ұсақталған шикізатты 250 мл көлемді колбаға салып, 100 мл хлороформ немесе этилацетат, 5 мл концентрленген аммиак ерітіндісін қосады, тығынмен жауып, вибрациялық аппаратта 2 сағат бойы шайқайды немесе бөлме температурасында 15 сағатқа қалдырады, содан кейін тағы 30 минут шайқайды. Хлороформдық экстракцияны мақта арқылы сүзеді. 50 мл фильтратты 100 мл көлемді колбаға ауыстырып, хлороформды 1-2 мл көлемге дейін айдайды. Қалған хлороформды ауамен үрлеп жояды. Қалдыққа пипеткамен 2 мл натрий гидроксиді ерітіндісін (0,1 моль/л) қосып, толық ерігенше таяқшамен араластырады, содан кейін пипеткамен 8 мл су қосып, 2-3 минут араластырады. Мазмұнға пипеткамен 10 мл тұз қышқылы ерітіндісін (0,1 моль/л) қосып, абайлап араластырып, 8-10 минутқа қалдырады, содан кейін вибрациялық шайқатқышта 8-10 минут шайқап, 7 см диаметрлі үш қабатты қағаз сүзгі арқылы сүзеді. 10 мл фильтратты 50 мл көлемді колбаға ауыстырып, 10 мл су, 2 тамшы метил қызыл ерітіндісін қосып, натрий гидроксиді ерітіндісімен (0,01 моль/л) сары түске дейін қышқылдың артық мөлшерін титрлейді. Параллельді бақылау тәжірибесін жүргізеді. 50 мл көлемді колбаға 1 мл натрий гидроксиді ерітіндісін (0,1 моль/л) салып, 4 мл су және 5 мл тұз қышқылы ерітіндісін (0,2 моль/л) қосып, араластырады, 2 тамшы метил қызыл ерітіндісін қосып, натрий гидроксиді ерітіндісімен (0,1 моль/л) сары түске дейін қышқылдың артық мөлшерін титрлейді. Алкалоидтардың термопсинге және абсолютті құрғақ шикізатқа шаққандағы жалпы мөлшерін (X) пайызбен есептейді төмендегі формула арқылы есептейді:

$$X = \frac{(V_1 - V_2) * 0.0244 * 4 * 100 * 100}{m * (100 - W)}$$

мұндағы,

0,0244 – термопсинге шаққандағы есептелген алкалоидтардың мөлшері, 1 мл тұз қышқылының ерітіндісіне (0,1 моль/л) сәйкес, г;

V1 – бақылау тәжірибесін титрлеуге жұмсалған натрий гидроксиді ерітіндісінің (0,1 моль/л) көлемі, мл;

V2 – титрлеуге пайдаланылған натрий гидроксиді ерітіндісінің (0,1 моль/л) көлемі, мл;

m – шикізат массасы, г;

W – шикізатты кептіру кезінде массаның жоғалуы, %.

Сапониндердің мөлшерін анықтау суық ацетонмен тұндырғаннан кейін глицирризин қышқылын стандарт ретінде пайдаланып, колориметриялық әдіспен жүргізілді [198].

Шамамен 2 г ұсақталған *Cirsium longa* L. тамыры ұнтағын (нақты өлшем) 100 мл көлемді колбаға салып, 20 мл 3% азот қышқылының ацетон ерітіндісін

косып, тұрақты араластырумен 1 сағат бойы тұндырады. Экстракцияны 100 мл көлемді цилиндрге сүзеді. Шикізат салынған колбаға тағы 20 мл ацетон құйып, ұнтақты сүзгіден жуу үшін пайдаланады және су моншасында кері тоңазытқышпен 30 минут қайнатады. Ыстық ацетонмен ұқсас экстракцияны тағы 2 рет қайталайды. Біріктірілген экстракцияларды сол сүзгі арқылы сол цилиндрге сүзеді. Цилиндрдегі сұйықтықты 200 мл көлемді стаканға құяды. Цилиндрді 10 мл этил спиртімен шайып, оны сол стаканға құяды. Содан кейін қарқынды араластырумен ашық-сары ірімшік тәрізді тұнба пайда болғанша (рН 8.3-8.6 ылғалды фенолфталеин қағазының қызаруымен анықталады) концентрленген аммиак ерітіндісін тамшылатып қосады. Тұнбаны Бюхнер воронкасында бөліп алады, стакан мен тұнбасы бар сүзгіні 30 мл ацетонмен 2-3 рет жуады. Тұнбаны сүзгімен тұндыру жүргізілген стаканға ауыстырып, 50 мл тазартылған суда ерітеді. Алынған ерітіндіні 100 мл көлемді өлшеуіш колбаға сандық түрде ауыстырады. Сүзгіні аз мөлшерде тазартылған сумен жуып, оларды негізгі ерітіндіге қосады. Ерітіндінің көлемін тазартылған сумен белгіге дейін жеткізеді. Алынған ерітіндінің оптикалық тығыздығын 258 нм толқын ұзындығында, қабат қалыңдығы 10 мм кюветте спектрофотометрде өлшейді, салыстыру ерітіндісі ретінде тазартылған суды пайдаланады. Абсолютті құрғақ шикізаттағы сапониндердің құрамын, глицирризин қышқылына қайта есептегенде пайызбен (X) төмендегі формула бойынша есептейді.

$$X = \frac{D * 822 * 100 * 100}{11000 * m * (100 - W)}$$

мұндағы,

D - 258 нм толқын ұзындығындағы сынақ ерітіндісінің оптикалық тығыздығы;

11000 – глицирризин қышқылының ерітіндісінің 258 нм толқын ұзындығындағы сіңіру көрсеткіші;

822 – глицирризин қышқылының молекулалық массасы;

m – шикізаттың өлшем массасы, граммен;

W – шикізатты кептіру кезінде массаның жоғалуы, пайызбен.

2.2.2 Куркуминоидтарды экстракциялау және ЖӨСХ –талдау

Curcuma longa L. тамырының ұнтағы Ли және т.б. [199] сипаттаған ЖӨСХ әдісі бойынша талданды. Ол үшін стандарт ретінде тазартылған негізгі куркуминоидтар – куркумин, деметоксикуркумин және бисдеметоксикуркумин (Сурет 4) арнайы тапсырыспен Aktin Chemicals, Inc. компаниясынан (Чэнду, Қытай) алынды.

ЖӨСХ әдісінде шикізаттың стандарттарын қолдану сапаны бақылау және сәйкестікті қамтамасыз ету, калибрлеу қисығын құру, жақын химиялық қасиеттерді бағалау, талдау дәлдігі мен қайталанушылығын қамтамасыз ету сынды бірнеше маңызды себептерге байланысты.

Біздің экспериментте стандартты ерітінділерді дайындау: үш эталондық қосылыстар дәл өлшеніп, араластырылып, метанолда ерітілді, содан кейін ЖӨСХ талдауына дейін 4 °C температурада сақталды. Ерітіндідегі үш қосылыстың концентрациясы сәйкесінше 625 мкг/мл (куркумин), 550 мкг/мл (деметоксикуркумин) және 510 мкг/мл (бисдеметоксикуркумин) болды.



Сурет 4 – Негізгі куркуминоидтардың стандарттары: Куркумин, деметоксикуркумин және бисдеметоксикуркумин (Aktin Chemicals, Inc., Чэнду, Қытай)

Куркуминоидтардың негізгі стандарттары – куркумин, деметоксикуркумин және бисдеметоксикуркумин, және *Curcuma longa* L. тамырының ұнтағы Shimadzu LC-40 HPLC құрылғысында талданды. *Curcuma longa* L. тамырының ұнтағы (0,3 г) 30 мл абсолютті метанолмен ультрадыбыстық ваннада (KQ5200B, Kunshan Ultrasonic Instrument Co., Ltd., Куньшань, Қытай) бөлме температурасында 60 минут бойы экстракцияланды. Экстракт 0,22 мкм сүзгі арқылы сүзілді және 15 мкл көлеміндегі аликвота ЖӨСХ талдауына ұшыратылды. ЖӨСХ жүйесі ретінде Shimadzu LC-40, LC-40D сорғысы және UV-VIS SPD-40 детекторы (Shimadzu Corporation, Киото, Жапония) қолданылды. Бөлу ZORBAX Eclipse XDB-C18 колонкасында (ұзындығы 250 мм; ішкі диаметрі 4,6 мм; бөлшек өлшемі 5 мкм; Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, АҚШ) тұрақты 1 мл/мин ағын жылдамдығында жүргізілді. Қозғалмалы фаза ацетонитрил және 0,1% құмырсқа қышқылының су ерітіндісін қамтыды. Ацетонитрилмен келесі градиентті элюция бағдарламасы қолданылды: 0–30 мин ішінде 40–50 %, 30–35 мин ішінде 50–65 %, 35–42 мин ішінде 65–70 %, 42–55 мин ішінде 70 % және 55–60 мин ішінде 70–100 %. Элюенттің сіңірілуі 380 нм-де сандық талдау үшін бақыланды. ЖӨСХ жүйесін басқару және деректерді талдау үшін LabSolutions LC 5.101 нұсқасы (Shimadzu, Киото, Жапония) бағдарламалық қосымшасы қолданылды.

2.3 Эксперименттік егеуқұйрықтар және оларды морфологиялық зерттеу әдісі

in vivo зерттеу әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің виварий орталығында, ҚР БҒМ ҒК «Адам және жануарлар физиологиясы институты» Жергілікті этикалық комиссиясы бекіткен хаттамаға сәйкес (№ 12-28, 2023 жылғы 3 ақпан) жүргізілді. Экспериментте 3 айлық, салмағы $270,8 \pm 12,6$ грамм 120 ақ аталық егеуқұйрықтар қолданылды. Жануарлар сумен *ad libitum* (еркін мөлшерде) және стандартты кеміргіштер рационмен қоректендірілді. Төсеме ретінде ағаш үгінділері пайдаланылды. Жануарларға күнделікті тиісті күтім көрсетілді. Жануарлармен барлық манипуляциялар «Зертханалық жануарларды ұстау және пайдалану жөніндегі нұсқаулықтың» талаптары мен ұсыныстарына қатаң сәйкестікте жүргізілді. Эксперимент алдында жануарлар 14 күн карантинде ұсталды.

Егеуқұйрықтар 8 топқа бөлінді (әр топта 15 егеуқұйрық) және келесі түрде өңделді:

1-топ — Бақылау: өңделмеген топ;

2-топ — D₃: сұйық түрдегі D₃ дәруменін (Health Caps, Пшезмерово, Польша) 750 ХБ/кг тәуліктік дозасын ішке қабылдады;

3-топ — CUR: *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын (Kevala International LLC, Даллас, Техас, АҚШ) стандартты жеммен 0,5% (ж/с) мөлшерінде араластырылған түрде қабылдады;

4-топ — D₃ + CUR: сұйық түрдегі D₃ дәруменін және *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдады;

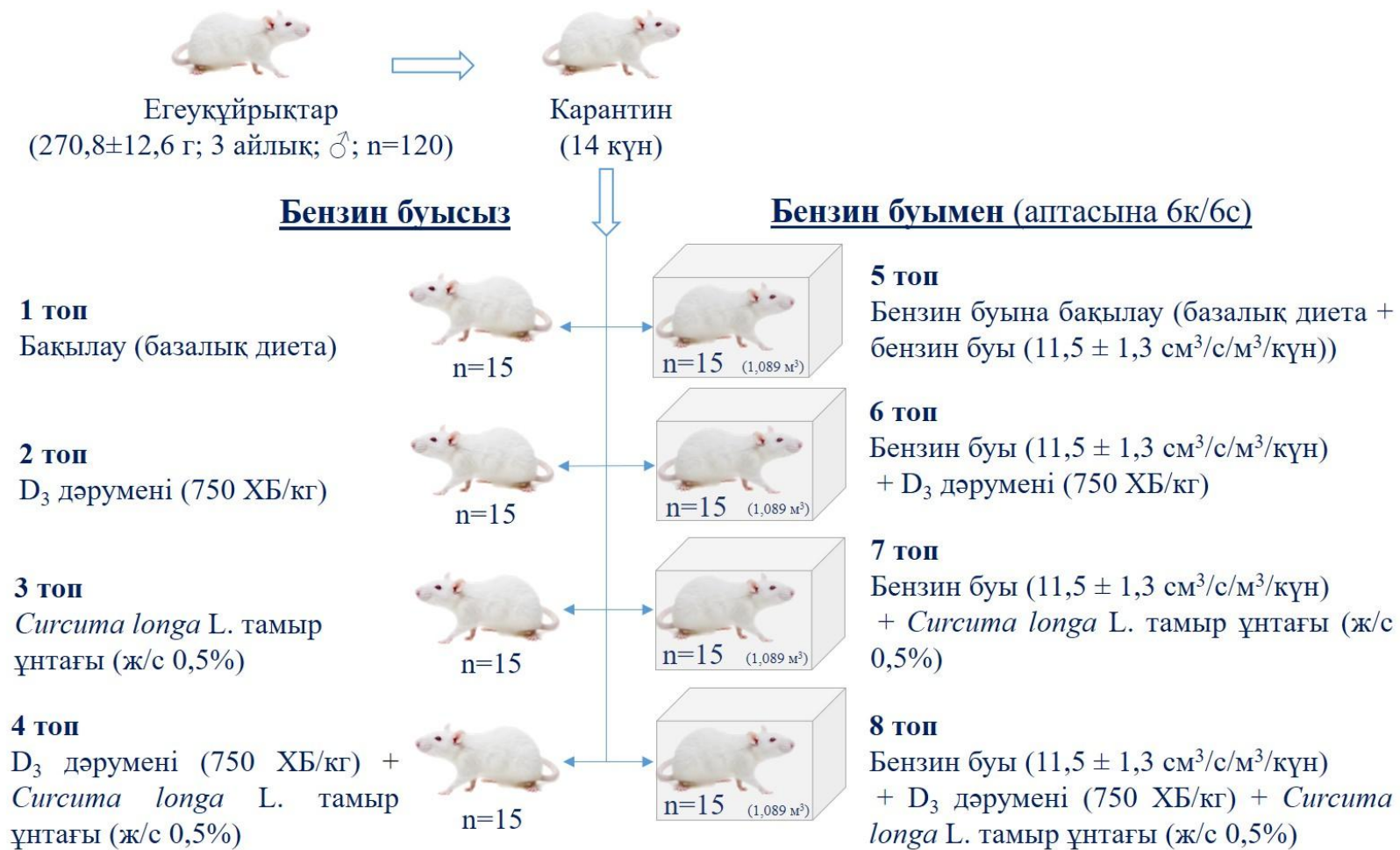
5-топ — ББ: ББ-ы әсеріне аптасына 6 күн, 6 сағат бойы ұшырады ($11,5 \pm 1,3$ см³/сағ/м³/күн);

6-топ — ББ + D₃: ББ-ы мен D₃ дәруменін қабылдады;

7-топ — ББ + CUR: ББ-ы мен *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын қабылдады;

8-топ — ББ + D₃ + CUR: ББ және D₃ дәруменін *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағымен комбинациясын қабылдады.

Егеуқұйрықтарды 90 күн бойы бақыланып отырылды. Әр топтан бес егеуқұйрықтан 30, 60 және 90 күн сайын зертханалық зерттеулерге ұшыратылды. Эксперимент моделі схема түрінде 8-ші суретте көрсетілді (Сурет 5).



Сурет 5 – Эксперимент моделі

2.3.1 Қоректік қоспалар және бензин буымен ингаляциялау

Базалық диета. Эксперимент жүргізу үшін келесі компоненттерден тұратын теңдестірілген рацион (базалық диета) пайдаланылды: Дәнді дақылдар (бидай, жүгері, арпа, сұлы) – 40-60%, протеин көздері (soя, бұршақ ұны және жұмыртқа ұнтағы, құрғақ сүт) – 15-25%), жасұнық (кебек, жоңышқа ұны) – 5-10%, майлар (күнбағыс майы, соя майы) – 4-6%, минералдар (кальций (әктас ұнтағы немесе бор), фосфор (дикальцийфосфат), тұз (натрий хлориді), цинк, магний, темір) – 1-2%. Жалпы алғанда, егеуқұйрықтар дене салмағының 5-10% мөлшерінде қоректенді. Алайда, ББ-на ұшыраған топтардың эксперименттің уақытына тәуелді, физиологиялық жағдайына байланысты күнделікті қорек тұтынуы төмендеді.

D₃ дәрумені. ББ-ның жағымсыз әсерлерін фармакокоррекциялау құралы ретінде Detrimax® Baby (Detrimax, Curtis Health Caps, Пшемерово, Польша) сауда атауымен дәруменін D₃ таңдау оның құрамындағы дәруменнің биологиялық әсерлеріне негізделген. Препараттың 1 тамшысында 200 ХБ (5 мк) холекальциферол және қосымша заттар (орта тізбекті триглицеридтер) бар. Препараттың маңызды фармакологиялық қасиеттерінің бірі – оның дені сау иммундық функцияны белсендіруге ықпал етуі, туа біткен және жүре пайда болған иммунитетке оң әсер етуі. Әдеби деректерге сәйкес, D₃ дәруменінің майлы түрі егеуқұйрықтар үшін басқа D₃ дәрумені түрлеріне қарағанда биожетімділігі жоғары [200], бұл препаратты таңдаудың негізгі критерийі болды.

***Curcuma longa* L. тамырының ұнтағы** – АҚШ Ауыл шаруашылығы Министрлігімен сертификатталған, Kevala International LLC (Даллас, Техас, АҚШ) компаниясынан тапсырыспен алынды. *Curcuma longa* L. тамырының ұнтағы егеуқұйрықтарға стандартты жеммен бірге 0,5% (ж/с) мөлшерінде араластырылған түрде берілді.

ББ-мен ингаляциялау әдісі. Егеуқұйрықтар (5–8 топтар) Убох және басқалар [201] сипаттаған хаттама бойынша ББ-ның ингаляциясына ұшырады (Сурет 6).



Сурет 6 – Бензин буына арналған ингаляциялық камера, 1,089 м³.

Яғни, 4 тор (әр торда 15 егеуқұйрық) жеке әсер ету камераларына орналастырылды (110 см × 90 см × 110 см; 1,089 м³). Әрбір камерада 1000 мл (см³) екі шыны ыдыс болды, олардың әрқайсысында 500 мл (см³) сұйық бензин құйылды, нәтижесінде сұйық бензин орта температурасында еркін булана алады. Жануарлар ББ-на тәулігіне 6 сағат ($11,5 \pm 1,3$ см³/сағ/м³/күн), аптасына 6 күн [201], 30–90 күн бойы ұшырады. Зерттеуде қолданылған октан саны 95 этилсіз бензин Алматы қаласындағы (Қазақстан) Qazaq Oil жергілікті жанармай құю станциясынан сатып алынды.

2.3.2 Дене салмағының динамикасын бақылау

Эксперименттік егеуқұйрықтардың дене массасын бақылау үшін, олар өлшеу алдында эфирмен ұйықтатылды. Дене массасындағы өзгерістерді апта сайын CAS SW-5 (CAS Corporation, Сеул, Оңтүстік Корея) үлгісіндегі электронды таразының көмегімен өлшенді. Өлшеу әр аптаның соңғы күнінде таңғы уақытта ашқарынға жүргізілді. Алынған деректер Microsoft Excel бағдарламалық қосымшасына тіркелді.

2.3.3 Макроскопиялық зерттеу әдісі

Эксперименттік егеуқұйрықтардың органдарын макроскопиялық зерттеу олардың жалпы құрылымдық және морфологиялық жағдайын көзбен шолып, пайда болған патологиялық өзгерістерді анықтауға және бағалауға бағытталған әдіс. Бұл әдіс әр орган жайлы визуалды бақылау арқылы маңызды ақпарат алуға мүмкіндік береді.



Сурет 7 – Егеуқұйрықтардың кеуде және құрсақ қуыстары органдарының топографиясын визуалды бағалау.

Макроскопиялық, гистологиялық, биохимиялық және гематологиялық зерттеулер үшін әрбір эксперименттік топтан бес егеуқұйрықтан 30, 60 және 90 күн сайын сойылды. Егеуқұйрықтарға эфирдің летальді дозасы арқылы анестезия жасалды. Содан кейін, кеуде қуысы мен құрсақ қуысына диссекция (анатомиялық ашу) жасалып, ішкі органдар, атап айтқанда – өкпе, бауыр, бүйрек және көкбауыр визуалды түрде бағаланды (Сурет 7).

Органдарды бағалау келесі негізгі параметрлерді қолдану арқылы жүргізілді: органдардың түсі, формасы, көлемі, ұлпалық құрылымындағы өзгерістері және консистенциясы қаралды және алынған деректер тіркелді. Содан соң, әр орган жеке-жеке Canon Zoemini S2 (Canon Inc., Коулун, Гонконг, Қытай) сандық камерасымен суретке түсірілді, фототіркеу жасалды. Одан соң, әр орган кейінгі гистопатологиялық талдау үшін 10% нейтралды буферленген формалинге фиксацияланды.

2.3.4 Гистологиялық зерттеу әдісі

Органдарды тереңірек, яғни ұлпа деңгейінде зерттеу үшін, 10% бейтарап буферленген формалинге фиксацияланған өкпе, бауыр, бүйрек және көкбауырға гистологиялық зерттеулер жүргізілді. Гистологиялық препараттарды дайындау және бояу техникасы келесідей этаптардан тұрды. Гистологиялық препараттарды дайындаудың негізгі кезеңдері: 1) материал алу; 2) фиксация; 3) суда жуу; 4) сусыздандыру және тығыздау; 5) парафин құю; 6) кесінділер дайындау; 7) бояу; 8) кесінділерді аяқтау.

1) Материал алу - гистологиялық зерттеу үшін өкпе, бауыр, бүйрек және көкбауырдан көлемі 1 см³-ден аспайтын үлгілер алынды.

2) Фиксация – бұл ұлпалардың тірі кезіндегі құрылымын бекіту мақсатында жасалатын өңдеу әдісі. Зерттеуде фиксатор ретінде – 10% нейтралды буферленген формалин қолданылды. Бұл арнайы фиксациялаушы заттардың ұлпаларға әсер етуі арқылы жүзеге асырылды. Фиксатордың әсерінен ұлпаларда болатын ең маңызды өзгеріс – бұл белоктардың ұю (коагуляция) процесі. Фиксациялаушы заттың мөлшері бекітілетін материалдың көлемінен 20-100 есе көп алынды.

3) Суда жуу - бекітілгеннен кейін материалдар бекіткіштің артық мөлшерінен және бекіткіш сұйықтықтардың әртүрлі тұнбаларынан арылту үшін ағынды суда жуылды.

4) Сусыздандыру – ұлпаларды сусыздандыру біртіндеп жүргізілді, бұл олардың жиырылып қалмауы үшін жасалды, және ол бірте-бірте проценті жоғарылатылған спирт арқылы жүзеге асырылды: 50°, 60°, 70°, 80°, 90°, 96°, 100°. Әрбір спиртке кескіндердің көлеміне байланысты бірнеше сағаттан 1 тәулікке дейін сақталды.

5) Тығыздау (парафиндеу) – «BioVitrum» фирмасының HistoMix Extra маркалы парафинді ортасына құйылып, парафинделді. Кескіндер алдын ала парафин еріткіші – толуолмен қанықтырылды. Парафиндеу кезінде кескіндер абсолютті спирттен хлороформ қоспасына, содан кейін таза ксилолға және

соңында хлороформдағы парафиннің қаныққан ерітіндісіне ауыстырылды, онда олар термостатта 37° температурада 1 тәулік бойы салқындатылды. Кейінгі парафиндеу термостатта 54° -56° температурада үш порция парафинмен жүргізілді. Соңғы парафиндеу балауыз қосып, арнайы қағаз қорапшаларға құйылып, парафиннің бетінде қабық пайда болғаннан кейін, бұл қорапшалар суға батырылды. Парафин толық қатқаннан кейін, кесектер айналасындағы парафинмен бірге қорапшалардан алынып, ерітілген парафиннің көмегімен пластикалық кубиктерге жапсырылып, парафин блоктары алынды.

6) Кесінділерді дайындау - Technom MZP-01 микротомында (Техном, Екатеринбург, Ресей) дайындалды. Микротомның арнайы құрылғыларында парафин блогы мен микротом пышағы бекітілді. Пышақтың блок бетіне параллель жазықтықта әр сырғуында парафин блоктарынан қалыңдығы 5-7 мкм болатын кесінділер алынды. Барлығы 120 егеуқұйрықтың 4 органдарына 480 парафинді блок және 960 гистологиялық препарат дайындалды (Сурет 8).



Сурет 8 – Парафин блоктары және ұлпа үлгілері

7) Бояу – кескіндер гематоксилин-эозин бояуымен (H&E; BioVitrum, Санкт-Петербург, Ресей) боялды. Бояу алдында кесінділерінен парафин міндетті түрде алынып тасталды. Бояу микроскоп астында нысанның нәзік құрылымдарын айқын көрсету үшін жүргізілді.

Гематоксилин-эозин препараттарын бояу схемасы:

1. Парафинді кесінділер суға дейін жеткізілді
2. Гематоксилинмен боялды — 3-5 минут
3. Суда жуылды – 2 минут
4. Спиртте, тұз қышқылына салынды (70% спирттегі 1% тұз қышқылы ерітіндісі), бірнеше секунд дифференцияланды, содан кейін сілтіленген сумен қалпына келтірілді (шамамен 1 минут)
5. Ағынды суда жуылды
6. Дистилденген сумен шайылды
7. 1% эозинмен 1-2 минутқа боялды
8. Дистилденген сумен шайылды

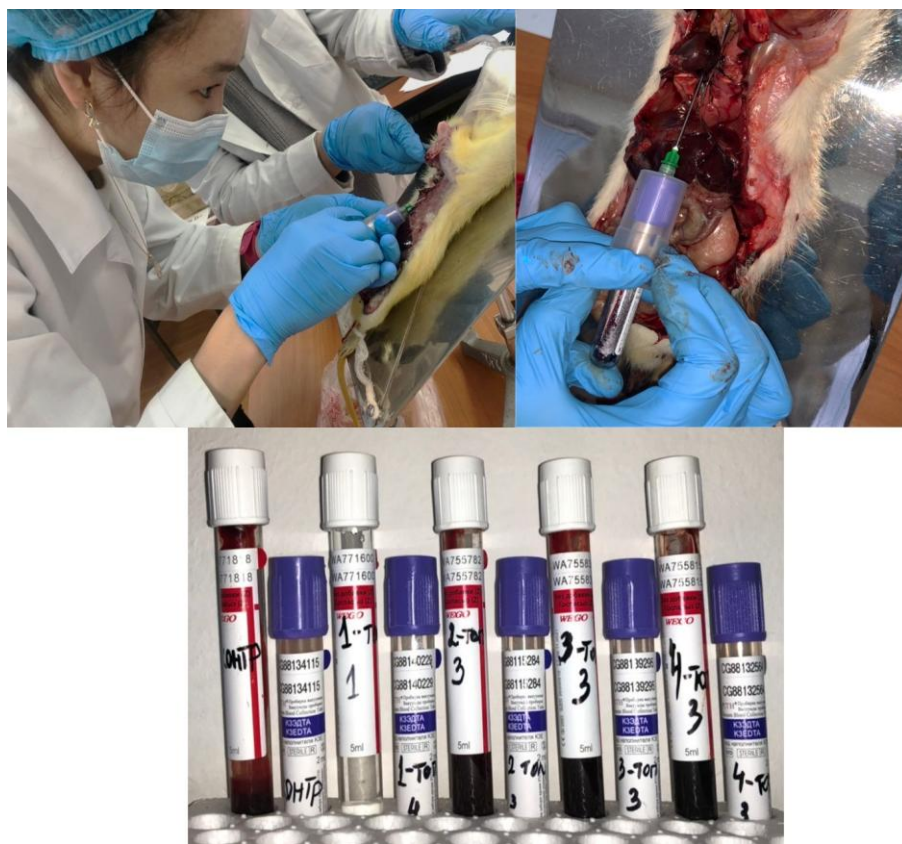
9. Спиртте сусыздандырылды – 2 минут

10. Ксилолда ағартылды – 2 минут

Алынған гистологиялық препараттар 50 және 100 есе үлкейтілген, Vision CAM® V500 Цифрлық камерамен (Micro-Optix, Винер-Нойдорф, Австрия) жабдықталған MicroOptix MX 300 Т жарық микроскопында зерттелді.

2.4 Қанның биохимиясын зерттеу әдісі

Егеуқұйрықтардың кеуде қуысы ашылғаннан кейін бірден жоғарғы қуыс венасынан қан (~1 мл) биохимиялық талдау үшін вакуумдық пробиркаларға (антикоагулянтсыз) және гематологиялық талдау үшін (антикоагулянт ретінде этилендиаминтетрауксус қышқылымен) алынды (Сурет 9).



Сурет 9 – Егеуқұйрықтардың қуыс венасынан вакуумдық пробиркаларға қан алу.

Қан зерттеулері егеуқұйрықтардың экспериментте болу мерзімінің 30, 60 және 90 күндерінде алынды. Барлық аналитикалық өлшеулер автоматтандырылған құрылғыларда, реагенттерге арналған стандартталған әдістемелерді қолдана отырып, сапаны міндетті түрде бақылаумен жүргізілді, бұл кателерді азайтуға және адам факторының әсерін бейтараптандыруға мүмкіндік берді.

Биохимиялық зерттеулер үшін қан үлгілері коагуляциялануға бөлме температурасында 3 сағатқа қалдырылды, содан кейін 3000×g жылдамдықта 5

минут бойы центрифугаланды. Нәтижесінде пайда болған қан сарысуы HumaStar 100 анализаторын (Human Diagnostics Worldwide, Висбаден, Германия) пайдалана отырып, глюкоза, креатинин, мочеви́на, жалпы ақуыз, аланинаминотрансфераза (АЛТ) және аспартатаминотрансфераза (АСТ) құрамына талданды.

2.5 Гематологиялық зерттеу әдісі

Гематологиялық зерттеулер үшін қан үлгілері Advia-2120i (Siemens, Мюнхен, Германия) гематологиялық анализаторында эритроциттер, лейкоциттер, лимфоциттер, нейтрофилдер және тромбоциттер мөлшерін, сондай-ақ гемоглобин мен гематокрит деңгейін анықтау үшін талданды.

Алынған деректерді талдау үшін біз Shehani L. Delwatta және басқалардың [202] мақаласында келтірілген тұқымсыз егеуқұйрықтар желісінің анықтамалық мәндеріне сүйендік. Алайда, эталон ретінде біздің бақылау тобымыздың зерттеу нәтижелерін қарастырдық.

2.5 Деректерді статистикалық өңдеу

Орташа мәндер арасындағы айырмашылықтардың маңыздылығы бір факторлы дисперсиялық талдауға (One-way ANOVA) ілесуші Tukey критерийі бойынша бірнеше салыстыру апостериорлық тестімен есептелді. Ол әр топтың орташа мәнін басқа топтардың орташа мәндерімен салыстырып, түзетілген p мәндерін қамтамасыз етті. Айырмашылықтар статистикалық маңызды деп $p < 0,05$ болғанда есептелді. Статистикалық талдау GraphPad Prism 6.0 (GraphPad, Сан-Диего, Калифорния, АҚШ) бағдарламалық қосымшасында жүргізілді.

3 НӘТИЖЕЛЕР ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ

3.1 Лейкоз клеткаларына 1,25D₃, куркуминнің және олардың комбинациясының дифференциялаушы және антипролиферациялаушы әсерін анықтау

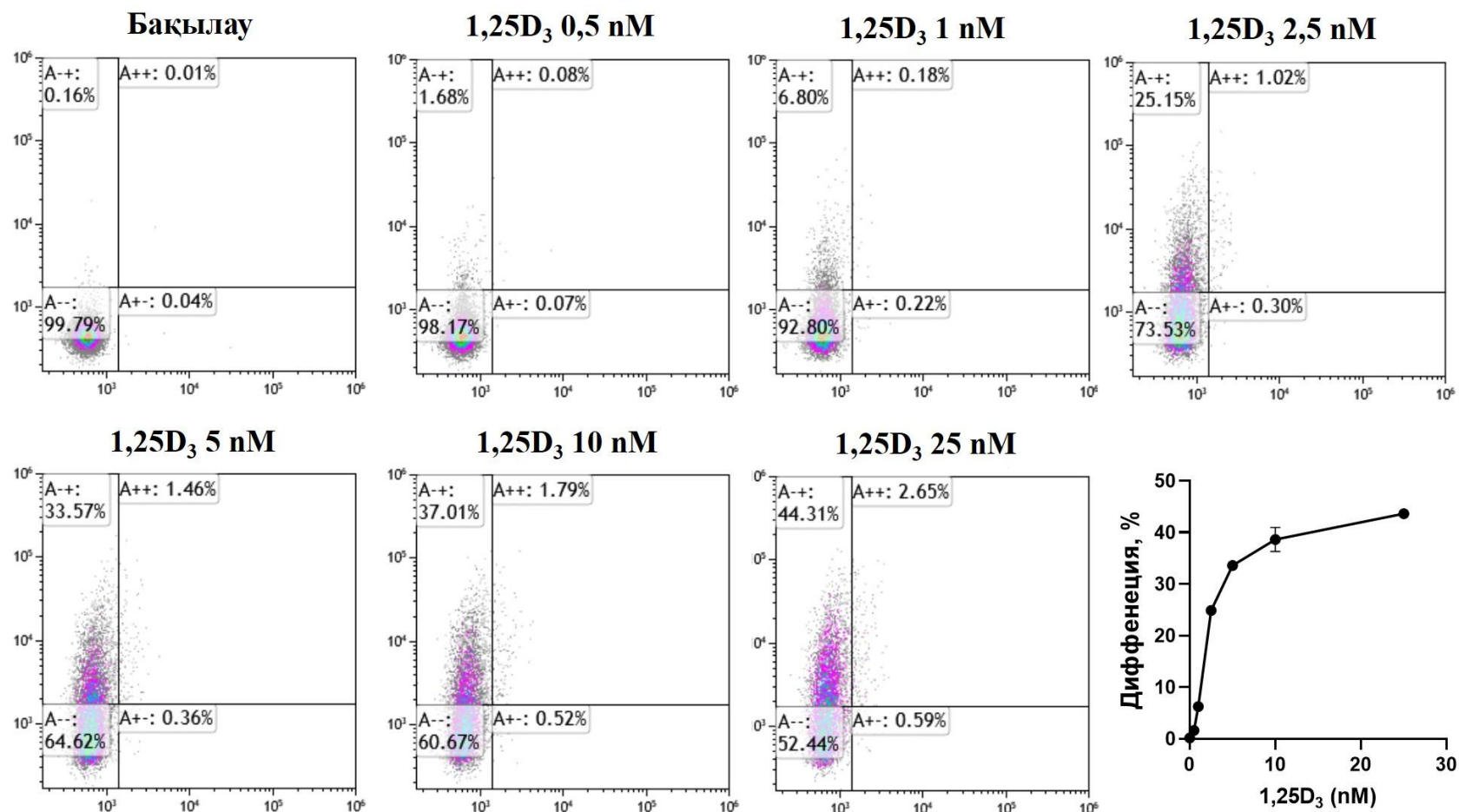
3.1.1 1,25D₃-тің HL60 клеткаларын дифференциялаушы әсері

Миелоидты лейкоз клеткаларына 1,25D₃-ның дифференциялық әсерінің дәрежесі ағынды цитометрия әдісінің көмегімен спецификалық моноцитарлық беттік маркер CD14 экспрессиясын өлшеу арқылы бағаланды.

Ілгеріде, 2003 жылы жүргізілген зерттеуде HL60 клеткаларын 1,25D₃-тің 5 нМ концентрациясымен 72 сағат бойы өңдеу олардың дифференциясына әкелетіні көрсетілген, бұл CD11b маркерінің жоғары экспрессиясымен расталған [6]. Тағы бір зерттеуде сүйек кемігінің миелоидты прекурсорларын гранулоцитарлық дифференциядан моноцитарлық дифференцияға ауыстыру үшін 1,25D₃ концентрациясының 5 нМ-ден жоғары болуы қажет екені хабарланады [203]. 2022 жылы жарияланған тағы бір зерттеуде [204] HL60 клеткаларын 10 нМ 1,25D₃-пен өңдеу белгілі бір микроРНК-лардың экспрессиясының өзгеруіне әкелетіні және бұл өзгерістер дифференция процесімен байланысты екені көрсетілген. Механизмі бойынша, 1,25D₃ клетка ядросындағы дәрумен VDR-мен байланысады да, клеткаішілік сигналдық жолдарды белсендіріп, миелоидтық дифференцияға қажетті гендердің транскрипциясын реттейді. HL60 клеткаларының пролиферациясын тежеп, оларды жетілген иммундық клеткаларға айналдырады [204]. 1,25D₃ HL60 клеткаларының дифференциясына дозаға-тәуелділікпен әсер етіп, оларды моноцит-макрофагтық бағытта өзгертеді. 1,25D₃-ның жоғары дозалары дифференцияны күшейтеді, бірақ тым жоғары концентрациялар клетка өлімін индукциялауы мүмкін.

Әдеби шолуға сүйене отырып, аталған дәруменнің цитоуыттылығын анықтау үшін, ең бірінші оның әртүрлі концентрациялары – 0,5 нМ; 1 нМ; 2,5 нМ; 5 нМ, 10 нМ және 25 нМ қолданылды. 10-шы суретте 1,25D₃-индукцияланған беттік маркер CD14 экспрессиясын көрсететін репрезентативті ағынды цитометрия деректері көрсетілген (Сурет 10).

HL60 клеткаларын 1,25D₃-тің әртүрлі концентрациялармен өңдеу келесідей нәтижелерді көрсетті: өңделмеген бақылау тобы HL60 клеткаларының дифференциясы 0,16%, яғни дифференциялануы өте төмен немесе мүлдем жоқ деуге болады; ал 0,5 нМ – 1,68%, 1 нМ – 6,80 %; 2,5 нМ – 25,15 %; 5 нМ – 33,57 %; 10 нМ – 37,01 %; 25 нМ – 44,31 % көрсетті. Эксперимент екі рет қайталануда жүргізілді.



Сурет 10 – HL60 клеткаларының 1,25D₃-тің 0,5 нМ; 1 нМ; 2,5 нМ; 5 нМ, 10 нМ және 25 нМ концентрацияларымен өңделгеннен кейінгі дифференциясы.

Байқағанымыздай, лейкомия клеткалары концентрацияға тәуелді дифференцияланған. $1,25D_3$ -тің жоғары концентрациялары адам организмінде гиперкальцемианы туындатуы мүмкін. Сондықтан, экспериментті жалғастыру үшін HL60 клеткаларының дифференциясын туындататын ең төменгі концентрацияларды пайдаландық. Графиктегі қисықта көретілгендей, дифференцияны шақыратын ең төменгі концентрацияны байқауымызға болады (Сурет 10).

Осылайша, $1,25D_3$ -тің HL60 клеткаларының дифференциялаушы белсенділіктерінің оңтайлы концентрациялары ағынды цитометрия нәтижелері бойынша 0,5 нМ концентрациясы – 1,68%, ал 1 нМ концентрациясы – 6,80 % белгілі болды.

3.1.2 Куркуминнің HL60 клеткаларына антипролиферативті белсенділігі

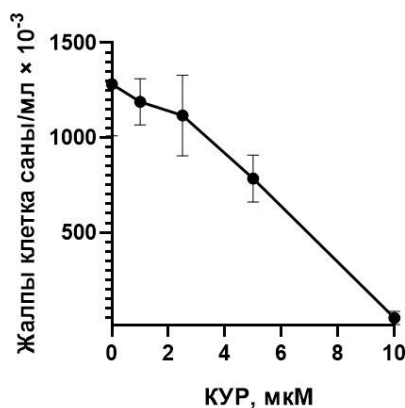
Куркуминнің HL60 клеткаларына пролиферациялық әсерін трипан көгімен бояу әдісі арқылы клеткалардың жалпы санын, тіршілікке қабілетті клеткалар саны мен өлі клеткалар санын есептеу арқылы клетка өміршендігін анықтадық.

Куркуминнің HL60 лейкозды клеткаларының пролиферациясына әсері әртүрлі концентрацияларда зерттелген. Зерттеулер куркуминнің клеткалардың пролиферациясын тежеуге және дозалық тәуелді түрде апоптозды индукциялауға қабілетті екенін көрсетеді. Мысалы, Ли және басқа авторлардың [205] зерттеуінде 5 және 10 мкМ куркуминмен өңделген HL60 клеткаларында WT1 мРНҚ және ақуыз деңгейлерінің елеулі төмендеуі байқалған, бұл клеткалардың пролиферациясының тежелуімен байланысты болған. Тағы бір зерттеу куркуминнің инфламмасома белсенділігі мен клетка пролиферациясына әсерін зерттеу барысында HL60 клеткалары 0, 2,5, 5, 10 және 20 мкМ концентрациясындағы куркуминмен өңделді. Нәтижелер куркуминнің клеткалардың пролиферациясын дозалық тәуелді түрде тежеуін көрсетті, жоғары концентрациялар әсерлердің айқын болуына әкелді [206]. Келесі бір зерттеу куркуминнің клетка циклінің прогрессиясына және апоптозға әсерін зерттеу барысында куркуминмен өңдеу клетка циклінің тоқтап қалуына және дозалық тәуелді түрде апоптоздың индукциялануына әкелгенін көрсетті [207]. Яғни, куркумин дозоға-тәуелділікпен антипролиферативтік және апоптотикалық әсер көрсетеді. Мысалы, төмен дозалар (~1–5 мкМ) антиоксиданттық және прооксиданттық әсер көрсетеді, орташа дозалар (~10–20 мкМ) клеткалық циклдің тоқтауын күшейтеді, ал жоғары дозалар (~25–50 мкМ) апоптозды белсендіреді және ДНҚ зақымдалуын қамтамасыз етеді. Ал 50 мкМ-ден жоғары дозалар цитотоксикалық әсерін күшейтіп, некрозға әкелуі мүмкін. Бұл нәтижелер 2,5-тен 10 мкМ-ге дейінгі куркумин концентрациялары HL60 клеткаларының пролиферациясын тиімді түрде тежей алатынын көрсетеді.

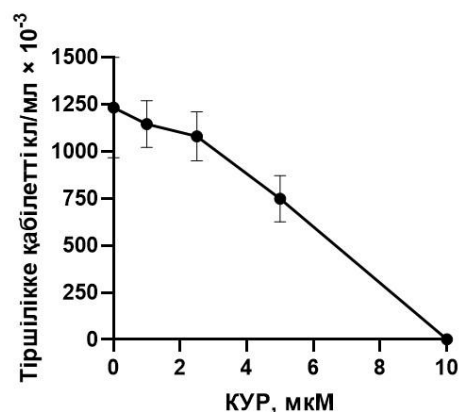
Жоғарыда келтірілген әдеби деректерге сүйене отырып, біз табиғи полифенол – куркуминнің цитоуыттылығын анықтау үшін оның – 1 мкМ; 2,5 мкМ; 5мкМ; 10 мкМ концентрацияларын қолдандық.

Эксперимент екі қайталауда жүргізілді, әрбір қайталаудың өз бақылауы болды. Цитоуыттылық әсер етуші полифенолдың концентрациясына байланысты бақылаудан алынған тірі клеткалардың пайызымен бағаланды.

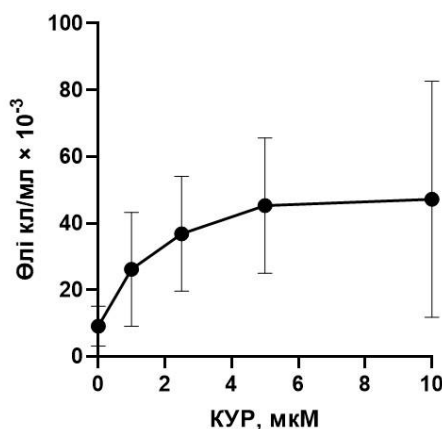
A.



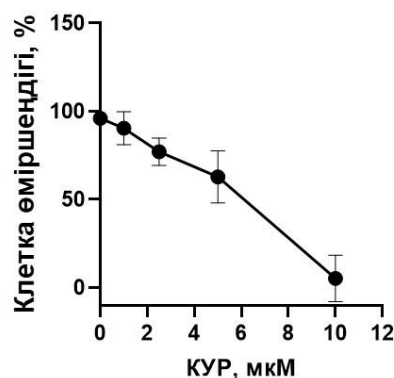
B.



C.



D.



Сурет 11 – Куркуминмен өңделген HL60 клеткаларының 24 сағаттан кейін жалпы санын (A), тіршілікке қабілетті клеткалар саны (B), өлі клеткалар саны (C) және клеткалардың өміршендігі (D).

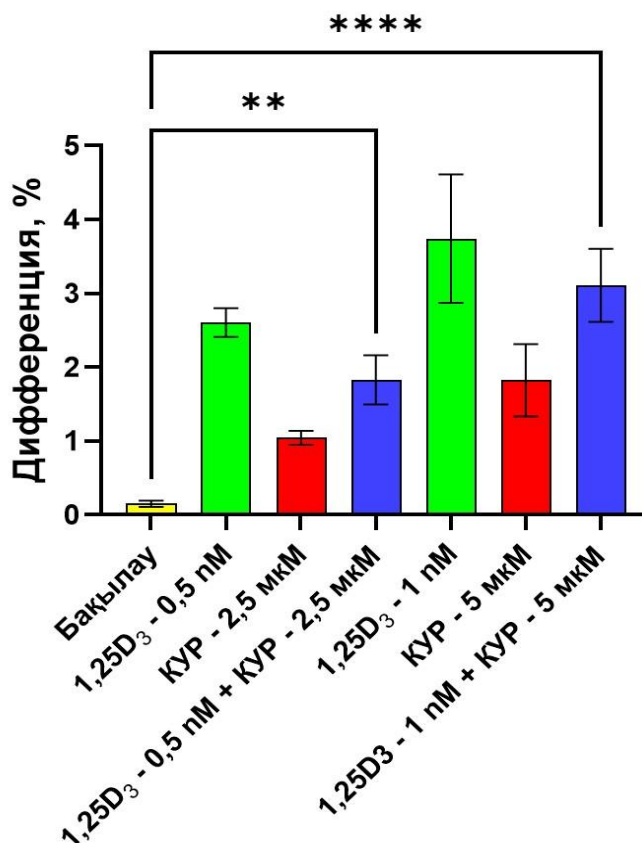
11-ші суретте лейкемия клеткаларының куркуминнің әсерінен 24 сағаттан кейін жалпы санын, тіршілікке қабілетті клеткалар саны мен өлі клеткалар санын есептеу арқылы клетка өміршендігі дозаға тәуелді болғанын байқауға болады (Сурет 11). 16А суретте клеткалардың жалпы саны – 0 мкМ бақылау тобында – $1282,25 \text{ мл} \times 10^{-3}$; 1 мкМ – $1188,51 \text{ мл} \times 10^{-3}$; 2,5 мкМ – $1117,38 \text{ мл} \times 10^{-3}$; 5мкМ – $784,68 \text{ мл} \times 10^{-3}$; 10 мкМ – $49,43 \text{ мл} \times 10^{-3}$ көрсетті. Ал тіршілікке қабілетті клеткалар мөлшері – 0 мкМ бақылау тобында – $1232,38 \text{ мл} \times 10^{-3}$; 1 мкМ – $1144,75 \text{ мл} \times 10^{-3}$; 2,5 мкМ – $1079,19 \text{ мл} \times 10^{-3}$; 5мкМ – $748,62 \text{ мл} \times 10^{-3}$; 10 мкМ – $2,43 \text{ мл} \times 10^{-3}$ болды. Келесі, өлі клеткалардың мөлшері – 0 мкМ бақылау

тобында – $9,06 \text{ мл} \times 10^{-3}$; 1 мкМ – $26,12 \text{ мл} \times 10^{-3}$; $2,5 \text{ мкМ}$ – $36,81 \text{ мл} \times 10^{-3}$; 5 мкМ – $45,25 \text{ мл} \times 10^{-3}$; 10 мкМ – $47,18 \text{ мл} \times 10^{-3}$ көрсетті. Клеткалардың өміршеңдігі – 0 мкМ бақылау тобында – 96% ; 1 мкМ – 90% ; $2,5 \text{ мкМ}$ – $77,12 \%$; 5 мкМ – $62,87 \%$; 10 мкМ – $5,25 \%$ құрады.

Осылайша, куркуминнің HL60 клеткаларының антипролиферациялаушы белсенділіктерінің оңтайлы концентрациялары $2,5 \text{ мкМ}$ концентрациясы – $77,12 \%$, ал 5 мкМ концентрациясы – $62,87 \%$ көрсетті.

3.1.3 $1,25D_3$ және куркумин комбинациясының дифференциялаушы және антипролиферативті әсерлері

$1,25D_3$ пен куркуминнің комбинациялық әсерін HL60 клеткаларында зерттеу үшін, аталған екі агенттің алдыңғы бөлімшелерде (Бөлімше 3.1.1 және 3.1.2) таңдалып алынған оңтайлы концентрацияларын қолдандық. Яғни, $1,25D_3$ -тің $0,5$ және 1 нМ концентрациясын, ал куркуминнің $2,5$ және 5 мкМ концентрациясын пайдаландық. $1,25D_3$ -ның дифференциялық әсерінің дәрежесі ағынды цитометрия әдісінің көмегімен спецификалық беттік маркер CD14 экспрессиясын өлшеу арқылы бағаланды.

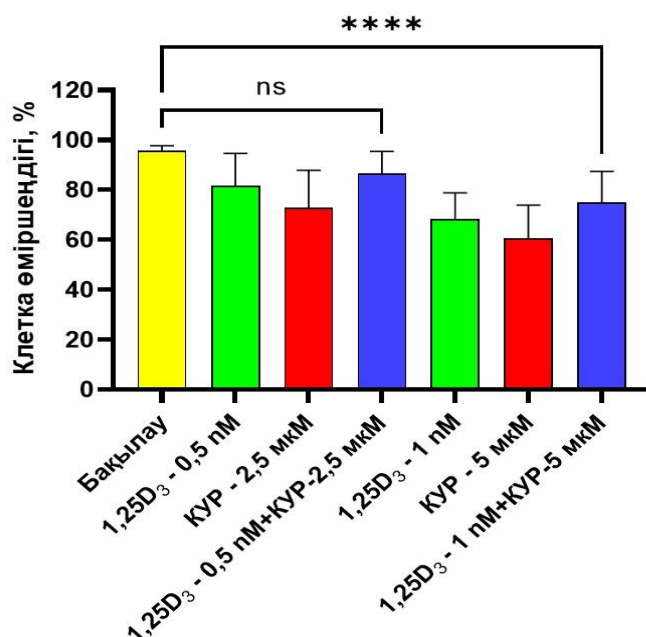


Сурет 12 – $1,25D_3$ және куркуминмен жеке және олардың комбинациясымен өңделген HL60 клеткаларының дифференциясы. Деректер $OM \pm CA$. One-way ANOVA-ға ілесуші Tukey критерийі бойынша бірнеше салыстыру тесті. **, $p < 0,01$; ****, $p < 0,0001$ көрсетілген топтар арасындағы елеулі айырмашылықтар.

Куркуминнің пролиферациялық әсерін трипан көгімен бояу әдісі арқылы клеткалардың өміршендігін анықтадық. Бұрынғы зерттеулер көрсеткендей, куркуминнің өзі HL60 клеткаларының айтарлықтай дифференция тудырмағаны анықталды, алайда ол 1,25D₃-тің бірге қолданылған кезде дифференция маркерлерінің экспрессиясын едәуір күшейтті [208]. Жоғарыдағы зерттеулердің нәтижесін ескере отырып, біз 1,25D₃ пен куркуминнің комбинация кезінде біз екі агенттің синергиясын күткен едік. Алайда, комбинациялық емдеуге қарағанда 1,25D₃ дәрумені жалғыз өзі жоғарғы дифференциялық қасиет көрсетті (Сурет 12).

Өңделмеген бақылау тобы HL60 клеткаларының дифференциясы – 3,45% құраған; ал 0,5 нМ концентрациялы 1,25D₃ – 24,50%, 2,5 мкМ концентрациялы куркумин – 1,58%, 0,5 нМ 1,25D₃ мен 2,5 мкМ куркумин екеуінің комбинациясы – 22,16% көрсетті, 1 нМ концентрациялы 1,25D₃ – 47,41%, 5 нМ куркумин – 2,15 %, 1 нМ 1,25D₃ мен 5 мкМ куркумин екеуінің комбинациясы – 24,44% HL60 клеткаларының дифференциясын көрсетті.

HL60 клеткалардың өміршендігін зерттеу кезінде өңделмеген бақылау тобы HL60 клеткаларының дифференциясы – 95,70% құраған; ал 0,5 нМ концентрациялы 1,25D₃ – 81,79%, 2,5 мкМ концентрациялы куркумин – 73,00%, 0,5 нМ 1,25D₃ мен 2,5 мкМ куркумин екеуінің комбинациясы – 86,79 % көрсетті, 1 нМ концентрациялы 1,25D₃ – 68,25%, 5 нМ куркумин – 60,70%, 1 нМ 1,25D₃ мен 5 мкМ куркумин екеуінің комбинациясы – 75,12% антипролиферативті әсер көрсетті (Сурет 13).



Сурет 13 – 1,25D₃ және куркуминмен жеке және олардың комбинациясымен өңделген HL60 клеткаларының өміршендігі. Деректер OM±CA. One-way ANOVA-ға ілесуші Tukey критерийі бойынша бірнеше салыстыру тесті. ****, p<0,0001 көрсетілген топтар арасындағы елеулі айырмашылықтар; ns, статистикалық маңызды емес.

Бір қызығы, клеткаларға жүргізілген бірнеше зерттеулерде екі немесе одан да көп заттарды комбинирлеу бір-бірін әлсірететін немесе олардың әсерлерін төмендететін, яғни антагонизмдікке алып келгені жайлы білеміз. Мысалы, куркумин және ресвератрол (жүзім мен жидектерден алынатын полифенол) рак клеткалық модельдерде антиоксиданттық және қабынуға қарсы әсерлері бір-бірін әлсіретуі мүмкін. Мысалы, ресвератрол антиоксиданттық белсенділікті күшейтсе, куркумин оның антиоксиданттық белсенділігін ингибитирлейтін жолдарды іске қосады [209]. Келесі бір зерттеуде кверцетин мен дәрумен С қуатты антиоксиданттар болса да, олардың біріктірілген қолданылуы антагонизмге әкелген. Кверцетин дәрумен С метаболизмімен байланысты кейбір ферменттерді басытқылайды, бұл дәрумен С тиімділігін төмендетуі мүмкін [210]. Тағы бір зерттеуде, генистеин (фитоэстроген) мен 1,25D₃ простата клеткаларда антагонистік әсер көрсетуі мүмкін, өйткені генистеин дәрумен D₃ рецепторларының белсенділігін және оның сигналдық жолын басытқылайды. Бұл дәрумен D₃-тің дифференция және антипролиферативтік әсерлерін төмендетеді [211].

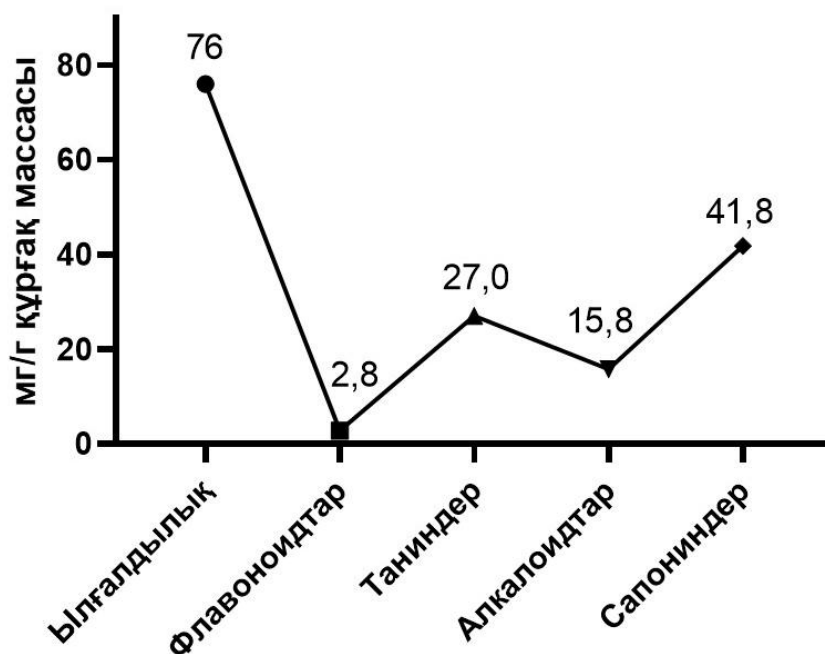
Жоғарыда сипатталған 1,25D₃ және куркумин комбинациясының пайдалы әсерінен айырмашылығы, біздің зерттеулерімізде күтпеген жерден осы агенттер арасында өзара әрекеттесудің жоқтығын немесе тіпті олардың комбинациясының бір ғана емнің әсеріне қарағанда төмен дифференциялық және антипролиферативтік әсер көрсетінін анықтадық. Қазіргі уақытта бұл антагонизмнің себебі анық емес, дегенмен біз екі компоненттің бір-бірімен немесе жеке-жеке үйлескенде бақылау клеткаларына токсинді әсер етпейтін, салыстырмалы түрде төмен дозаларын қолдандық.

3.2 *Curcuma Longa* L. тамыр ұнтағының фитохимиялық құрамын зерттеу

3.2.1 *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағындағы фитокомпоненттерін анықтау

Curcuma longa L. тамыры ұнтағының фитохимиялық құрамын зерттеу барысында алдыңғы зерттеулерге сәйкес [212, 213], біздің зерттеу нысанымызда да флавоноидтар, таниндер, алкалоидтар және сапониндер сияқты фитохимиялық заттар табылды. *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының ылғалдылығын тұрақты температурада кептіру әдісімен, флавоноидтарды стандарт ретінде кверцетинді пайдалана отырып, алюминий хлориді колориметриялық әдісімен, илік заттарды перманганатометриялық анықтау галл қышқылын стандарт ретінде пайдалана отырып, термометриялық титрлеу әдісімен, алкалоидтарды термопсинді стандарт ретінде пайдалана отырып, қышқылдық колориметрия әдісімен, сапониндерді суық ацетонмен тұндырғаннан кейін глицирризин қышқылын стандарт ретінде пайдаланып, колориметриялық әдіспен жүргізілді.

Зерттеу нәтижелері бойынша, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының ылғалдылығы – 76 мг/г көрсетті. Ылғалдылық – өсімдік материалдарындағы зерттеуге дайындаудан кейінгі қалған ылғалдылық, ол шикізаттың әрі қарай зерттеуге жарамдылығын сипаттайды. *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағының ылғалдылығын зерттеу осы өсімдік материалының сапасын талдаудың маңызды бөлігі болып табылады, өйткені оңтайлы ылғалдылық деңгейі оның компоненттерінің белсенділігін сақтау үшін өте маңызды. Флавоноидтардың жалпы мөлшері – 2,8 мг/г құрады. Бұл көрсеткіш басқа зерттеулермен салыстырғанда төмен мөлшерді көрсетті. Мысалы, Okiki және т.б. [214] нәтижелерінде *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағындағы флавоноидтардың мөлшері – 21,33 мг/г көрсеткен. Біздің зерттеуімізде келесі полифенол таниндердің мөлшері – 27,0 мг/г құрады. Алынған бұл нәтиже жоғарыда аталған жұмыста [214] салыстырмалы түрде бірнеше есе төмен, яғни – 0,54 мг/г болды. Біздің зерттеуімізде алкалоидтардың мөлшері – 15,8 мг/г құрады. Бұл көрсеткішті Okiki және т.б. [214] зерттеулермен салыстырғанда төмен болды, аталған зерттеуде алкалоидтардың саны – 30,60 мг/г көрсеткен. Сапониндердің мөлшері біздің зерттеулеріміз бойынша – 41,8 мг/г болды. Ал жоғарыда аталған жұмыста [214] олардың мөлшері – 9,50 мг/г құраған (Сурет 14).

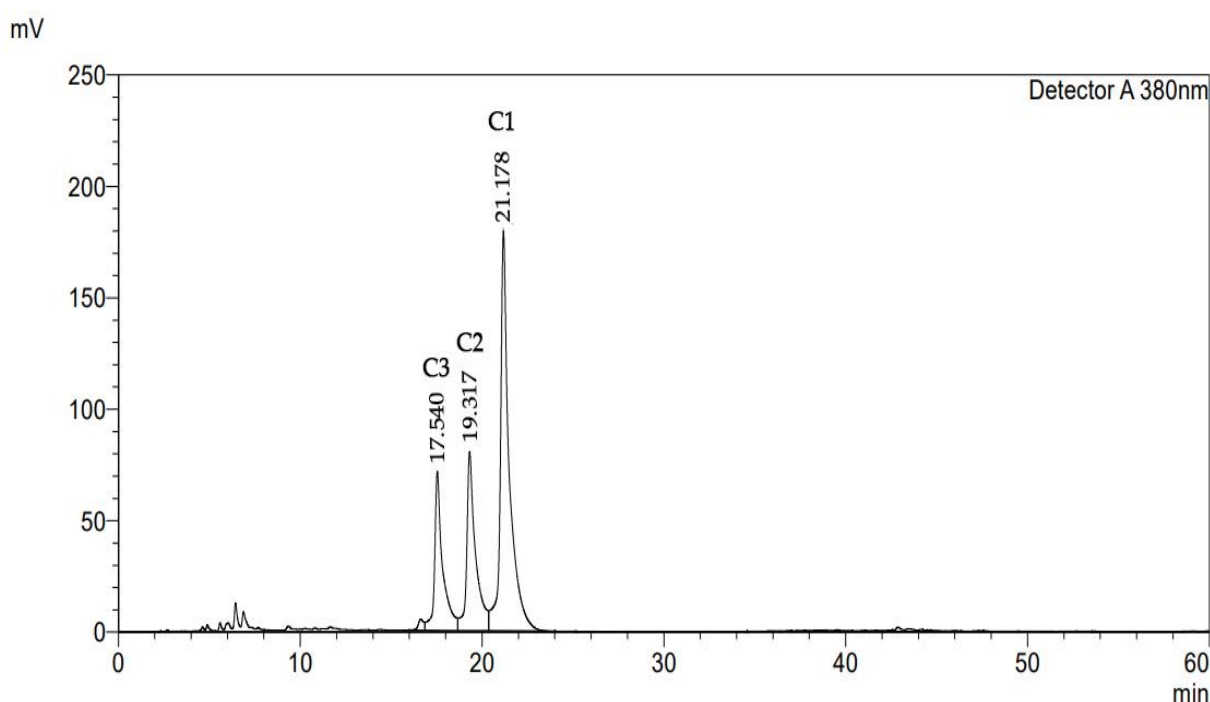


Сурет 14 – *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының ылғалдылығы және оның фитохимиялық компоненттерінің сандық көрсеткіштері

Осылайша, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағындағы фитокомпоненттерін сандық зерттеу барысында, оның құрамындағы флавоноидтар мен алкалоидтар бұрынғы зерттеулерге қарағанда төмен мөлшерде екенін байқадық. Ал таниндер мен сапониндердің саны, керісінше басқа жұмыстармен салыстырғанда жоғары мөлшерді көрсетті.

3.3.2 *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағындағы куркуминоидтардың мөлшері

Curcuma longa L. тамыр ұнтағының экстрактын талдауы сұйық тасымалдаушы ретінде ацетонитрил-0,1% құмырсқа қышқылын және куркумин, деметоксикуркумин (ДМК), бисдеметоксикуркумин (БДМК) стандарттарын қолдану арқылы жоғары өнімді сұйық хроматография (ЖӨСХ) әдісі арқылы жүзеге асырылды. Фитохимиялық зерттеу барысында *Curcuma longa* L. тамырының ұнтағының метанолды сығындысынан экстракция әдісі мен колонкалық адсорбциялық хроматографияның комбинациясы арқылы үш негізгі куркуминоид – куркумин, деметоксикуркумин және бисдеметоксикуркумин бөлініп алынды.



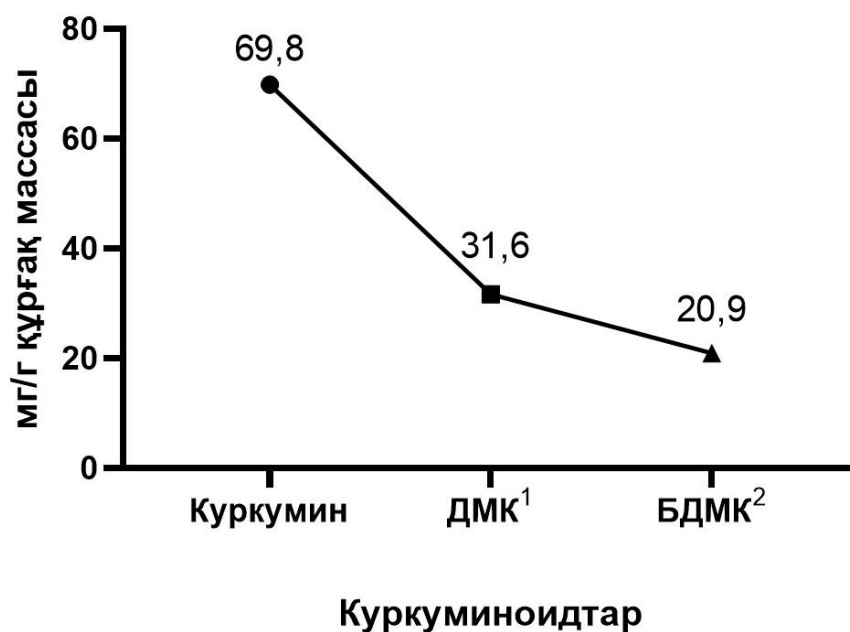
Сурет 15 – *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының метанол экстрактысының ЖӨСХ хроматограммасы. C1, куркумин; C2, деметоксикуркумин; C3, бисдеметоксикуркумин.

15-ші суретте куркумин, деметоксикуркумин және бисдеметоксикуркумин экстракттарының метанолды ерітінділер қоспасының 0,01 – 1 мг/л концентрация диапазонында ЖӨСХ хроматограммасы көрсетілген (Сурет 15).

Кесте 3 – *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының метанолды экстрактында анықталған куркуминоидтардың мөлшері

Компонент	Уақыты	Ауданы	Биіктігі	Конц., мг/л	Конц., мг/г
БДМК	17,540	2187049	71289	208,644	20,86
ДМК	19,317	2701556	80299	316,316	31,63
Куркумин	21,178	6087018	179234	697,772	69,78

Хроматограмма бойынша, куркуминоидтардың ұстау уақытында және ұсынылған жүйеде тиімді бөлінуінде айтарлықтай айырмашылықтар бар екенін кестеден көруімізге болады (Кесте 3). Метанолды пайдаланып алынған экстракттағы жеке куркуминоидтардың құрамын талдау нәтижесінде, оның құрамында 69,8 мг/г – куркумин, 31,6 мг/г – деметоксикуркумин, 20,9 мг/г – бисдеметоксикуркумин бар екені анықталды. Зерттеу нәтижесі бойынша, негізгі куркуминоид – куркумин басым қосылыс болып табылды (Сурет 16).



Сурет 16 – *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағындағы негізгі куркуминоидтардың сандық көрсеткіштері. ¹ ДМК, деметоксикуркумин; ² БДМК, бисдеметоксикуркумин.

Curcuma longa L. тамыр ұнтағының фитохимиялық талдау нәтижелері негізгі куркуминоидтардың мөлшері әртүрлі куркума ұнтақтары үшін бұрынғы зерттеу нәтижелеріне [199] ұқсас екенін көрсетті: куркумин (62–90 мг/г), деметоксикуркумин (9–23 мг/г) және бисдеметоксикуркумин (0,3–14 мг/г). [199].

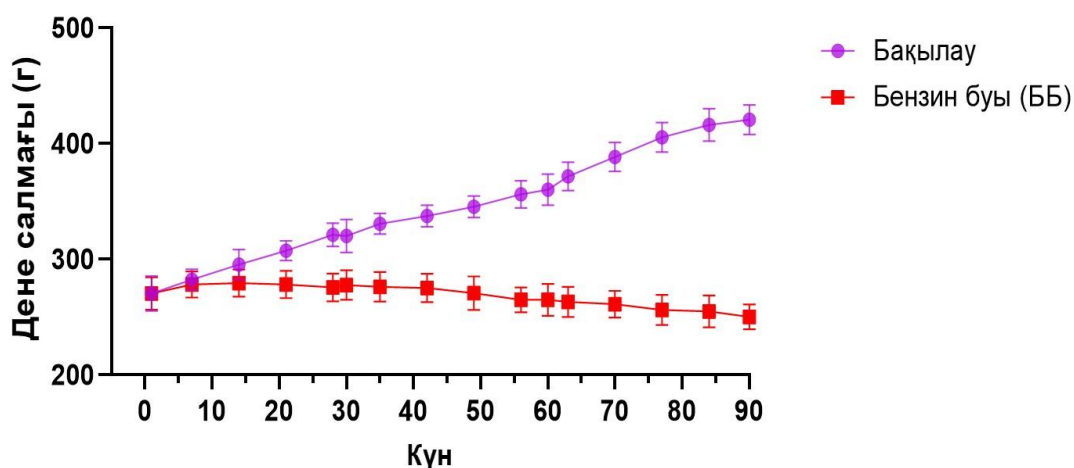
Осылайша, хроматографиялық бөлудің негізгі куркуминоидтар үшін оңтайлы жағдайлары таңдалды, олардың сапалық және сандық анықталуы жүргізілді. Куркуминоидтардың сипаттамалық қатынасы анықталды: куркумин, деметоксикуркумин және бисдеметоксикуркумин, бұл *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағының емдік шикізат ретінде қолдану мүмкіндігін дәлелдейді. *Curcuma longa* L.-нің дәрілік құндылығы куркуминоидтардың жоғары құрамымен байланысты.

3.3 Бензин буымен улану аясында егеуқұйрықтардың дене салмағының динамикасындағы, өкпесіндегі, бауырындағы, бүйрегіндегі, көкбауырдағы макроскопиялық және микроскопиялық өзгерістерге D₃ дәруменінің, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағының және олардың комбинациясының әсерін 30, 60 және 90 күн бойы зерттеу

3.3.1 Егеуқұйрықтардың дене салмағының динамикасы

Егеуқұйрықтардың дене салмағының динамикасын бақылау үшін олар 30, 60 және 90 күн бойы таңғы уақытта ашқарынға апта сайын өлшенді. Алынған деректер Microsoft Excel бағдарламалық қосымшасына тіркелді.

Басты назар аударатын жәйт, бірінші - интактты бақылау тобы мен бесінші – ББ-на ұшыраған топ арасында егеуқұйрықтардың дене салмақтарында елеулі айырмашылықтар болды. Яғни стандартты рацион қабылдаған бірінші топ егеуқұйрықтарының салмағы 90 күн бойы нормаға сай тұрақты жоғарылап отырса, салыстырмалы түрде, бесінші ББ-ына ұшыраған топ салмағының айқын төмендеу тенденциясы байқалды (Сурет 17).



Сурет 17 – Бақылау тобы мен тек ББ-ын қабылдаған топ арасындағы 0-90 күн бойында егеуқұйрықтардың дене массасының динамикасын салыстыру. Барлық топтағы (әр топта 15 егеуқұйрық) егеуқұйрықтарды 0-ші күннен бастап апта сайын өлшеді. Деректер $OM \pm CA$. Статистикалық мәліметтерді өңдеу: One-way ANOVA-ға ілесуші Tukey критерийі бойынша бірнеше салыстыру тестімен есептелді.

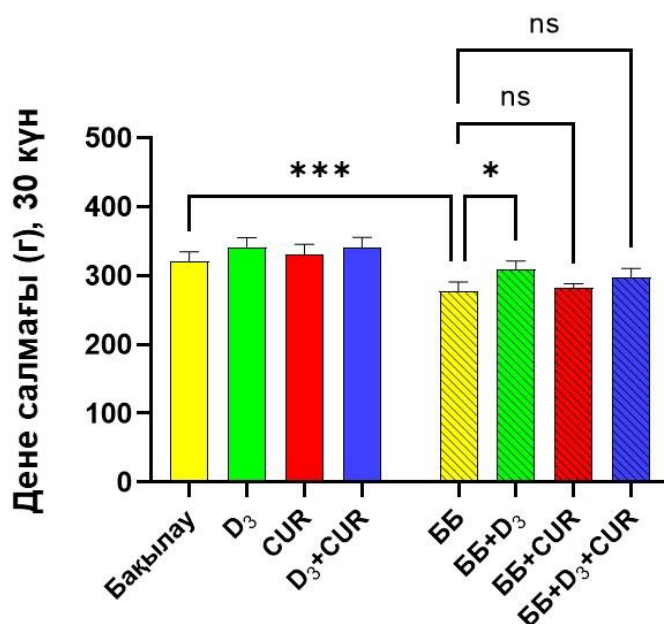
Эксперименттің **30-шы күні**, егеуқұйрықтардың дене салмағы динамикасының 18-ші суретте көрсетілгендей, қоректік қоспаларға және ББ-ның уыттылығына тәуелді төмендегідей өзгерістері тіркелді (Сурет 18):

Бірінші, базалық диета қабылдаған бақылау тобы егеуқұйрықтарының салмағы нормаға сай – $321,1 \pm 9,5$ граммды көрсетті.

Екінші топ, D_3 дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының дене салмағы, бірінші бақылау тобымен салыстырғанда, елеулі – 6,8 %-ға төмендегінін байқауға болады.

*Үшінші топ, *Circuta longa* L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының* дене салмағы бақылау тобымен салыстырғанда – 3,1 %-ға азайған.

*Төртінші топ, D_3 дәруменін және *Circuta longa* L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының* массасы бақылау тобымен салыстырғанда – 6,3 %-ға жоғарылды.



Сурет 18 – 30 күн бойында D_3 дәрумені, *Circuta longa* L. тамыр ұнтағы және олардың комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшыраған және ұшырамаған егеуқұйрықтардың ($n=5$) дене салмағының динамикасы. Деректер $OM \pm SA$. One-way ANOVA-ға ілесуші Tukey критерийі бойынша бірнеше салыстыру тесті. *, $p < 0,05$; ***, $p < 0,001$ көрсетілген топтар арасындағы елеулі айырмашылықтар; ns, статистикалық маңызды емес.

Алайда, бесінші топтағы, тек қана ББ-на ұшыраған эксперименттік егеуқұйрықтардың дене салмағын өлшеу нәтижелерін бақылау тобымен салыстырғанда салмақ қосу жылдамдығының – 15,2 %-ға ($p < 0,001$) төмендеу үрдісін көрсетті.

Алтыншы топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D_3 дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының дене салмағын бақылау тобымен салыстырғанда – 3,5 %-ға

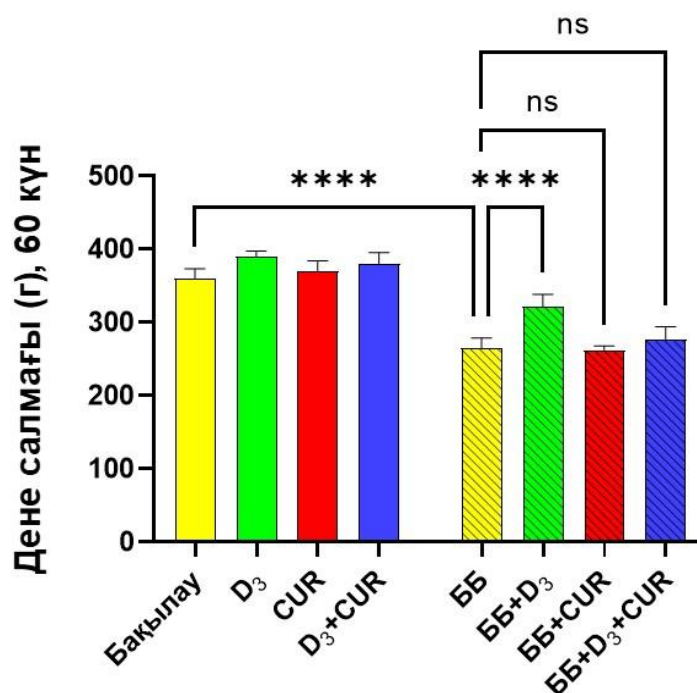
ғана төмендеді. Ал бұл топтың дене салмағын бесінші, ББ қабылдаған топпен салыстырғанда – 13,8 %-ға жоғары екендігі көрінді. Яғни, D₃ дәрумені егеуқұйрықтардың ББ-ның әсерінен болған дене салмағын жоғалтудан қорғайтынын байқауға болады.

Жетінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының дене салмағы бақылау тобымен салыстырғанда – 11,8 %-ға төмендеді. Ал бұл топтың дене салмағын бесінші, ББ қабылдаған топпен салыстырғанда – 4,0 %-ға жоғары екендігі көрінді.

Сегізінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін және *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының дене салмағы бақылау тобымен салыстырғанда – 6,9 %-ға төмендеген. Ал бұл топтың дене салмағын бесінші, ББ қабылдаған топпен салыстырғанда – 9,8 %-ға жоғары екендігі байқалды.

Эксперименттің **60-шы күні**, егеуқұйрықтардың дене массасы 19-шы суретте көрсетілгендей, қоректік қоспаларға, ББ-ның уыттылығына және уақытқа тәуелді келесідей өзгерістер үдерісін көрсетті (Сурет 19):

Бірінші, базалық диета қабылдаған бақылау тобы егеуқұйрықтарының салмағы қалыпты физиологияға сәйкес – 356,1±11 граммды көрсетті.



Сурет 19 – 60 күн бойында D₃ дәрумені, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы және олардың комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшыраған және ұшырамаған егеуқұйрықтардың (n=5) дене салмағының динамикасы. Деректер ОМ±СА. One-way ANOVA-ға ілесуші Tukey критерийі бойынша бірнеше салыстыру тесті. ****, p<0,0001 көрсетілген топтар арасындағы елеулі айырмашылықтар; ns, статистикалық маңызды емес.

Екінші топ, D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының дене салмағы, бірінші бақылау тобымен салыстырғанда, елеулі – 8,3 %-ға төмендегінін байқауға болады.

Үшінші топ, Cirsuta longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының дене салмағы бақылау тобымен салыстырғанда – 2,8 %-ға азайған.

Төртінші топ, D₃ дәруменін және Cirsuta longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының массасы бақылау тобымен салыстырғанда – 5,6 %-ға жоғарылды.

Бірақ, бесінші топтағы, тек қана ББ-на ұшыраған эксперименттік егеуқұйрықтардың дене салмағы бақылау тобымен салыстырғанда салмақ қосу жылдамдығының – 31,11 %-ға ($p<0,0001$) төмендеуі байқалды.

Алтыншы топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының дене салмағын бақылау тобымен салыстырғанда – 10,7 %-ға ғана төмендеді. Ал бұл топтың дене салмағын бесінші, ББ қабылдаған топпен салыстырғанда – 29,7 %-ға жоғары екендігі көрінді. Яғни, D₃ дәрумені 60-шы күні әлі де, егеуқұйрықтардың ББ-ның әсерінен болған дене салмағының төмендеуінен қорғайтынын байқауға болады.

Жетінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында Cirsuta longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының дене салмағы бақылау тобымен салыстырғанда – 27,5 %-ға төмендеді. Ал бұл топтың дене салмағын бесінші, ББ қабылдаған топпен салыстырғанда – 5,2 %-ға жоғары екендігі көрінді.

Сегізінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін және Cirsuta longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған топ дене салмағы бақылау тобымен салыстырғанда – 23,2 %-ға төмендеген. Ал бұл топтың дене салмағын бесінші, ББ қабылдаған топпен салыстырғанда – 11,5 %-ға жоғары екендігі байқалды.

Эксперименттің **90-шы күні**, егеуқұйрықтардың дене массасы 20-шы суретте көрсетілгендей, қоректік қоспаларға және ББ-ның уыттылығы мен оның созылмалы әсер ету уақытына тәуелді келесідей өзгерістер тенденциясының жалғасуы бақыланды (Сурет 20):

Бірінші, бақылау тобы салмағы физиологиялық нормаға сай – $416,2 \pm 12,5$ граммды көрсетті.

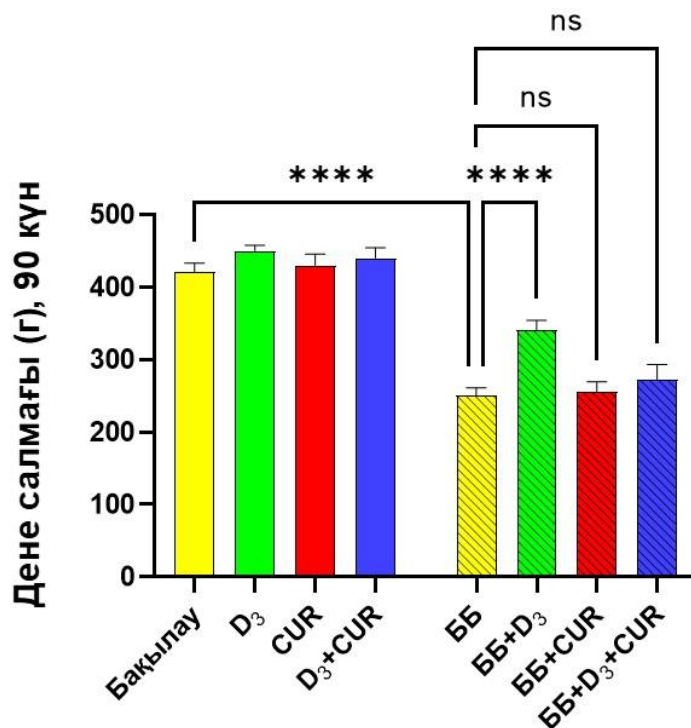
Екінші топ, D₃ дәруменін қабылдаған топ дене салмағы, бірінші бақылау тобымен салыстырғанда, елеулі – 7,1 %-ға жоғарылағанын байқауға болады.

Үшінші топ, Cirsuta longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының дене салмағы бақылау тобымен салыстырғанда – 2,4 %-ға жоғарылаған.

Төртінші топ, D₃ дәруменін және Cirsuta longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының массасы бақылау тобымен салыстырғанда – 4,8 %-ға жоғарылды.

Алайда, бесінші топтағы, тек қана ББ-на ұшыраған эксперименттік егеуқұйрықтардың дене салмағы бақылау тобымен салыстырғанда салмақ қосу жылдамдығының – 41,4 % ($p<00001$) төмендеді. Бұл ББ-ның әсері

егеуқұйрықтардың дене салмағының қосылуына айтарлықтай теріс әсер ететінін көрсетеді. Әдеби шолу бойынша, егеуқұйрықтарды $11,13 \pm 1,1$ см³/сағ/м³ дозасында аптасына 6 күн, 6 сағат бойы ББ-мен 11 апта бойы улау дене салмағының, бақылау тобымен салыстырғанда 14,10 %-ға төмендегені анықталған [71].



Сурет 20 – 90 күн бойында D₃ дәрумені, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы және олардың комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшыраған және ұшырамаған егеуқұйрықтардың (n=5) дене салмағының динамикасы. Деректер ОМ±СА. One-way ANOVA-ға ілесуші Tukey критерийі бойынша бірнеше салыстыру тесті. ****, p<0,0001 көрсетілген топтар арасындағы елеулі айырмашылықтар; ns, статистикалық маңызды емес.

Алтыншы топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының дене салмағын бақылау тобымен салыстырғанда – 18,8 %-ға ғана төмендеді. Ал бұл топтың дене салмағын бесінші, ББ қабылдаған топпен салыстырғанда – 38,6 %-ға жоғары екендігі көрінді. Яғни, D₃ дәрумені 90-шы күні әлі де, егеуқұйрықтардың ББ-ның әсерінен болған дене салмағының төмендеуінен қорғайтынын көруге болады.

Жетінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының дене салмағы бақылау тобымен салыстырғанда – 38,9 %-ға төмендеді. Ал бұл топтың дене салмағын бесінші, ББ қабылдаған топпен салыстырғанда – 4,1 %-ға жоғары екендігі көрінді.

Сегізінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін және *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының дене салмағы бақылау тобымен салыстырғанда – 35,2 %-ға төмендеген. Ал бұл

топтың дене салмағын бесінші, ББ қабылдаған топпен салыстырғанда – 10,6 %-ға жоғары екендігі байқалды.

Осылайша, ББ-сыз D₃ дәруменін, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын және олардың комбинациясын қабылдаған алғашқы 4 топ егеуқұйрықтарының дене салмағының динамикасын бақылау барысында жануарлардың массасының қалыпты өсу тенденциясы тіркелді және физиологиялық ауытқулар орын алған жоқ.

Ал ББ-ын қабылдаған бесінші топ егеуқұйрықтары улану кезінде, бақылау тобымен салыстырғанда, салмағы едәуір төмендеді, бұл бензиннің уытты компоненттерінің кесірінен салмақ жоғалуы және өсудің тежелуі орын алған болуы мүмкін. Бірақ, D₃ дәрумені мен *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының комбинациялық әсері 30, 60 және 90 күн ішінде салмақты физиологиялық рұқсат етілген нормаға жақын ұстауға көмектесті. Әсіресе, D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтардың дене салмағы бақылау тобына көбірек жақын болды.

3.3.2 Егеуқұйрықтардың органдарының макроскопиялық өзгерістері

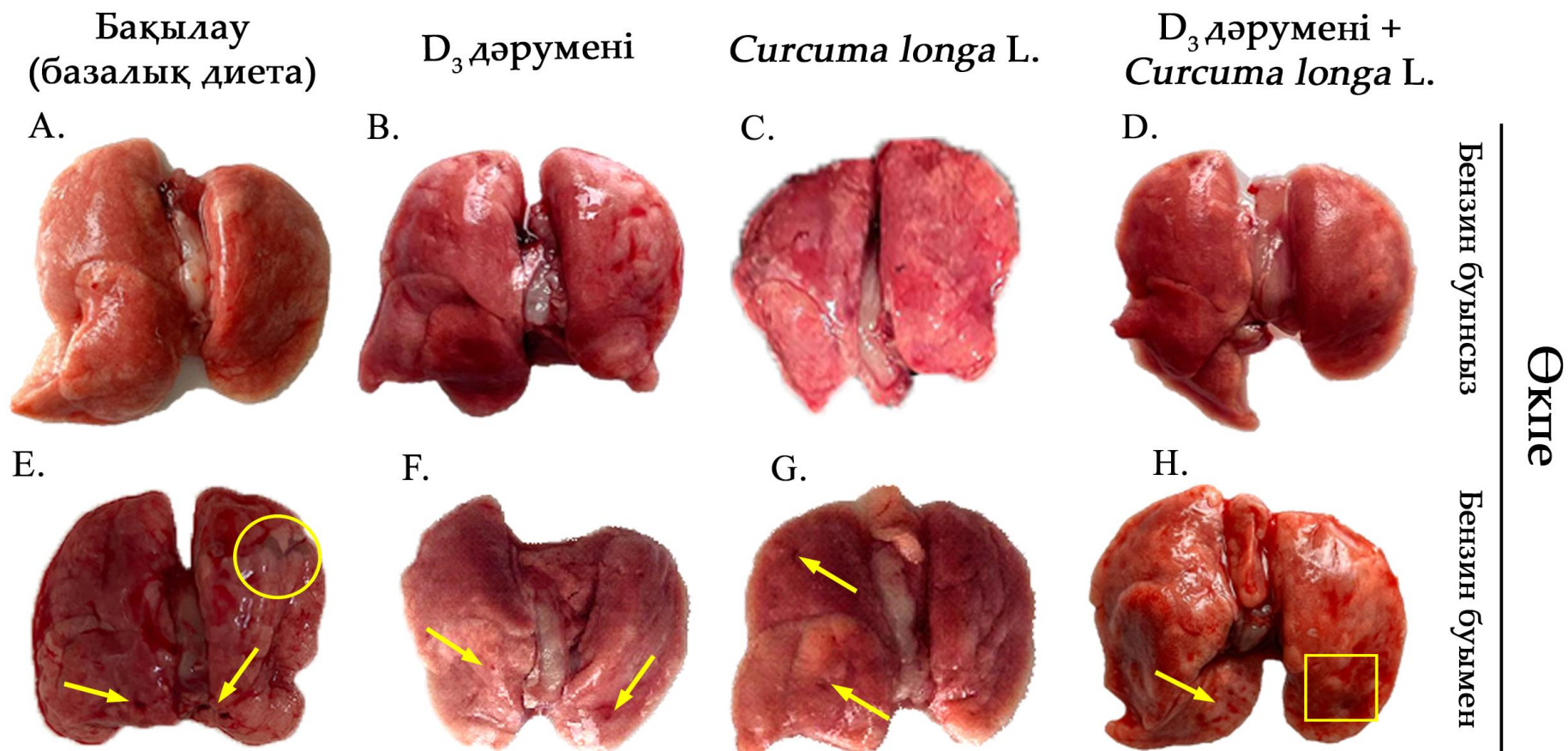
D₃ дәрумені, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағы немесе олардың комбинациясын ББ-ның әсері кезінде және онсыз қабылдаған егеуқұйрықтардың өкпе, бауыр, бүйрек және көкбауырына макроскопиялық талдау жүргізілді. Әр эксперименттік топтан 30, 60 және 90 күндері бес егеуқұйрыққа эфирдің летальді дозасы арқылы анестезия жасалды. Одан соң, олардың кеуде және құрсақ қуыстары ашылып, ішкі органдары визуалды түрде бағаланды және суретке түсірілді. Бұл тарауда зерттеулеріміздің орташа көрсеткіші ретінде 60-шы күнгі нәтижелер көрсетілді.

Өкпе – негізгі тыныс алу органы болғандықтан, ББ-мен ингаляциялық улану кезінде ең бірінші зақымданатын органның бірі болып табылады. Егеуқұйрықтардың өкпесінің макроскопиялық зерттеулері кезінде оның құрылысында қоректік қоспаларға және уақытқа тәуелді әртүрлі патологиялардың дамығаны байқалды.

Бірінші, базалық диета қабылдаған бақылау тобы егеуқұйрықтарының өкпесінің орналасуы нормаға сай, артық өзгеріссіз, жабысулар жоқ, кеңею дәрежесі қалыпты. Өкпе ұлпасы ауаға толы, қызғылт түсті, ісіну және қан құйылу белгілері жоқ. Өкпенің кесілген беті тегіс, жұмсақ, қанық қызғылт түсті, қанмен толуы орташа (Сурет 21, А).

Екінші топ, D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының өкпесінің пішіні өзгеріссіз, жабысулар байқалмайды, сыйымдылығы қалыпты. Өзі сарғыш-қызғылт түсті, ісіну және қан ұю белгілері көрінбейді. Өкпенің кесілген беті жұмыр және жұмсақ (Сурет 21, В).

Үшінші топ, Curcuma longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының өкпесінің көрінісі сау, түсі ашық қызғылт, ауаға толуы қалыпты. Ісіну және гематома белгілері жоқ. Өкпенің кесілген беті тегіс және жұмыр (Сурет 21, С).



Сурет 21 – D₃ дәруменін, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын және олардың комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшыраған және ұшырамаған егеуқұйрықтардың өкпесінің эксперименттің 60-шы күніндегі макроскопиясы. Әр топтан 5 егеуқұйрықтың біреуінің органдарының репрезентативті суреттері көрсетілген. *Көрсеткілер* — геморрагиялар; *шаршы* — ұлпа түсінің өзгерулері; *шеңбер* — плевралық экссудат.

Төртінші топ, D₃ дәруменін және Curcuma longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының өкпесінің орналасуы және көрінісі нормаға сай, түсі қызғылт, ауаға толуы жне сыйымдылығы қалыпты. Дәнекер ұлпасының өсінділері, ісінуі және қан ұю ошақтары байқалмайды. Кескен кезде құрылысы біркелкі және жұмсақ (Сурет 21, D).

Алайда, бесінші топтағы, тек қана ББ-на ұшыраған эксперименттік егеуқұйрықтардың өкпесінің түсі күңгірт қызыл түсті, органның жалпы ісінуі байқалды, сәйкесінше пішіні өзгерген. Әр жерде асептикалық қабынулар мен инфильтраттар көрінеді. Сонымен қатар, органның өзі мен плеврасының арасында жиналған экссудаттар (шеңбер) байқалады. Майда нүктелі геморрагиялар (көрсеткілер) органның бірнеше жерінде таралған (Сурет 21, E). Өкпенің мұндай патологиялық бұзылыстары жайлы біз ілгеріде баяндаған болатынбыз [215].

Алтыншы топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының өкпесінің түсі күңгірт қызғылт, бірақ бұл бесінші топ егеуқұйрықтарымен салыстырғанда әлдеқайда жақсы көріністі берді. Органның жалпы ісінуі азайған. Инфильтраттар байқалмайды, алайда нүктелі геморрагиялар (көрсеткілер) аздаған жерлерде кездеседі (Сурет 21, F).

Жетінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында Curcuma longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының өкпесінің түсі сарғыш-қоңыр, органның жалпы ісінуі едәуір сақталған. Органның беткі қабатында нүктелі геморрагиялар (көрсеткілер) көрініс табады (Сурет 21, G).

Сегізінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін және Curcuma longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының өкпесінің түсі сарғыш қызыл, ісіну және плевралық қабаттың түсінің өзгерулері байқалады. Нүктелі геморрагиялар (көрсеткілер) жиі кездеседі (Сурет 21, H).

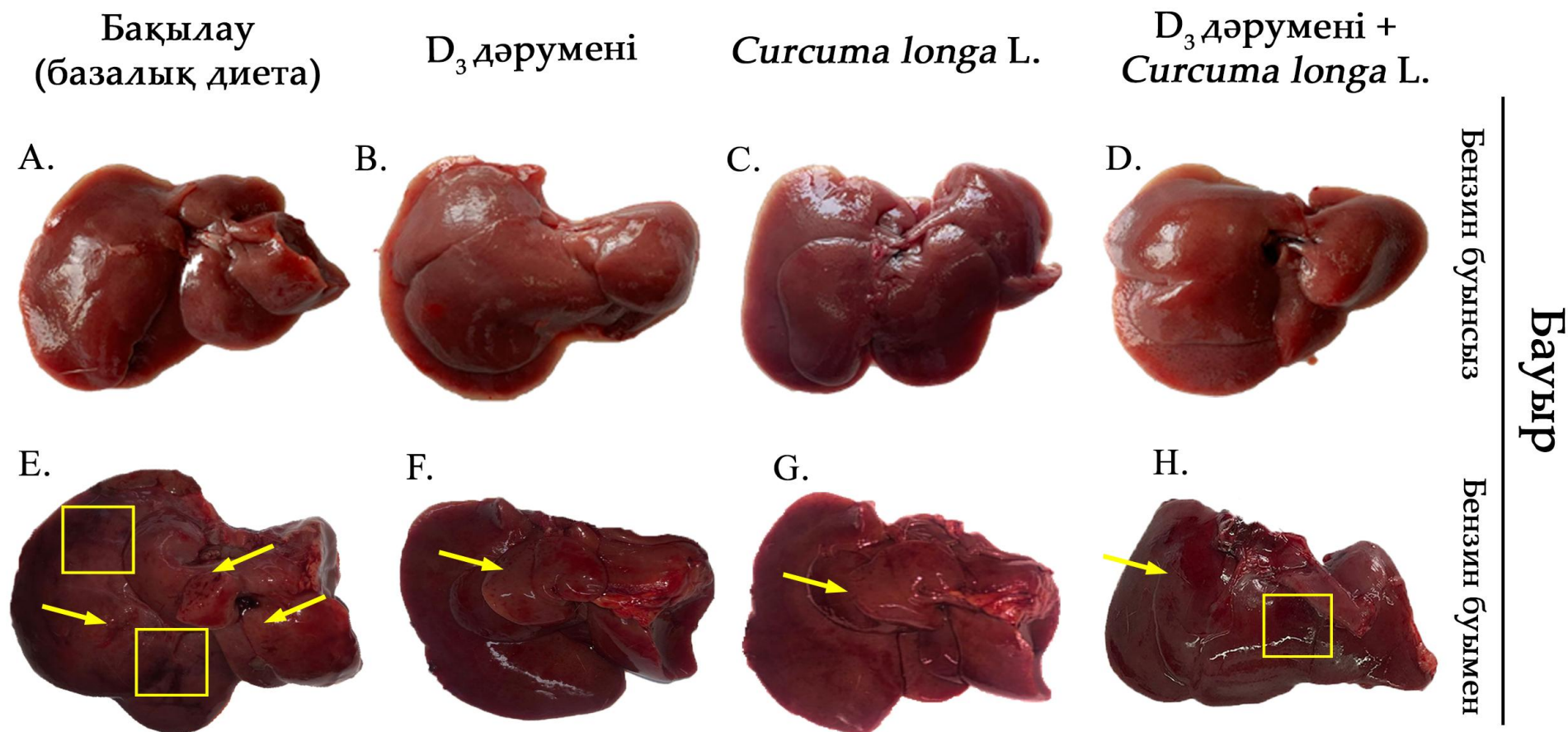
Бауыр – организмдегі негізгі детоксикация (улы заттарды залалсыздандыру) органы болғандықтан, қанға сіңген ББ-ның уытты компоненттерін өңдеуге мәжбүр болады. Егеуқұйрықтардың бауырының макроскопиялық зерттеулері кезінде оның құрылысын мен құрамында қоректік қоспаларға және уақытқа тәуелді түрлі өгерістердің дамығаны анықталды.

Бірінші, базалық диета қабылдаған бақылау тобы егеуқұйрықтарының бауырының түсі қою қызыл, капсуласы тегіс, жылтыр, кесілгенде біртекті, әдеттегі консистенцияда, шеттері өткір (Сурет 22, A).

Екінші топ, D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының бауырының түсі қанық қызыл, сыртқы капсуласы жұмыр, жылтыр, кескен кезде орташа қан кету көрінеді, құрылысы біртекті, органның шеттері қырлы (Сурет 22, B).

Үшінші топ, Curcuma longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының бауыры сарғыш-қызыл түсті, сыртқы серозды қабығы тегіс, жылтыраған, органды кескенде кішігірім қан кету бар, құрамы біртекті (Сурет 22, C).

Төртінші топ, D₃ дәруменін және Curcuma longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының бауыры күңгірт қызғылт



Сурет 22 – D₃ дәруменін, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын және олардың комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшыраған және ұшырамаған егеуқұйрықтардың бауырының эксперименттің 60-шы күніндегі макроскопиясы. Әр топтан 5 егеуқұйрықтың біреуінің органдарының репрезентативті суреттері көрсетілген. *Көрсеткілер* — геморрагиялар; *шаршы* – ұлпа түсінің өзгерулері; *шеңбер* – плевралық экссудат.

түсті, серозды қабығы жұмсақ, мөлдір, кескен кезде орташа дәрежедегі қан шығу байқалады, құрылысы біріңғай (Сурет 22, D).

Бірақ, бесінші топтағы, тек қана ББ-на ұшыраған эксперименттік егеуқұйрықтардың бауырының түсі күңгірт қызыл, сыртқы көрінісі шимақталып жиырылған, беті кедір-бұдырлы, кей жерлерінде ұлпа түсінің өзгерулері (*шаршылар*) орын алған, тығыздалған құрылымды, кесілгенде біркелкі емес. Органның бетінде көптеген нүктелі қан ұю ошақтары, яғни геморрагиялар (*көрсеткілер*) таралған (Сурет 22, E).

Алтыншы топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының бауыр түсі қоңыр, сыртқы көрінісі жылтыр және жұмыр, бетінде нүктелі геморрагиялар (*көрсеткілер*) кездеседі. Алайда органның жалпы көрінісі, бесінші топ егеуқұйрықтарымен салыстырғанда патологиялық өзгерістердің азайғаны байқалады (Сурет 22, F).

Жетінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында Cirsuta longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының бауырының түсі сарғылт-қызыл, сыртқы көрінісі кедір-бұдырлы, бетінде нүктелі геморрагиялар (*көрсеткілер*) таралған (Сурет 22, G).

Сегізінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін және Cirsuta longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының бауырының түсі қоңырқай, аздаған жерлерінде ұлпа түсінің өзгерулері (*шаршылар*) көрініс табады, сыртқы қабатыр тегіс емес, бетінде нүктелі геморрагиялар (*көрсеткілер*) көрінеді (Сурет 22, H).

Бүйрек – организмдегі негізгі сүзгі қызметін атқарады және қандағы уытты заттарды несеппен бірге сыртқа шығарып отырады. Сондықтан, ол ББ-ның қанға өткен улы компоненттерін сүзу барысында зақымдалады. Егеуқұйрықтардың бүйрегін макроскопиялық зерттеу барысында оның нефроқұрылысында қоректік қоспаларға және уақытқа тәуелді түрлі ауытқулардың пайда болғаны анықталды.

Бірінші, базалық диета қабылдаған бақылау тобы егеуқұйрықтарының бүйректері ашық қоңыр түсті, құрылысы нормаға сай, бұршақ тәрізді пішінде, өлшемдері өзгермеген, тостағаншалары бос, кисталар, түйіндер байқалмайды (Сурет 23, A).

Екінші топ, D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының бүйректері қоңырқай түсті, пішіні асбұршақ тәрізді, көлемі өзгермеген, тостағаншаларында артық заттар жоқ, өсінділер байқалмайды (Сурет 23, B).

Үшінші топ, Cirsuta longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының бүйректері қошқыл қоңыр түсті, пішіні бұршаққа ұқсайды, ісіну жоқ, артық өсінділер байқалмайды, кескен кезде органның архитектурасы сақталғанын көруге болады (Сурет 23, C).

Төртінші топ, D₃ дәруменін және Cirsuta longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының бүйректерінің түсі сарғыш-қоңырқай, асбұршақ пішінді, ісіну жоқ, дәнекер ұлпасынан тараған фиброздық өсінділер көрінбейді, тілген кезде құрылысының сақталғаны байқалады (Сурет 23, D).

Бақылау
(базалық диета)

D₃ дәрумені

Curcuma longa L.

D₃ дәрумені +
Curcuma longa L.

A.

Оң Сол



B.



C.



D.



E.



F.



G.



H.



Бензин буынсыз

Бензин буымен

Бүйрек

Сурет 23 – D₃ дәруменін, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын және олардың комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшыраған және ұшырамаған егеуқұйрықтардың бүйрегінің эксперименттің 60-шы күніндегі макроскопиясы. Әр топтан 5 егеуқұйрықтың біреуінің органдарының репрезентативті суреттері көрсетілген.

Ал, бесінші топтағы, тек қана ББ-на ұшыраған эксперименттік егеуқұйрықтардың бүйректері күңгірт түсті, әсіресе сол жақ бүйректің ісінуі нәтижесінде орган өзінің асбұршақ тәрізді пішінін жоғалтқан. Құрылымы қатты, сыртқы серозды қабаты жылтыр емес және кедіс-бұдырлы (Сурет 23, Е). Бүйректің мұндай патологиялық бұзылыстары жайлы біз ілгеріде баяндаған болатынбыз [216].

Алтыншы топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының бүйректері қоңырқай түсті. Бесінші топпен салыстырғанда, ісінуі басылған. Дегенмен, серозды қабаты табиғи жылтырлығын жоғалтқан (Сурет 23, F).

*Жетінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында *Circuta longa* L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының бүйректері сарғылт-қоңыр түсті. Шамалы ісіну байқалады. Капсуласы табиғи жылтырлығын жоғалтқан (Сурет 23, G).*

*Сегізінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін және *Circuta longa* L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының бүйректері қызғылт-қоңыр түсті. Әсіресе сол жақ бүйректің ісінуі байқалады. Сыртқы қабаты кедір-бұдырлы (Сурет 23, H).*

Көкбауыр – иммундық және қан айналымы жүйесіне қатысатын негізгі орган болып табылады Сондықтан да, ол ББ-мен ингаляциялық улану кезінде қандағы зақымдалған клеткаларды сүзу және иммундық жауапты реттеу барысында зақымдануы мүмкін.

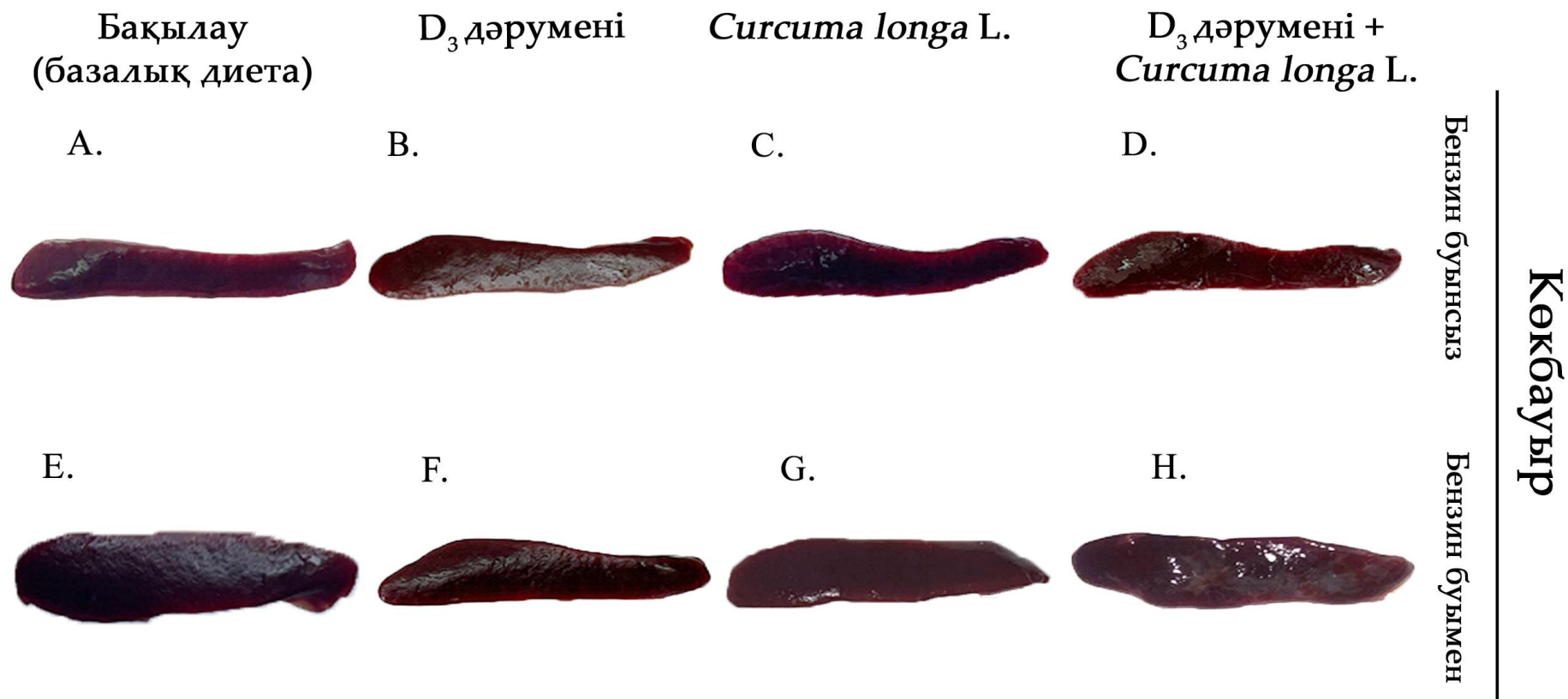
Бірінші, базалық диета қабылдаған бақылау тобы егеуқұйрықтарының көкбауыры қара шие түстес, асқазанмен, диафрагмамен және басқа органдармен бірігуі жоқ. Қабықшасы тегіс, жылтыр, фибрин шөгінділері жоқ, органның консистенциясы орташа тығыздықта, жараланбаған және қан құйылу белгілері, тығыздалу немесе жұмсару ошақтары жоқ (Сурет 24, А).

Екінші топ, D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының көкбауыры қою түсті, көршілес жатқан басқа органдармен түйісу шеттері қалыпты. Сыртқы қабықшасы тегіс, мөлдір, дәнекер ұлпасының өсінділері байқалмайды (Сурет 24, В).

*Үшінші топ, *Circuta longa* L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының көкбауыр сарғыш-күңгірт түсті, пішіні лента тәрізді ұзынша, сыртқы қабығы мөлдір, тегіс, тығыздығы орташа (Сурет 24, С).*

*Төртінші топ, D₃ дәруменін және *Circuta longa* L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының көкбауыры қанық қоңыр түсті, ұзынша лента тәрізді, серозды қабығы жылтыр, жұмыр, консистенциясы орташа (Сурет 24, D).*

Алайда, бесінші топтағы, тек қана ББ-на ұшыраған эксперименттік егеуқұйрықтардың көкбауыры сұрғылт-болат түсті, органның капсуласы тегіс емес және қалыңдаған. Лента тәрізді пішінін жоғалтқан. Қанмен толу айқын байқалады. Консистенциясы қатты. Капсула астында және органның қалыңдығында қан құйылу байқалады (Сурет 24, Е).



Сурет 24 – D₃ дәруменін, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын және олардың комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшыраған және ұшырамаған егеуқұйрықтардың көкбауырының эксперименттің 60-шы күніндегі макроскопиясы. Әр топтан 5 егеуқұйрықтың біреуінің органдарының репрезентативті суреттері көрсетілген.

Алтыншы топ, ББ-ның ингаляциясы аясында *D₃* дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының көкбауыры сұрғылт қызыл түсті, сыртқы капсуласы кедір-бұдыр. Дегенмен, лента тәрізді пішіні сақталған (Сурет 24, F).

Жетінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының көкбауыры сарғыш-қызыл түсті, пішіні жалпайған, сыртқы капсуласы тегіс емес (Сурет 29, G). Интоксикация кезінде егеуқұйрықтардың организміне *Curcuma longa* L. өсімдігінің тигізетін пайдасы жайлы біз ертеректе келтірген болатынбыз [217].

Сегізінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында *D₃* дәруменін және *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының көкбауыры қоңырқай қара түсті, лента тәрізді пішінін жоғалтып, жалпайған, капсуласы кедір-бұдыр (Сурет 24, H).

Осылайша, ББ-сыз *D₃* дәруменін, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын және олардың комбинациясын қабылдаған алғашқы 4 топ егеуқұйрықтарының органдарын макроскопиялық зерттеу нәтижелері дені сау жануарлар екенін көрсетті. Олардың органдарының рельефі тегіс, мөлдір болды және микроциркуляциясында өзгерістері байқалмады. Органдардың орналасуында топографиялық ерекшеліктер болған жоқ. Серозды қабықтары мен ішпердесі ылғалды, жылтыр, табиғи ақшыл түсті. Тек, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын қабылдаған топтарда ішкі органдардың сыртқы қабатында жеңіл сарғыш түсті байқауға болады. Бұл *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының сары түсті беретіндігінен болуы мүмкін [218, 219].

Ал, ББ-ын қабылдаған бесінші топ егеуқұйрықтарының органдарын макроскопиялық зерттеу барысында айтарлықтай нормадан ауытқу процесстері орын алғаны анықталды. Егеуқұйрықтардың құрсақ және кеуде қуысы органдарының орналасуы бақылау тобымен салыстырғанда ұлпа түсінің өзгеруі, геморрагиялар, ісінулер және инфильтраттардың жиналуы сияқты бұзылыстар байқалды. Алайда, жоғарыда аталған бұл патологиялық өзгерістер *D₃* дәруменін, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын және олардың комбинациясын қабылдаған кезде ішкі органдарының макроскопиялық көрінісі едәуір жақсарғанын байқауға болды. Әсіресе, *D₃* дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтардың ішкі органдары жақсы сақталғанын анықталды.

3.3.3 Егеуқұйрықтардың органдарының гистологиялық өзгерістері

D₃ дәрумені, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағы немесе олардың комбинациясын ББ-ның әсері кезінде және онсыз қабылдаған егеуқұйрықтардың өкпе, бауыр, бүйрек және көкбауырын тереңірек зерттеу үшін гистопатологиялық зерттеулер жүргізілді. Гематоксилин және эозинмен (H&E) боялған ұлпа кесінділері микроскоп арқылы талданды және суретке түсірілді. Бұл тарауда зерттеулеріміздің орташа көрсеткіші ретінде 60-шы күнгі нәтижелер көрсетілді.

Өкпенің өзгерістерін нақтырақ зерттеу үшін жүргізілген гистологиялық талдау барысында келесідей нәтижелер алынды:

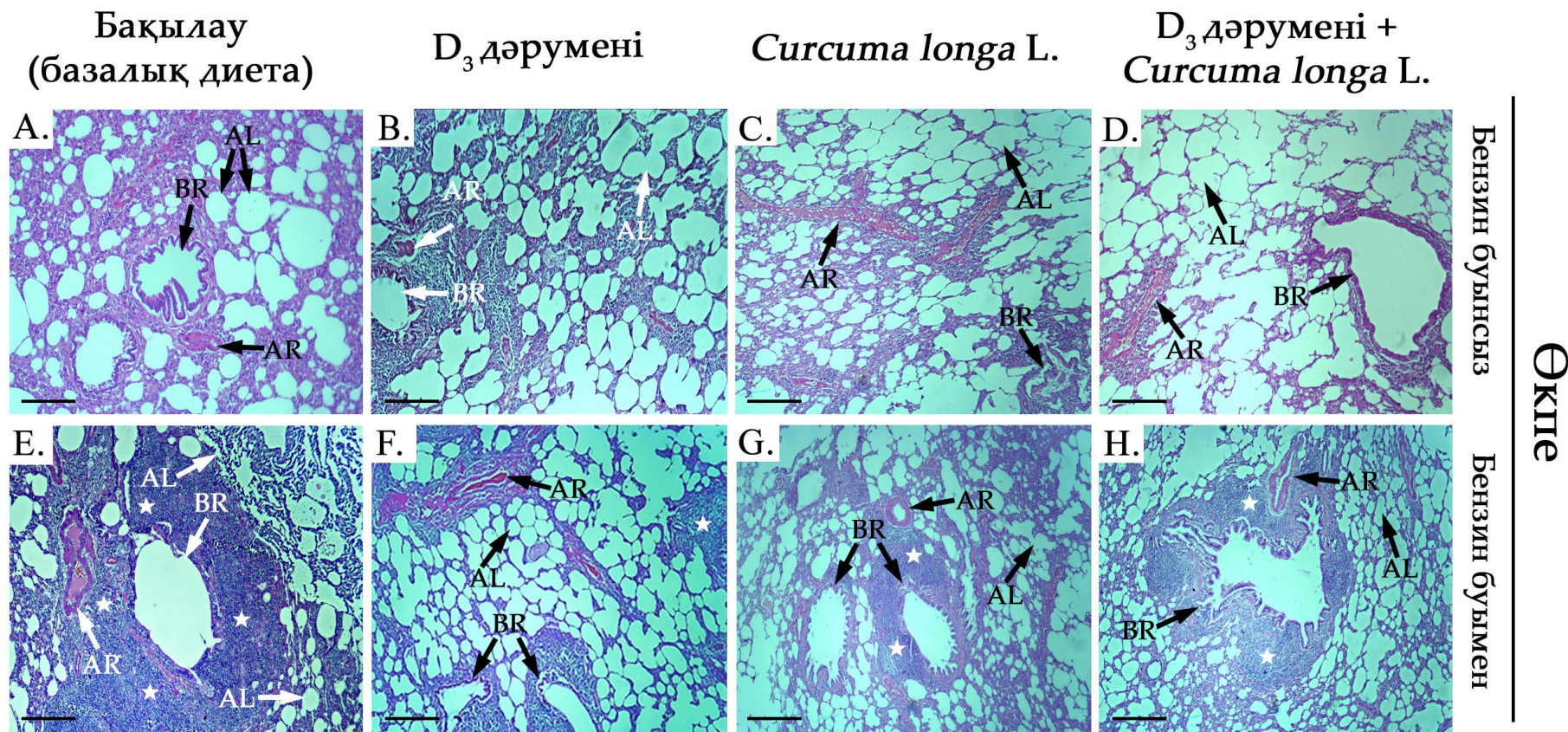
Бірінші топ, базалық диета қабылдаған бақылау егеуқұйрықтарының өкпесін зерттеу нәтижелері органның құрылымы сақталғанын, ауа өткізгіш жолдар мен респираторлық бөлімнің тән құрылымынан тұратынын көрсетті. Орташа калибрлі бронхтардың (*көрсеткі BR*) қабырғалары бірқабатты көпқатарлы кірпікшелі эпителиймен қапталған. Шырышты қабықтың өз қабаты бос дәнекер ұлпасынан тұрады. Альвеола (*көрсеткі AL*) қабырғаларында орналасқан ацинустар көрінеді. Ауа өткізгіш бөлім қысқа, 3-5 реттік бронхтармен ұсынылған, олар ұсақ бронхтар мен бронхиолаларға бөлінеді. Бронх қабырғасының шырышты қабығы кірпікшелі эпителиймен қапталған, ол калибрдің азаюымен бірге пішінін өзгертіп, биік призмалық эпителийден төмен кубтық эпителийге айналғанын көруге болады. Артериола (*көрсеткі AR*) люмендері кеңеймеген, қалыпты жағдайда (Сурет 25, А).

Екінші топ, D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының өкпе ұлпаларын зерттеу нәтижелері өкпенің қалыпты құрылымын, қалыпты альвеолярлық (*көрсеткі AL*) аралықтарды, бронхиоланың (*көрсеткі BR*) қатпарлы бағаналы эпителий клеткаларын, айқын көрінетін альвеолярлық қапшықтарды, қалыпты өкпе тамырларын (*көрсеткі AR*) және қалыпты интерстициалды ұлпалардың таралуын көрсетті (Сурет 25, В).

Үшінші топ, Cirsuta longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының өкпесінің микроскопиялық құрылымын зерттеу барысында маңызды гистологиялық өзгерістер байқалмайды. Альвеолдардың (*көрсеткі AL*) құрылымы қалыпты, бронхиола (*көрсеткі BR*) қабырғасының қалыңдауының белгілері анықталмайды. Интерстициалды ұлпалардағы қан тамырлары (*көрсеткі AR*) айқын көрінеді (Сурет 25, С).

Төртінші топ, D₃ дәруменін және Cirsuta longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының өкпесінің гистологиялық талдау нәтижелерінде едәуір өзгерістерді анықтамады. Альвеолалар (*көрсеткі AL*) таяқша тәрізді және иілген ядролары бар жалпақ альвеолярлық эпителиймен қапталған. Альвеолалар бір-бірінен капиллярлармен толтырылған жұқа альвеолярлық перделермен бөлінген. Альвеолааралық перделердің клеткаларынла дөңгелек және сопақ ядролары бар, ядролары жақсы көрінетін клеткалық элементтерден, сондай-ақ жұқа дәнекер ұлпалық талшықтардан тұрады. Бронхиолалары (*көрсеткі BR*) мен артериолалары (*көрсеткі AR*) өгеріссіз (Сурет 25, D).

Бірақ, бесінші топтағы, тек қана ББ-на ұшыраған егеуқұйрықтардың өкпесінің гистологиялық препараттарында альвеолалардағы ісінген сұйықтықтың қысымынан альвеолааралық перделердің қабырғаларының жұқаруы, өкпе тамырларының ісінуі және қанға толуы, лимфоидты инфильтрация ошақтары, альвеолаларда цитопатиялық өзгерістері бар көп мөлшерде десквамацияланған эпителий, макрофагтар, аутофагия, макрофагтардың цитоплазмасында клеткалық фрагменттер, транссудаттың созылуынан альвеолалардың кеңеюі байқалды. Көптеген альвеолалардың (*көрсеткі AL*) қуыстары тарылып, жабысып қалған. Кейбір бронхиолалардың (*көрсеткі BR*) ішкі қабырғасы ажыраған, ал артериолалардың (*көрсеткі AR*)



Сурет 25 – D₃ дәрумені, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағы және олардың комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшыраған және ұшырамаған егеуқұйрықтардың өкпесінің эксперименттің 60-шы күніндегі гистологиясы. Әр топтан 5 егеуқұйрықтың біреуінің органдарының репрезентативті суреттері көрсетілген. **AL** – альвеолалар; **BR** – бронхиолалар; **AR** – артериолалар; *жұлдызшалар* – клеткалық инфильтраттар. Н&Е; үлкейту, ×100. Масштаб жолақтары, 50 мкм.

қабырғалары қалыңдаған және қанға толған. Сонымен қатар, альвеолярлы архитектураның жоғалуымен байланысты болатын перибронхиальды және периваскулярлық аймақтарда (*жұлдызшалар*) массивті клеткалық, мүмкін лейкоцитарлық инфильтрация байқалды (Сурет 25, Е).

Алтыншы топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының өкпесінің микропрепараттарында альвеолярлық (*көрсеткі AL*) аралықтардың орташа кеңеюі және микроциркуляциялық арнаның аздап қанға толуы байқалады. Бронхиолалардың көлемі қалыпты (*көрсеткі BR*). Артериялық тамырлар (*көрсеткі AR*) әлсіз спазмдалған және қанға толған, веналар сәл кеңейген. Альвеолярлық макрофагтар периваскулярлы және перибронхиалды анықталады, олар орташа мөлшерде гранулалары бар аздаған клеткалармен көрсетілген (Сурет 25, F).

Жетінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында Curcuma longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының өкпесіндегі альвеолааралық (*көрсеткі AL*) перделердің жұқарғаны көрінді, тамырлардың (*көрсеткі AR*) қабырғалары қалыңдаған, ал бронхиолалардың (*көрсеткі BR*) қабырғалары керісінше жұқарған (Сурет 25, G).

Сегізінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін және Curcuma longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының өкпе препараттарын зерттеу кезінде альвеолааралық (*көрсеткі AL*) перделердің бұзылғаны байқалды, артериолалардың (*көрсеткі AR*) қабырғалары қалыңдап біртегіс құрылысын жоғалтқан, ал бронхиолалардың (*көрсеткі BR*) ішкі және сыртқы қабырғалары сылынып бұзылысқа ұшырған (Сурет 25, H).

Бауыр – микроқұрылысын зерттеу кезінде келесідей өзгерістер байқалды:

Бірінші топ, базалық диета қабылдаған бақылау егеуқұйрықтарының бауырын гистологиялық зерттеу барысында айтарлықтай өзгерістер байқалған жоқ. Бауыр дұрыс гексагональды пішінді бөліктерден және радиалды орналасқан бауыр балкаларынан тұрады, олар бауыр клеткаларының анастомозды жіптерін құрайды. Балкалар арасында эндотелий клеткаларымен қапталған бауырдың синусоидты капиллярлары көрінеді. Бөліктердің ортасында орталық веналар (*көрсеткі CV*) визуализацияланады, олардың кейбіреулері қанмен толтырылған. Егеуқұйрықтың бауырында бөлікаралық дәнекер ұлпасы нашар дамығандықтан, бөліктер арасындағы шекаралар анық емес. Аз мөлшерде екі ядролы гепатоциттер де анықталады. Бөліктер арасында типтік құрылымдағы триадалар және жинақтаушы веналар анықталады (Сурет 26, A).

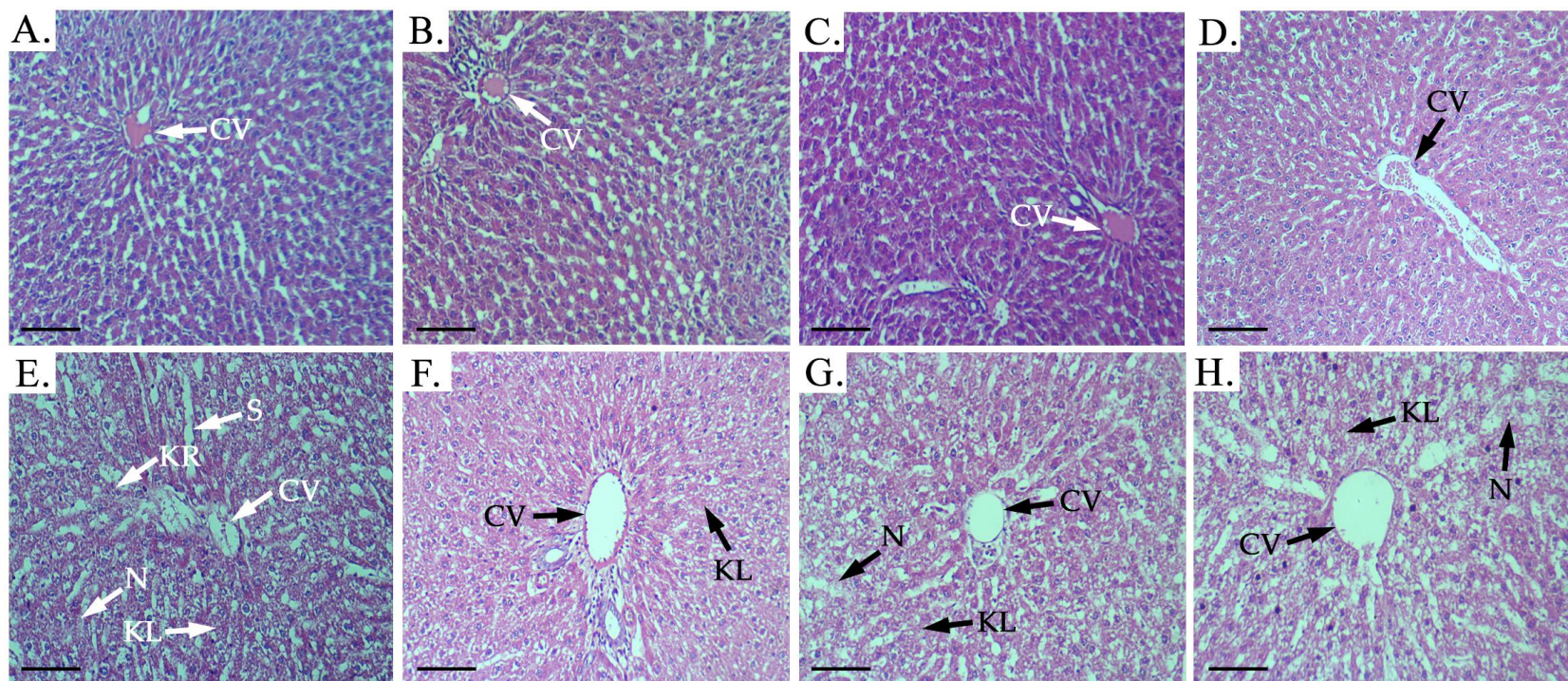
Екінші топ, D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының бауырының микроскопиялық құрылымында айқын дәнекер ұлпалық септалар анықталмады. Бауырдың долькалық және балкалық архитектоникасы өзгермеген, орталық веналары (*көрсеткі CV*) қалыпты пішінді, гепатоциттер айқын контурларын сақтаған. Ядролар негізінен мономорфты, бірдей өлшемде және тығыздықта көрінеді. Бауыр ұлпасының құрылымының полиморфизмі кейбір жерлерде синусоидтардың кеңеюі немесе тарылуы түрінде көрінді. Портал тракттары орташа дәрежеде көрінеді, тамырлардың қабырғалары айқын (Сурет 26, B).

Бақылау
(базалық диета)

D₃ дәрумені

Curcuma longa L.

D₃ дәрумені +
Curcuma longa L.



Бензин буынсыз

Бензин буымен

Бауыр

Сурет 26 – D₃ дәрумені, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағы және олардың комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшыраған және ұшырамаған егеуқұйрықтардың бауырының эксперименттің 60-шы күніндегі гистологиясы. Әр топтан 5 егеуқұйрықтың біреуінің органдарының репрезентативті суреттері көрсетілген. CV – орталық вена; N – некроз; KR – кариорексис; KL – кариолизис; S – синусоидтар. Н&Е; үлкейту, ×100. Масштаб жолақтары, 50 мкм.

Үшінші топ, Cirsuta longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының бауыр препараттарына жүргізілген гистологиялық талдау, бақылау тобымен айырмашылықтардың жоқтығын көрсетті. Бауыр ұлпалары орташа қанмен толтырылған, тамырлардың саңылауында эритроциттердің агрегациясы байқалмайды. Орталық вена (*көрсеткі CV*) айқын көрінеді. Бауыр паренхимасының үлестік құрылымы мен балкалық құрылысы айқын көрінеді. Гепатоциттер көпбұрышты пішінде, анық ядролары мен контурлары, эозинофильді цитоплазмасы бар (Сурет 26, С).

Төртінші топ, D₃ дәруменін және Cirsuta longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының бауырындағы гистологиялық талдаулардың нәтижелері, орган паренхимасы радиалды бағытта ұйымдастырылған гепатоциттерден тұратынын көрсетті. Бауыр паренхимасында ортасында орталық венаны (*көрсеткі CV*), анық емес шекаралары бар классикалық бөліктерді бөліп көрсетуге болады. Көптеген гепатоциттердің бір ядролы екені анықталды, оларда біркелкі боялған ядро және біртекті цитоплазма жақсы көрінеді (Сурет 26, D).

Дегенмен, бесінші топтағы, тек қана ББ-на ұшыраған егеуқұйрықтардың бауырын гистологиялық зерттеу нәтижелері бойынша айқын патоморфологиялық өзгерістерді көрсетті. Бауыр бөлікшесінің ортасында орналасқан орталық венаның (*көрсеткі CV*) қабырғаларының айқын бұзылысы орын алды. Бауырдың патогистологиялық белгілері гепатоциттердің тотальды ірі ошақты дистрофиясымен сипатталды. Бауыр гепатоциттерінің жалпылама некрозы (*көсеткі N*) нәтижесінде бауыр балкаларының дисконкомплексациясы байқалды. Ұлпаның қанға толуы, тамырлар мен синусоидтардың (*көрсеткі S*) кеңеюі байқалды. Сонымен қатар, кариолизис (*көрсеткі KL*) және кариорексис (*көрсеткі KR*) байқадық (Сурет 26, E).

Алтыншы топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының бауыр микропрепараттарында тамырлардың орташа қанға толуы байқалды. Бауыр бөлігінің құрылымы және сәулелік құрылысы сақталған. Портал тракттары кеңеймеген, орталық венаның (*көрсеткі CV*) қабырғасы кішене жұқарған. Бөліктің перифериясындағы гепатоциттер орташа кариолизис (*көрсеткі KL*) жағдайында. Бауыр бөлігінің перифериясында негізінен екі ядролы гепатоциттердің орташа мөлшері сақталған (Сурет 26, F).

Жетінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында Cirsuta longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының бауыр препараттарына жүргізілген микроскопиялық талдау, гепатоциттердің көптеген некрозы (*көсеткі N*) байқалады, нәтижесінде бауыр ұлпаларының архитектурасының бұзылған. Гепатоциттердің ядросында кариолизис (*көрсеткі KL*) орын алған. Дегенмен орталық вена (*көрсеткі CV*) құрылысы сақталған (Сурет 26, G).

Сегізінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін және Cirsuta longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының бауырын гистологиялық зерттеу нәтижелері бойынша, бауыр клеткаларының жалпы некрозы (*көсеткі N*) көрінеді және олардың ядросының кариолизисы

(*көрсеткі KL*) байқалады. Ал, орталық венаның (*көрсеткі CV*) қабырғасы бұзылысқа ұшырған (Сурет 26, Н).

Бүйрек – гистокұрылысын зерттеу кезінде келесідей өзгерістер байқалды:

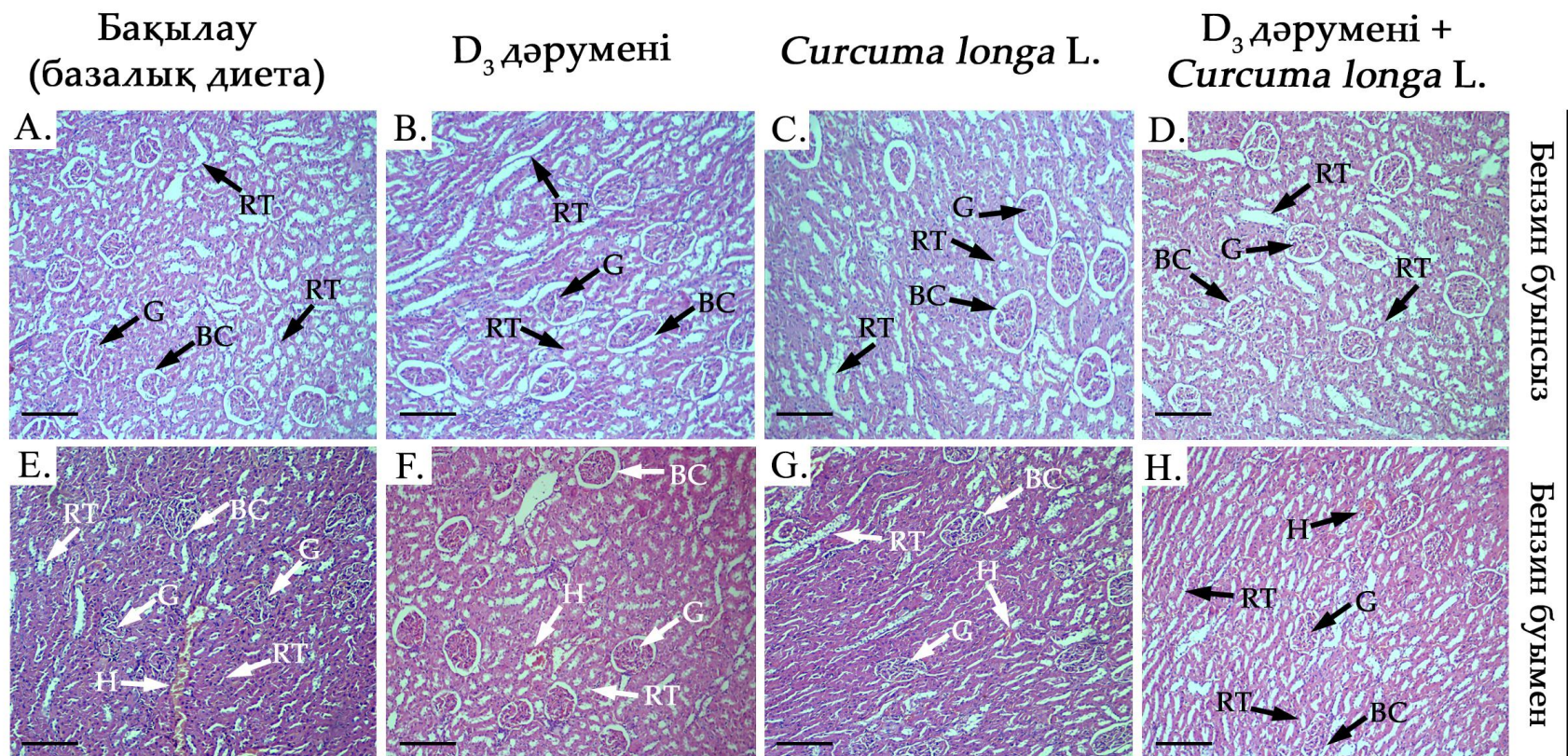
Бірінші топ, базалық диета қабылдаған бақылау егеуқұйрықтарының бүйректерін гистологиялық зерттеу кезінде егеуқұйрықтарда органның нормаға сай фиброзды капсуламен қоршалғаны, қыртысты және ми заттарына бөлінгені байқалады. Қыртыс бүйрек денешіктерінен, проксималды иілген және дисталды ирек түтікшелерден тұрады, олар цилиндрлік эпителий клеткаларымен қапталған, қызғылт цитоплазмасы және дөңгелек ядросы бар, ал ми заты жинақтаушы түтікшелерден тұрады (*көрсеткі RT*). Бүйрек түтікшелеріндегі клеткалардың ядролары бір деңгейде орналасқан. Шоғырлар капиллярлы тамырларға ие. Эндотелий клеткалары тегіс, шекаралары анық, базальды мембрана жұқа. Ми затының түтікшелерінің эпителийі бірқабатты кубтық клеткалардан тұрады. Құрылысы айқын көрінетін гломерулалар (*көрсеткі G*) нормаға сай Боумен капсуласы (*көрсеткі BC*) байқалады (Сурет 27, А).

Екінші топ, D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының бүйректерінің гистологиялық талдауы кезінде бүйректің қыртысты және ми заттарының қалыпты гистологиялық құрылымы байқалды. Бүйрек фиброзды капсуламен қоршалған, онда дәнекер ұлпа және плазманың бүйректерде сүзгіленуіне және пайда болған зәрдің шығарылуына ықпал ететін тегіс миоциттер көрінеді. Тостағаншалар күмбез тәрізді өтпелі эпителиймен қапталған. Бүйректің гломерулалары (*көрсеткі G*) дұрыс формалы, Боумен капсуласы (*көрсеткі BC*) қалыпты, жинаушы түтікшелері (*көрсеткі RT*) нормаға сай (Сурет 27, В).

Үшінші топ, Cirsuta longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының бүйрегінің гистологиялық зерттеуі, бүйрек паренхимасы қыртысты және ми затынан тұрады. Қыртысты затта толыққанды капиллярлары бар нормоцеллюлярлы шумақтар көрінеді. Қыртысты және ми затында ирек түтікшелер мен құрылымдық өзгерістерсіз толыққанды интерстициальды ұлпа анықталды. Гломерулалары (*көрсеткі G*) айқын көрінеді, Боумен капсуласы (*көрсеткі BC*) мен жинаушы түтікшелері (*көрсеткі RT*) қалыпты (Сурет 27, С).

Төртінші топ, D₃ дәруменін және Cirsuta longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының бүйректерінің гистологиялық талдау нәтижелері көрсеткендей органның денешіктері және ирек түтікшелерімен қыртысты зат, бүйректің ми заты анықталды. Өтпелі эпителиймен қапталған бүйрек астауы жақсы көрінді. Қан тамырларының шумақтары өзгермеген, капсула қалыңдамаған. Бүйрек денешіктерінің арасында типтік құрылымдағы проксималды және дисталды бүйрек түтікшелері анықталды. Ми затындағы түзу түтікшелер және жинақтаушы түтікшелер ерекшеліктерсіз. Гломерулалары (*көрсеткі G*) мен Боумен капсуласы (*көрсеткі BC*) қалыпты жағдайда, жинаушы түтікшелері (*көрсеткі RT*) нормаға сай (Сурет 27, D).

Алайда, бесінші топтағы, тек қана ББ-на ұшыраған егеуқұйрықтардың бүйректерінің гистологиялық зерттеуі гломерулалардағы (*көрсеткі G*) тамырлардың гиперемиясын, деформациясын, проксимальды түтікшелердегі



Бүйрек

Сурет 27 – D₃ дәруменін, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын және олардың комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшыраған және ұшырамаған егеуқұйрықтардың бүйрегiнiң эксперименттiң 60-шы күнiндегi гистологиясы. Әр топтан 5 егеуқұйрықтың бiреуiнiң органдарының репрезентативтi суреттерi көрсетiлген. **G** – гломерула; **BC** – Боумен капсуласы; **RT** – бүйрек түтiкшелерi; **H** – геморрагиялар. Н&Е; үлкейту, ×100. Масштаб жолақтары, 50 мкм.

(*көрсеткі RT*) клеткаралық өзара әрекеттесудің бұзылуы анықталды. Түтікшелердің эпителийі анық емес, кей жерлерде бұлдыр. Капсуланың эпителий клеткалары жалпақ пішінді. Сонымен қатар, Боумен капсула кеңістігінің (*көрсеткі BC*) күрт тарылуымен шумақтардың жиырылуы мен фрагментациясы және интерстициальды қан кетулер (*көрсеткі H*) байқалды. (Сурет 27, E).

Алтыншы топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының бүйрек микропрепараттарында дисциркуляторлық бұзылулар байқалмайды. Кейбір гломеруларының (*көрсеткі G*) және Баумен капсулсының (*көрсеткі BC*) жақсы сақталғанын көруге болады. Проксимальды және дистальды ирек түтікшелердің (*көрсеткі RT*) саңылауы кеңейген, эпителий тегістелген. Эндотелий клеткалары сәл тегістелген, олардың шекаралары анық емес, базальды мембрана жұқа. Аздаған интерстициальды қан кетулер (*көрсеткі H*) көрінеді (Сурет 27, F).

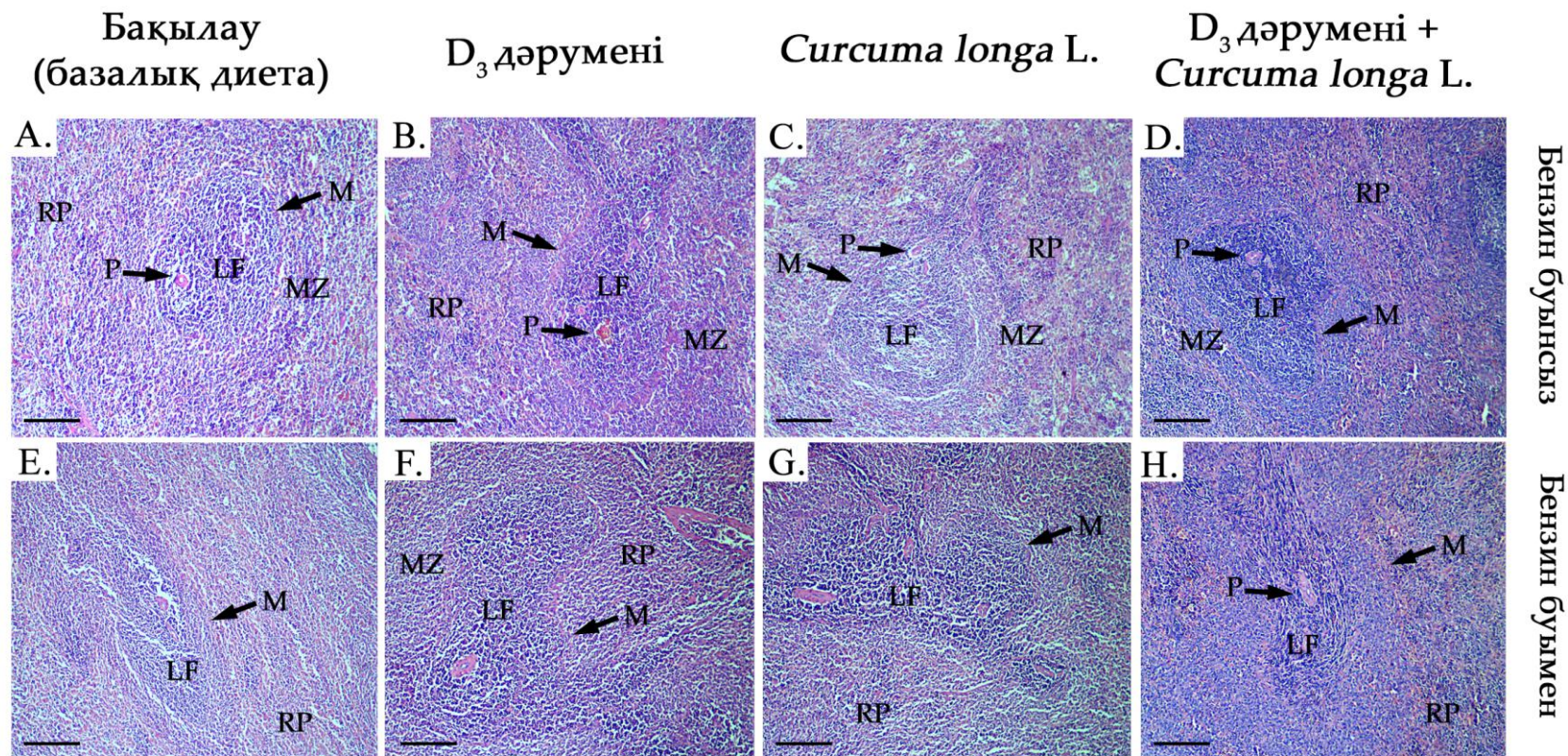
Жетінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында Cirsuta longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының бүйректерін микроскопиялық деңгейде зерттеу нәтижелері бойынша, гломеруларының (*көрсеткі G*) және Баумен капсулсының (*көрсеткі BC*) бұзылысын байқауға болады. Проксимальды және дистальды ирек түтікшелердің (*көрсеткі RT*) саңылауы тарылған. Көптеген итерстициальды қан кетулер (*көрсеткі H*) орын алған (Сурет 27, G).

Сегізінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін және Cirsuta longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының бүйрек гистокұрылымын зерттеу ерекшеліктері аздаған деструктивті бұзылулар байқалды. Бүйрек гломеруларасының (*көрсеткі G*) және Баумен капсулсының (*көрсеткі BC*) бұзылуы нәтижесінде олардың шеттік жиектерін қиын анықталады. Проксимальды және дистальды ирек түтікшелердің (*көрсеткі RT*) саңылауы кеңейген. Итерстициальды қан кетулер (*көрсеткі H*) барлық ұлпа бойынша таралған (Сурет 27, H).

Көкбауыр – микроскопиялық құрылысын зерттеу кезінде келесідей өзгерістер анықталды:

Бірінші топ, базальқ диета қабылдаған бақылау егеуқұйрықтарының көкбауыры паренхимасы қызыл және ақ пульпадан тұрады. Қызыл пульда (*RP*) нормаға сай веналық синусоидтар мен трабекулалар орналасқан. Трабекулалардың клеткааралық затының оксифилиясын анықтайтын коллаген талшықтарының жоғары мөлшері көрінеді. Ал ақ пульпа көптеген лимфоидты фолликулалардан (*LF*) тұрады. Лимфоидты фолликулалардың ортасында орталық артерия орналасқан, ал оның жан-жағын периартериялық лимфадитарлық қабат (*көрсеткі P*) орналасқан. Оның сыртын мантиялық аймақ (*көрсеткі M*), ал оның сыртын маргинальді аймақ (*MZ*) қаптаған (Сурет 28, A).

Екінші топ, D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының көкбауырының типтік құрылымы сақталған. Қызыл пульда (*RP*) орналасқан трабекулаларда көкбауырдан жиналған қанды шығаратын көптеген тегіс миоциттер көрінеді. Ақ пульпада аймақтары анық көрінетін лимфоидты фолликулалар (*LF*)



Сурет 28 – D₃ дәруменін, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын және олардың комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшыраған және ұшырамаған егеуқұйрықтардың көкбауырының эксперименттің 60-шы күніндегі гистологиясы. Әр топтан 5 егеуқұйрықтың біреуінің органдарының репрезентативті суреттері көрсетілген. **LF** – лимфоидты фолликулдар; **M** – мантия аймағы; **MZ** – маргиналды аймақ; **RP** - қызыл пульпа; **P** – периартериялық лимфацитарлық қабат. Н&Е; үлкейту, ×100. Масштаб жолақтары, 50 мкм.

орналасқан. Сонымен қатар, периартериалды лимфоидты муфталармен (көрсеткі *P*) және герминативті орталықтарды, мантиялық (көрсеткі *M*) және маргинальді аймақтарды (*MZ*) көруге болды (Сурет 28, В).

Үшінші топ, Cirsuta longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының көкбауырының гистологиялық құрылымы, бақылау тобындағы егеуқұйрықтардан айырмашылығы жоқ. Ақ және қызыл пульпаның шекарасы айқын көрінеді. Қызыл пульпа (*RP*) нормаға сай. Ақ пульпаның негізгі құрылымдары: лимфатикалық фолликулалар (*LF*) және периартериалды лимфоидты қабықшалар (көрсеткі *P*) әдеттегідей көрністе. Артериялардың айналасында Т-лимфоциттердің жиналуын, ал мантиялық (көрсеткі *M*) және маргинальді аймақтарда (*MZ*) майда лимфоциттердің орналасқанын көруге болады (Сурет 28, С).

Төртінші топ, D₃ дәруменін және Cirsuta longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының көкбауырындағы гистологиялық талдаулардың нәтижелері, органның капсуласы тегіс, тығыз екенін көрсетеді. Қызыл пульпа (*RP*) қалыпты қанмен толтырылған. Ақ пульпада орналасқан орталық артериясы бар лимфалық фолликулалар (*LF*) және периартериалды лимфоидты муфталар (көрсеткі *P*) қалыпты жағдайда. Мантиялық (көрсеткі *M*) және маргинальді аймақтар (*MZ*) майда жақсы ажыратылады (Сурет 28, D).

Бірақ, бесінші топтағы, тек қана ББ-на ұшыраған егеуқұйрықтардың көкбауырының гистологиялық зерттеуі капсуланың гистокұрылымындағы қалыңдау түріндегі бұзылуларды анықтады. Қалған қызыл пульпа (*RP*) біркелкі емес қанмен толтырылған күйде. Лимфатикалық фолликулалар (*LF*) әлсіз және орташа атрофия жағдайында, шеткі аймақтарда айқын делимфатизация белгілері бар. Лимфоидты фолликул (*LF*) құрылымы мантия аймағынан (көрсеткі *M*) нашар ажыратылады және маргинальді аймақтың кең көлемде бұзылғанын көрсетті. Лимфоидты фолликулалар (*LF*) қызыл пульпадан (*RP*) және периартериалды лимфалық қабықтан (*P*) әрең ерекшеленеді (Сурет 28, E).

Алтыншы топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының көкбауырын микроскопиялық зерттеу, ақ пульпаның үлесі сәл артқанын және қызыл пульпаның (*RP*) үлесі азайғанын көрсетеді, бірақ дәнекер ұлпа элементтерінің үлесі айтарлықтай өзгермеген. Лимфоидты фолликулалар (*LF*) қиын анықталады. Мантиялық (көрсеткі *M*) және маргинальді аймақтардың (*MZ*) шекаралары ерекшеленбеген (Сурет 28, F).

Жетінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында Cirsuta longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының көкбауырының гистологиялық кесінділерін зерттеу нәтижесінде, қызыл пульпада (*RP*) орналасқан органның трабекулярлық веналарының сыртқы қабығы дәнекер ұлпасымен біріктірілгені анықталды. Ақ пульпа көлемді бұзылысқа ұшыраған. Лимфоидты фолликулалар (*LF*) қызыл пульпадан (*RP*) қиын ажыратылады. Мантия аймағын (көрсеткі *M*) жоғалған (Сурет 28, G).

Сегізінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін және Cirsuta longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтарының

көкбауыр гистокұрылымын зерттеудің барысында, қызыл пульпадағы (RP) трабекулалар мен веноздық синустардың көрінісі бұлыңғыр. Лимфоидты фолликулалардағы (LF) периартериалды лимфалық қабықтың (P) құрылысы бұзылған. Мантиялық (көрсеткі M) және маргинальді аймақтардың (MZ) шекараларын ажырату қиын (Сурет 28, Н).

Жоғарыда аталған өкпе, бауыр, бүйрек және көкбауыр сияқты ішкі органдардың мұндай гистопатологиялық өзгерістері жайлы біз ілгерідегі зерттеу жұмыстарымызда баяндаған болатынбыз [220].

Осылайша, ББ-сыз D₃ дәруменін, *Circuma longa* L. тамыры ұнтағын және олардың комбинациясын қабылдаған алғашқы 4 топ егеуқұйрықтарының органдарын микроскопиялық зерттеу нәтижелері ешқандай гистопатологиялық өзгерістерсіз, дені сау жануарлар екенін көрсетті. Микроскопиялық препараттар ұлпалардың нормаға сай гистокұрылысын көрсетті.

Ал ББ-ын қабылдаған бесінші топ егеуқұйрықтарының органдарын макроскопиялық зерттеу барысында, некроз, кариолизис, кариорексис, интерстициальді геморрагиялар, инфильтраттардың жиналуы сияқты елеулі патологиялық процесстердің дамығаны анықталды. Бірақ, аталған бұл өзгерістер D₃ дәруменін, *Circuma longa* L. тамыры ұнтағын және олардың комбинациясын толықтырылған кезде ұлпалардың микроскопиялық көрінісі әртүрлі дәрежеде жақсарған. Әсіресе, D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтардың ұлпалары әлдеқайда жақсы сақталғанын анықталды.

3.4 Бензин буымен улану аясында егеуқұйрықтардың қан биохимиясындағы өзгерістеріне D₃ дәруменінің, *Circuma longa* L. тамыр ұнтағының және олардың комбинациясының әсерін 30, 60 және 90 күн бойы зерттеу

ББ-мен 30, 60 және 90 күн бойы ингаляциясы аясында D₃ дәруменін, *Circuma longa* L. тамыры ұнтағын және олардың комбинациясының әсерін толығырақ зерттеу үшін біз ішкі органдардың функционалдық жағдайын қан сарысуындағы тиісті биомаркерлердің концентрациясын өлшеу арқылы анықтадық. Қанның биохимиялық маркерлерін таңдауда біз организмнің негізгі органдары мен жүйелерінің функционалдық жағдайын сипаттауға мүмкіндік беретін стандартты көрсеткіштер жиынтығына сүйендік.

Аланинаминотрансфераза (АЛТ) және аспаратаминотрансфераза (АСТ) бауырдың негізгі биомаркері болып табылады және олардың деңгейінің қан сарысуында көтерілуі бауырдың зақымдануын көрсетеді. Бұл көрсеткіштер эксперименттік егеуқұйрықтарда келесідей өзгерістерді көрсетті:

Бірінші, базалық диета қабылдаған бақылау тобы егеуқұйрықтары виварийдің стандартты рационын қабылдаған егеуқұйрықтардың бауыр маркерлерінің концентрациясы 30, 60 және 90 күн бойы АЛТ: тиісінше $50,1 \pm 5,1$, $51,9 \pm 0,9$ және $52,2 \pm 2,3$ (Бірлік/литрге) және АСТ: тиісінше $62,9 \pm 3,2$, $63,2 \pm 6,0$ және $65,4 \pm 1,8$ (Бірлік/литрге) көрсетті (Сурет 29, 30).

Екінші топ, D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының бауыр биомаркерлерінің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, АЛТ 30-шы күні 3,47%-ға жоғарыласа, 60 және 90 күндері, тиісінше 0,89% және 0,80%-ға төмендеген. Ал АСТ 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше 2,9%, 0,47% және 1,83%-ға төмендеген (Сурет 29, 30).

Үшінші топ, Curcuma longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының бауырдың функционалдық жағдайын көрсететін ферменттердің концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, АЛТ 30-шы күні 4,11%-ға жоғарыласа, 60 және 90 күндері, тиісінше 0,66% және 0,38%-ға төмендеген. Ал АСТ 30 және 90-шы күні, тиісінше 4,41% және 0,55%-ға төмендесе, 60 күні 0,32%-ға жоғарылаған (Сурет 29, 30).

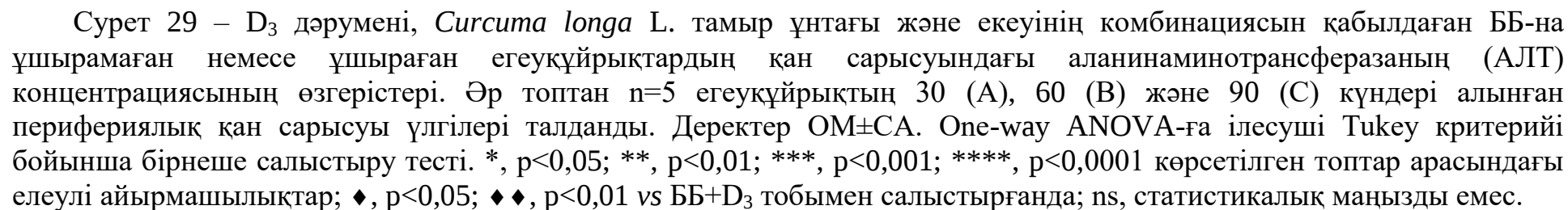
Төртінші топ, D₃ дәруменін және Curcuma longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтардың бауыр ферменттерінің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы АЛТ, тиісінше 2,48%, 1,62% және 0,38%-ға жоғарылаған. Ал АСТ, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше 0,76%, 0,40% және 2,66%-ға төмендеген (Сурет 29, 30).

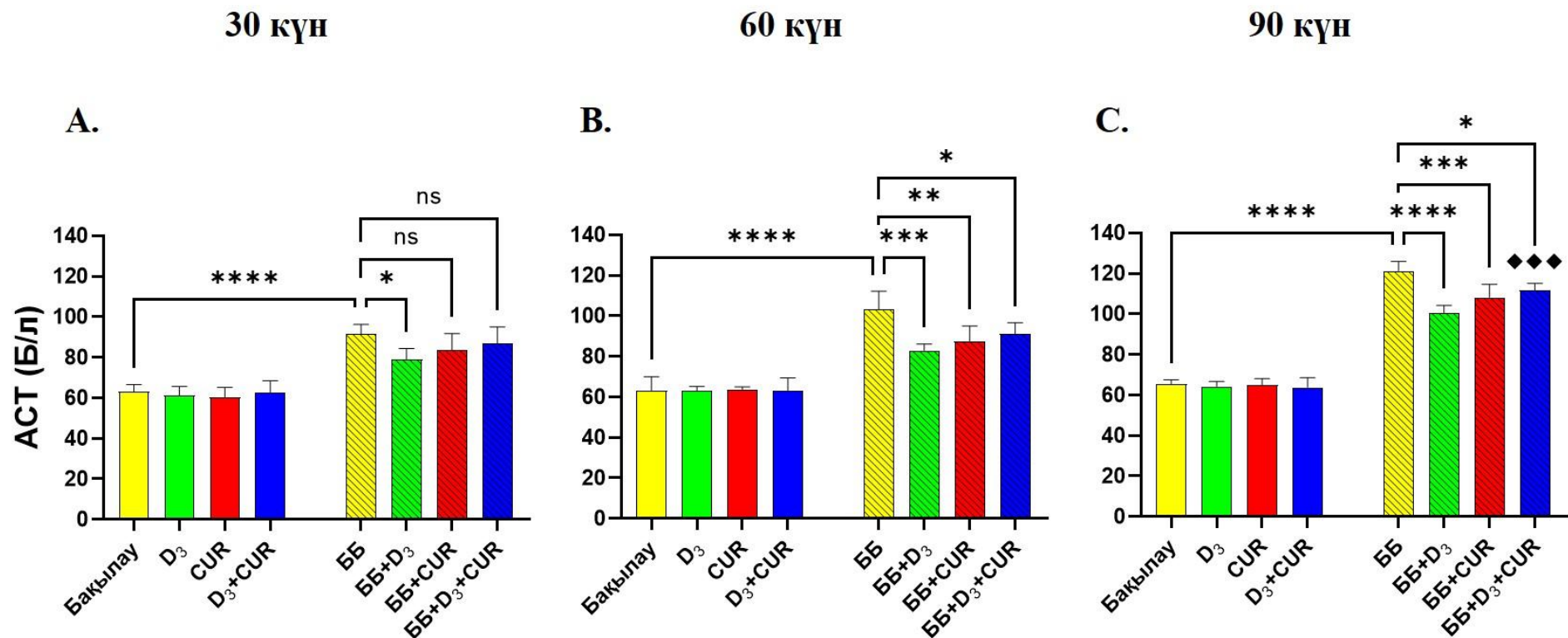
Бесінші топтағы, тек қана ББ-на ұшыраған егеуқұйрықтардың бауыр маркерлері, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы АЛТ тиісінше 32,61%, 53,06% және 86,67%-ға күрт жоғарылады. АСТ бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы тиісінше 45,09%, 63,01% және 85,19%-ға айтарлықтай және уақытқа тәуелді көтерілді (Сурет 29, 30).

Алтыншы топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының бауырдың қызметін көрсететін ферменттер, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы АЛТ тиісінше 7,07%, 30,71% және 36,36%-ға күрт жоғарылады. Ал осы ферменттің мөлшерін, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 19,27%, 14,60% және 26,95%-ға төмендеді. АСТ, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше 25,60%, 31,11% және 53,41%-ға айтарлықтай және уақытқа тәуелді көтерілді. Ал бұл ферменттің концентрациясын, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 13,44%, 19,57% және 17,16%-ға уақытқа байланысты төмендеді (Сурет 29, 30).

Жетінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында Curcuma longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының бауырдың қызметін көрсететін ферменттер, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы АЛТ тиісінше 13,69%, 35,57% және 55,33%-ға күрт жоғарылады. Ал осы ферменттің мөлшерін, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 14,27%, 11,43% және 16,79%-ға төмендеді. АСТ, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше 32,65%, 38,54% және 65,24%-ға айтарлықтай және уақытқа тәуелді көтерілді. Ал бұл ферменттің концентрациясын, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 8,58%, 15,01% және 10,77%-ға уақытқа байланысты төмендеді (Сурет 29, 30).

90 күн





Сурет 30 – D₃ дәрумені, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы және екеуінің комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшырамаған немесе ұшыраған егеуқұйрықтардың қан сарысуындағы аспартатаминотрансферазаның (АСТ) концентрациясының өзгерістері. Әр топтан n=5 егеуқұйрықтың 30 (А), 60 (В) және 90 (С) күндері алынған перифериялық қан сарысуы үлгілері талданды. Деректер ОМ±СА. One-way ANOVA-ға ілесуші Tukey критерийі бойынша бірнеше салыстыру тесті. *, p<0,05; **, p<0,01; ***, p<0,001; ****, p<0,0001 көрсетілген топтар арасындағы елеулі айырмашылықтар; ♦♦♦, p<0,001 vs ББ+D₃ тобымен салыстырғанда; ns, статистикалық маңызды емес.

Сегізінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін және Cirsuta longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын бауырдың қызметін көрсететін ферменттер, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы АЛТ тиісінше 19,92%, 38,50% және 60,54%-ға күрт жоғарылады. Ал осы ферменттің мөлшерін, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 9,57%, 9,52% және 14%-ға төмендеді. АСТ, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше 37,92%, 44,08% және 70,55%-ға айтарлықтай және уақытқа тәуелді көтерілді. Ал бұл ферменттің концентрациясын, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 4,94%, 11,61% және 7,90%-ға уақытқа байланысты төмендеді (Сурет 29, 30).

Креатинин және мочевина – бүйректің маркерлері болып табылады және олардың концентрациясының көтерілуі бүйрек функциясының нашарлауы жайлы хабар береді. Бұл көрсеткіштер эксперименттік егеуқұйрықтарда келесідей өзгерістерді көрсетті:

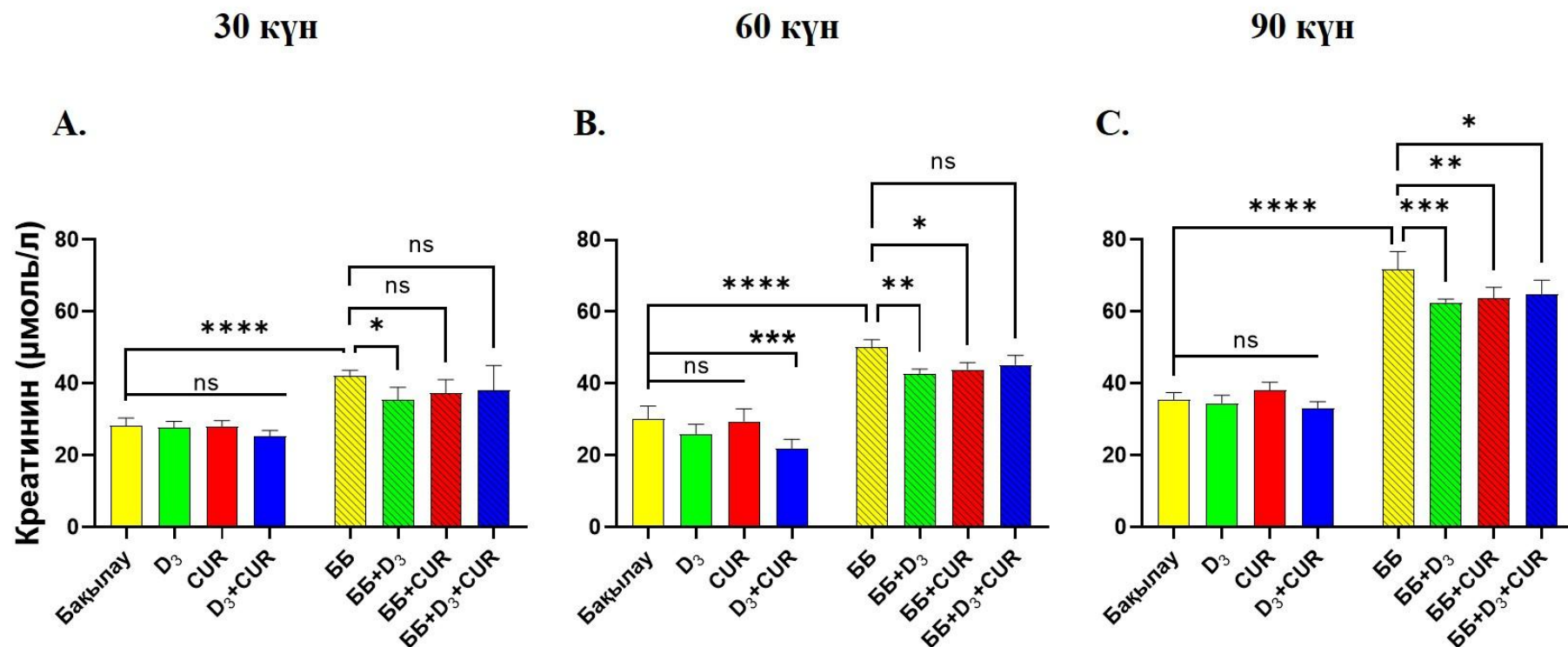
Бірінші, базалық диета қабылдаған бақылау тобы егеуқұйрықтарының бүйрек биомаркерлерінің концентрациясы 30, 60 және 90 күн бойы креатинин: тиісінше $28,3 \pm 1,9$, $30,1 \pm 3,2$ және $35,4 \pm 1,9$ (μмоль/л); мочевина: тиісінше $6,5 \pm 0,7$, $6,6 \pm 0,5$ және $6,8 \pm 1,4$ (ммоль/л) анықталды (Сурет 31, 32).

Екінші топ, D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының бүйрек биомаркерлерінің концентрациясы 30, 60 және 90 күн бойы, бақылау тобымен салыстырғанда, креатинин: тиісінше 2,12%, 13,86% және 2,36%-ға төмендеген. Ал мочевина 30-шы күні 1,20%-ға жоғарыласа, 60 және 90-шы күндері 1,54% және 5,56% төмендегені анықталды (Сурет 31, 32).

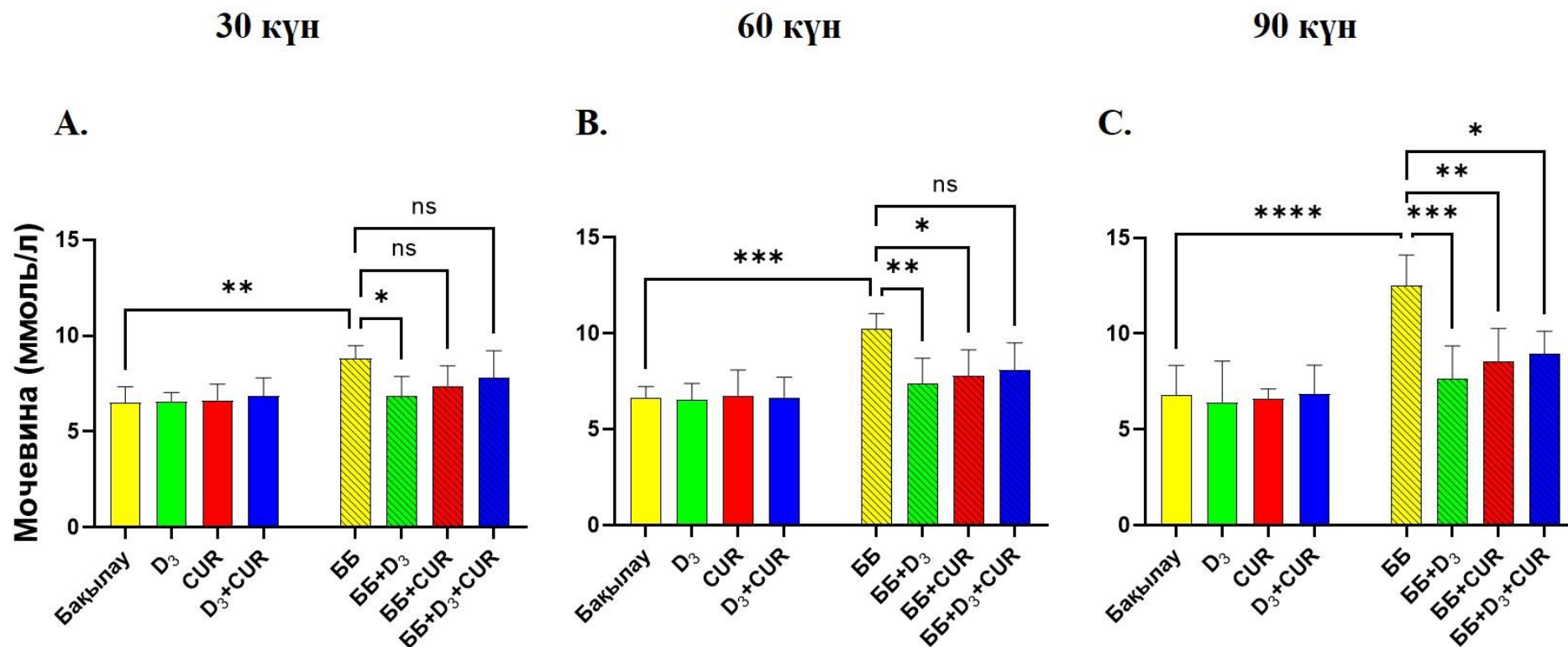
Үшінші топ, Cirsuta longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының бүйрек маркерлерінің концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, 30 және 60 күндері креатинин: тиісінше 0,92% және 2,22%-ға төмендеген, ал 90-шы күні 7,79%-ға жоғарылаған. Ал мочевина 30 және 60-шы күндері, тиісінше 1,91% және 2,11%-ға жоғарыласа, 90-шы күні 2,62% төмендеген (Сурет 31, 32).

Төртінші топ, D₃ дәруменін және Cirsuta longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтардың бүйрек биомаркерлерінің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы креатинин: тиісінше 10,85%, 27,82% және 6,38%-ға төмендеген. Ал мочевина, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше 5,50%, 0,51% және 0,85%-ға жоғарылаған (Сурет 31, 32).

Бесінші топтағы, тек қана ББ-на ұшыраған егеуқұйрықтардың бүйрек биомаркерлерінің концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы креатинин: тиісінше 49,33%, 66,31% және 102,85%-ға жоғарылаған. Ал мочевина, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше 35,64%, 54,33% және 84,20%-ға күрт жоғарылаған (Сурет 31, 32).



Сурет 31 – D₃ дәрумені, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы және екеуінің комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшырамаған немесе ұшыраған егеуқұйрықтардың қан сарысуындағы креатининнің концентрациясының өзгерістері. Әр топтан n=5 егеуқұйрықтың 30 (A), 60 (B) және 90 (C) күндері алынған перифериялық қан сарысуы үлгілері талданды. Деректер OM±CA. One-way ANOVA-ға ілесуші Tukey критерийі бойынша бірнеше салыстыру тесті. *, p<0,05; **, p<0,01; ***, p<0,001; ****, p<0,0001 көрсетілген топтар арасындағы елеулі айырмашылықтар; ns, статистикалық маңызды емес.



Сурет 32 – D₃ дәрумені, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы және екеуінің комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшырамаған немесе ұшыраған егеуқұйрықтардың қан сарысуындағы мочевианың концентрациясының өзгерістері. Әр топтан n=5 егеуқұйрықтың 30 (A), 60 (B) және 90 (C) күндері алынған перифериялық қан сарысуы үлгілері талданды. Деректер OM±CA. One-way ANOVA-ға ілесуші Tukey критерийі бойынша бірнеше салыстыру тесті. *, p<0,05; **, p<0,01; ***, p<0,001; ****, p<0,0001 көрсетілген топтар арасындағы елеулі айырмашылықтар; ns, статистикалық маңызды емес.

Алтыншы топ, ББ-ның ингаляциясы аясында *D₃* дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының бүйрек биомаркерлерінің концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы креатинин: тиісінше 24,95%, 41,45% және 76,94%-ға жоғарылаған. Ал креатининнің концентрациясын, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 16,33%, 14,95% және 12,77%-ға төмендеген. Ал мочевиная, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше 5,38%, 11,37% және 12,95%-ға күрт жоғарылаған. Ал мочевинаяның мөлшерін, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 22,31%, 27,83% және 38,68%-ға төмендеген (Сурет 31, 32).

Жетінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында *Circuta longa* L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының бүйрек биомаркерлерінің концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы креатинин: тиісінше 31,52%, 45,56% және 80,45%-ға жоғарылаған. Ал креатининнің концентрациясын, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 11,93%, 12,48% және 11,04%-ға төмендеген. Ал мочевиная, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше 13,50%, 17,83% және 25,90%-ға күрт жоғарылаған. Ал мочевинаяның мөлшерін, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 16,32%, 23,65% және 31,65%-ға төмендеген (Сурет 31, 32).

Сегізінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында *D₃* дәруменін және *Circuta longa* L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтардың бүйрек биомаркерлерінің концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы креатинин: тиісінше 34,56%, 50,07% және 83,62%-ға жоғарылаған. Ал креатининнің концентрациясын, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 9,89%, 9,77% және 9,48%-ға төмендеген. Ал мочевиная, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше 19,93%, 22,32% және 31,61%-ға күрт жоғарылаған. Ал мочевинаяның мөлшерін, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 11,58%, 20,74% және 28,55%-ға төмендеген (Сурет 31, 32).

Жалпы белок пен глюкозаның қан сарысуындағы деңгейінің төмендеуі жеткіліксіз тамақтану және бауыр мен бүйрек функцияларының бұзылуының нәтижесі болуы мүмкін.

Бірінші, базалық диета қабылдаған бақылау тобы егеуқұйрықтарының қан сарысуын талдау жасау 30, 60 және 90 күн бойы жалпы белок: тиісінше $72,0 \pm 1,8$, $73,8 \pm 4,0$ және $72,8 \pm 5,1$ (грамм/литрға); глюкоза: тиісінше $4,5 \pm 0,7$, $4,5 \pm 1,1$ және $5,4 \pm 0,3$ (ммоль/л) тең болды (Сурет 33, 34).

Екінші топ, *D₃* дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының қан сарысуында 30, 60 және 90 күн бойы, бақылау тобымен салыстырғанда, жалпы белок: тиісінше 1,22%, 0,33% және 1,46% жоғарылаған. Ал глюкоза 30 және 60 күндері тиісінше 2,12% және 1,79% жоғарыласа, 90-шы күні 3,50% төмендеген (Сурет 33, 34).

Үшінші топ, *Circuta longa* L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының қан сарысуында 30, 60 және 90 күн бойы, бақылау

тобымен салыстырғанда, жалпы белок: тиісінше 0,55%, 1,79% және 0,77% жоғарылаған. Ал глюкоза 30-шы күні 0,88% жоғарылаған, ал 60 және 90-шы күндері, тиісінше 2,91% және 3,10%-ға төмендеген (Сурет 33, 34).

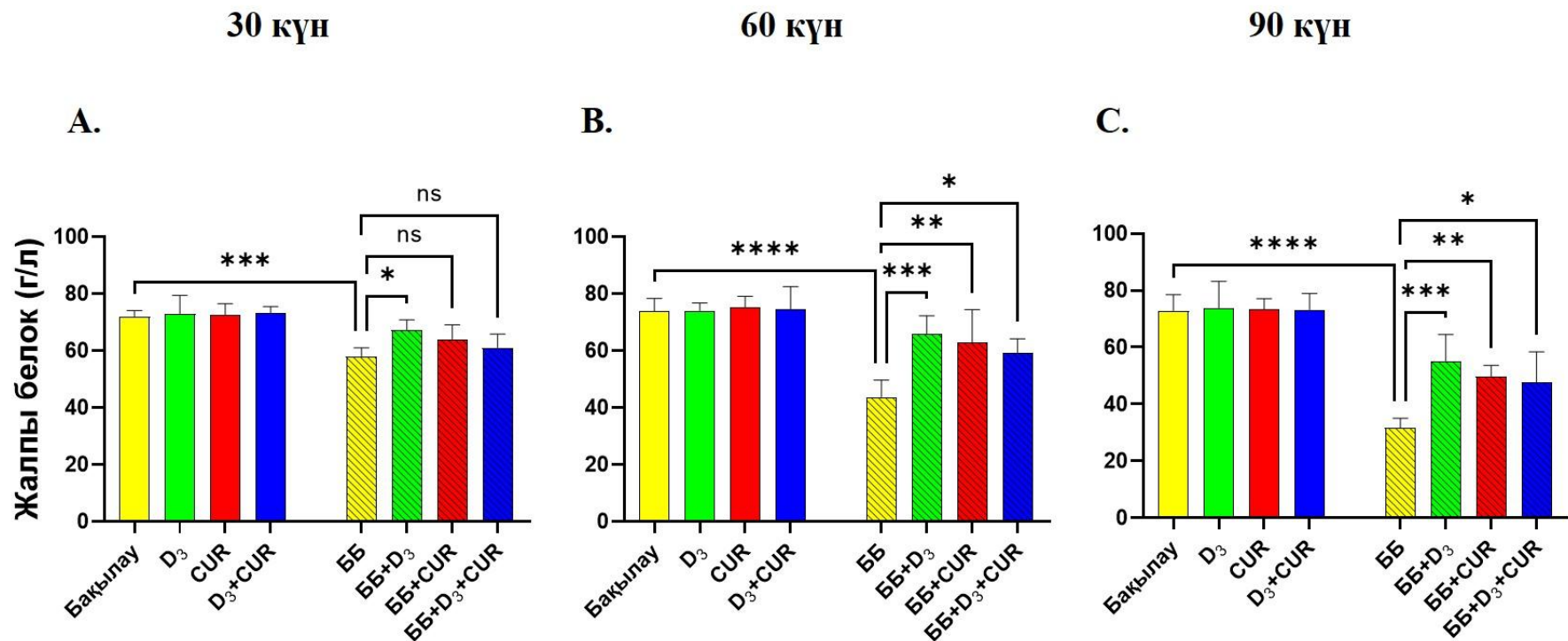
Төртінші топ, D₃ дәруменін және Cirsium longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтардың қан сарысуында 30, 60 және 90 күн бойы, бақылау тобымен салыстырғанда, жалпы белок: тиісінше 1,63%, 1,19% және 0,49% жоғарылаған. Ал глюкоза, бақылау тобымен салыстырғанда, 30 және 60-шы күндері тиісінше 1,94% және 0,1%-ға жоғарыласа, ал 90-шы күні 2,25%-ға төмендеген (Сурет 33, 34).

Бесінші топтағы, тек қана ББ-на ұшыраған егеуқұйрықтардың жалпы белогы, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше 19,52%, 40,81% және 56,48% төмендеген. Ал глюкоза, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше 31%, 54,07%, және 69,21%-ға төмендеген (Сурет 33, 34).

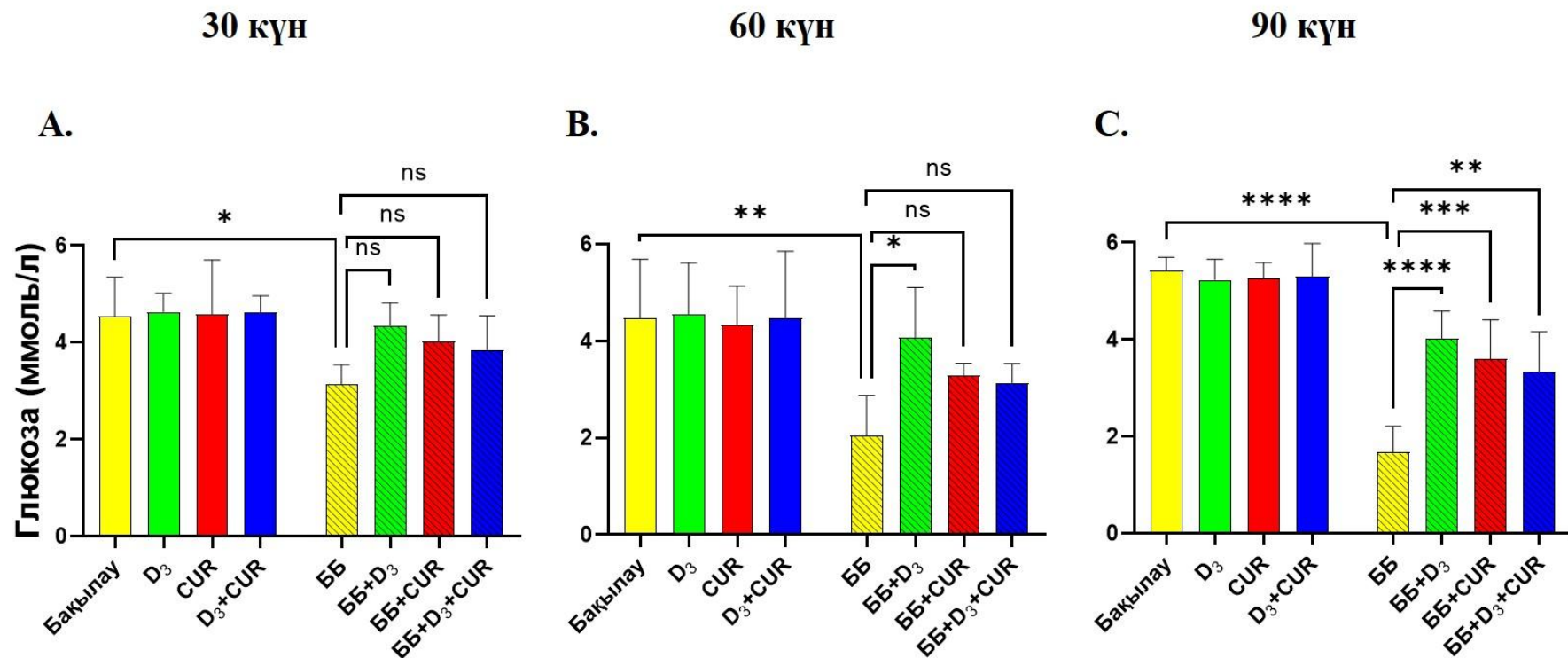
Алтыншы топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының жалпы белогы, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше 6,64%, 10,81% және 24,22%-ға төмендеген. Ал жалпы белоктың мөлшерін, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 16,01%, 50,69% және 74,13%-ға жоғарылаған. Ал глюкоза, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше 4,06%, 9,08%, және 26,03%-ға төмендеген. Ал глюкозаның мөлшерін, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 39,04%, 97,96% және 140,24%-ға жоғарылаған (Сурет 33, 34).

Жетінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында Cirsium longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының қан сарысуындағы жалпы белок, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше 11,08%, 14,88% және 31,69%-ға төмендеген. Ал жалпы белоктың мөлшерін, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 10,49%, 43,82% және 56,97%-ға жоғарылаған. Ал глюкоза, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше 11,16%, 26,48%, және 33,70%-ға төмендеген. Ал глюкозаның мөлшерін, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 28,75%, 60,08% және 115,33%-ға жоғарылаған (Сурет 33, 34).

Сегізінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін және Cirsium longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтардың қан сарысуындағы жалпы белок, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше 15,27%, 19,92% және 34,60%-ға төмендеген. Ал жалпы белоктың мөлшерін, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 5,28%, 35,30% және 50,28%-ға жоғарылаған. Ал глюкоза, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше 15,17%, 29,87%, және 38,38%-ға төмендеген. Ал глюкозаның мөлшерін, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 22,94%, 52,68% және 100,12%-ға жоғарылаған (Сурет 33, 34).



Сурет 33 – D₃ дәрумені, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы және екеуінің комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшырамаған немесе ұшыраған егеуқұйрықтардың қан сарысуындағы жалпы белоктың концентрациясының өзгерістері. Әр топтан n=5 егеуқұйрықтың 30 (A), 60 (B) және 90 (C) күндері алынған перифериялық қан сарысуы үлгілері талданды. Деректер ОМ±СА. One-way ANOVA-ға ілесуші Tukey критерийі бойынша бірнеше салыстыру тесті. *, p<0,05; **, p<0,01; ***, p<0,001; ****, p<0,0001 көрсетілген топтар арасындағы елеулі айырмашылықтар; ns, статистикалық маңызды емес.



Сурет 34 – D₃ дәрумені, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы және екеуінің комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшырамаған немесе ұшыраған егеуқұйрықтардың қан сарысуындағы глюкозаның концентрациясының өзгерістері. Әр топтан n=5 егеуқұйрықтың 30 (A), 60 (B) және 90 (C) күндері алынған перифериялық қан сарысуы үлгілері талданды. Деректер OM±CA. One-way ANOVA-ға ілесуші Tukey критерийі бойынша бірнеше салыстыру тесті. *, p<0,05; **, p<0,01; ***, p<0,001; ****, p<0,0001 көрсетілген топтар арасындағы елеулі айырмашылықтар; ns, статистикалық маңызды емес.

Осылайша, ББ-сыз D₃ дәруменін, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын және олардың комбинациясын қабылдаған алғашқы 4 топ егеуқұйрықтарының қанының биохимиялық талдау нәтижелері ешқандай ауытқуларсыз екенін көрсетті. Олардың биохимиялық параметрлері нормаға сай болғаны анықталды. Сонымен қатар, қоректік қоспалардың қанның биохимиялық параметрлеріне жағымсыз әсер етпегені және тіпті уақыт өте келе, әсіресе 60-шы күні, креатинин деңгейін төмендетуге бейім болғаны байқалады.

Ал, ББ-ын қабылдаған бесінші топ қанын биохимиялық зерттеу барысында параметрлердің мөлшерінің елеулі ауытқуы көрінді. Бірақ, бұл елеулі ауытқулар D₃ дәруменін, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын және олардың комбинациясын қабылдаған кезде едәуір нормаға жақындады. D₃ дәруменінің жеке өзін қабылдау ББ-на ұшыраған егеуқұйрықтардың қан сарысуындағы компоненттердің концентрацияларын, шамамен өңделмеген бақылау деңгейлеріне дейін қалпына келтірді. Ал *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағының жеке және оның D₃ дәруменімен комбинациясының әсері ұқсас болды, бірақ D₃ дәруменінің монотерапиясына қарағанда аз тиімді қорғаныс көрсетті.

3.5 Бензин буымен улану аясында егеуқұйрықтардың гематологиялық өзгерістеріне D₃ дәруменінің, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағының және олардың комбинациясының әсерін 30, 60 және 90 күн бойы зерттеу

ББ-ның 30, 60 және 90 күн бойы ингаляциясы аясында D₃ дәруменін, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын және олардың комбинациясының егеуқұйрықтардың гематологиялық көрсеткіштеріне әсерін одан әрі тереңірек зерттеу үшін біз жалпы қан талдауын жүргіздік. Қан егеуқұйрықтардың организміндегі сыртқы және ішкі орта жағдайларының өзгерістеріне ең сезімтал және тез жауап беретін ұлпаның бірі болып табылады, және ол зат алмасу деңгейінің өзгерістерін бірден көрсетеді. Гематологиялық зерттеулер қан элементтерінің сапалық және сандық құрамын зерттеуге бағытталды.

Эритроциттердің, гематокриттің және гемоглобиннің – қандағы концентрацияларының төмендеуі анемияны және оттегі тасымалдануының төмендеуін білдіруі мүмкін. Бұл көрсеткіштер эксперименттік егеуқұйрықтарда келесідей өзгерістерді көрсетті:

Бірінші, бақылау тобы виварийдің стандартты рационын қабылдаған егеуқұйрықтардың қанындағы эритроциттің концентрациясы 30, 60 және 90 күн бойы, тиісінше $9,92 \pm 1,35$, $8,72 \pm 1,05$ және $8,08 \pm 1,05$ ($\times 10^6/\text{мкл}$) көрсетті (Сурет 35). Гематокриттің мөлшері, тиісінше $45,3 \pm 6,42\%$, $46,44 \pm 10,14\%$ және $46,48 \pm 4,57\%$ болды (Сурет 36). Ал гемоглобиннің қандағы концентрациясы $14,30 \pm 3,42$, $14,32 \pm 2,44$ және $14,86 \pm 4,97$ г/дл көрсетті (Сурет 37).

Екінші топ, D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының қанындағы эритроциттің концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, 30 және 60 күн бойы, тиісінше 9,07% және 2,52% төмендеді, ал 90 күні 1,73%-ға жоғарылады (Сурет 35). Гематокриттің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, 30-шы күні 1,59%-ға төмендеді, ал 60 және 90 күндері,

тиісінше 0,43% және 0,73%-ға көтерілді (Сурет 36). Ал гемоглобиннің қандағы концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, 8,95%, 4,05% және 6,59%-ға түскен (Сурет 37).

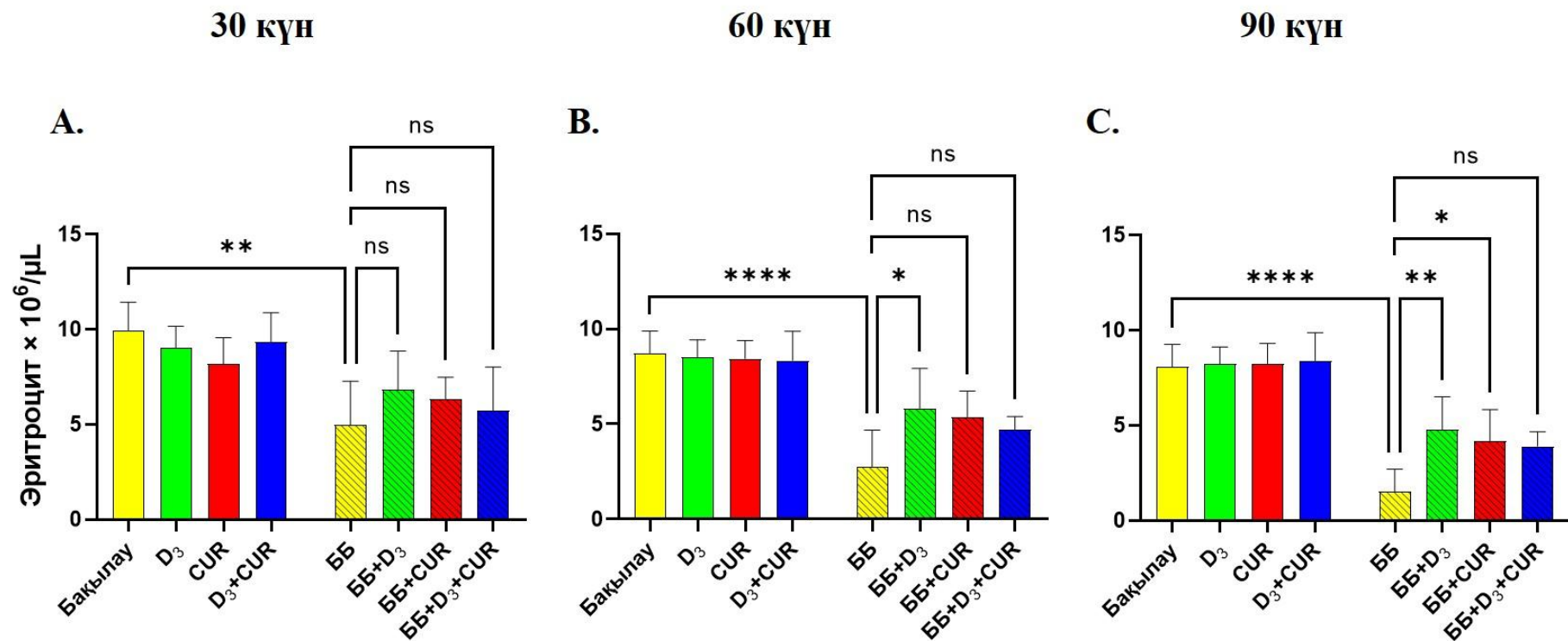
Үшінші топ, Cirsuta longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының қанындағы эритроциттің концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, 30 және 60 күн бойы, сәйкесінше 17,54% және 3,21% уақытқа байланысты төмендеді, ал 90 күні 2,23%-ға жоғарылады (Сурет 35). Гематокриттің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, 30 және 60-шы күндері, тиісінше 4,77% және 0,34%-ға төмендеді, ал 90 күні бақылау тобының мөлшерімен тең болды (Сурет 36). Ал гемоглобиннің қандағы концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, уақытқа тәуелді 16,08%, 5,87% және 5,11%-ға түсіп отырды (Сурет 37).

Төртінші топ, D₃ дәруменін және Cirsuta longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтар эритроциттерінің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, 30 және 60 күндер бойы, сәйкесінше 5,85% және 4,36% уақытқа байланысты төмендеді, ал 90 күні 3,96%-ға жоғарылады (Сурет 35). Гематокриттің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, 30-шы күні 9,84%-ға төмендеді, ал 60 және 90 күндері, сәйкесінше 0,69% және 0,17%-ға көтерілді (Сурет 36). Ал гемоглобиннің саны, бақылау тобымен салыстырғанда, 30 және 90 күндері, сәйкесінше 12,17% және 4,04%-ға төмендесе, 60-шы күні 0,98%-ға жоғарылады (Сурет 37).

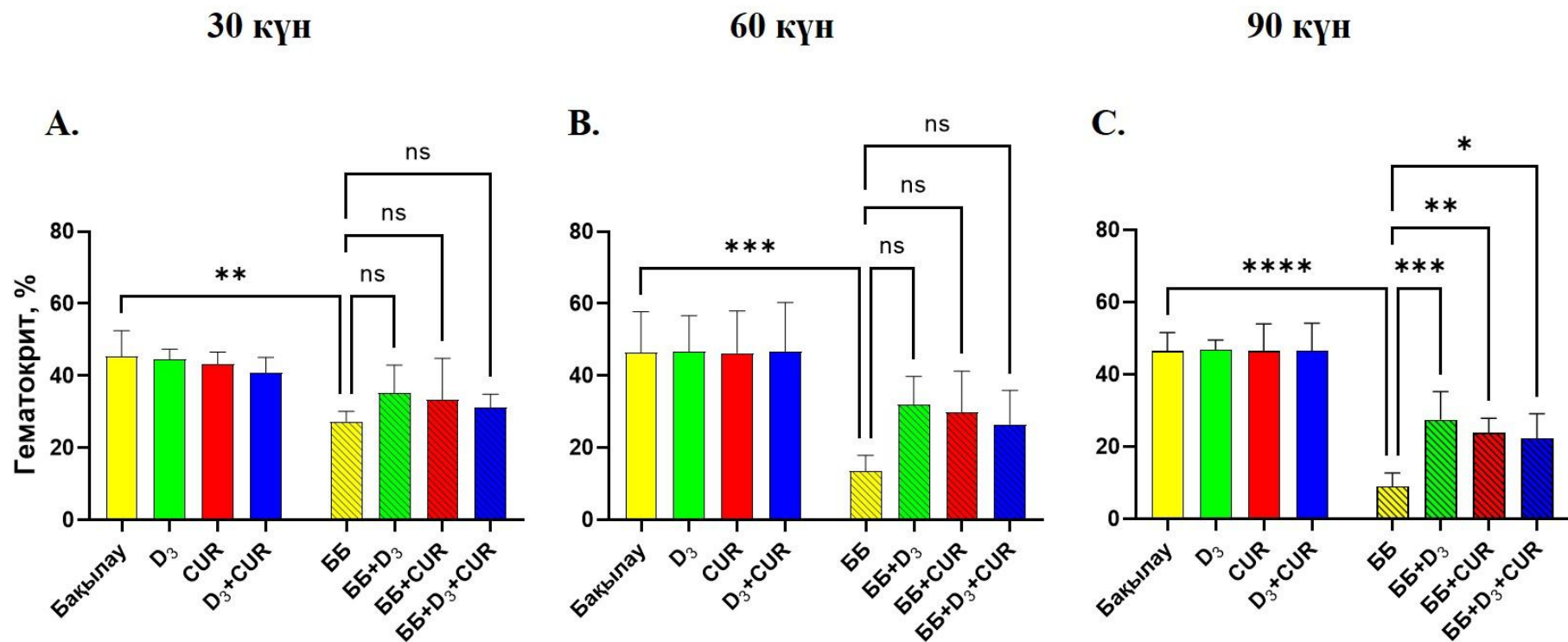
Бесінші топтағы, тек қана ББ-на ұшыраған егеуқұйрықтар эритроциттерінің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күндер бойы, тиісінше 49,80%, 68,58% және 81,19% уақытқа байланысты төмендеді (Сурет 35). Гематокриттің мөлшері де, бақылау тобымен салыстырғанда, уақытқа байланысты 39,67%, 70,84% және 80,77%-ға күрт төмендеді (Сурет 36). Ал гемоглобиннің мөлшері де 39,44%, 67,74% және 79,14%-ға төмендеді (Сурет 37).

Алтыншы топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының эритроциттің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күндер бойы, тиісінше 31,25%, 33,49% және 40,84% уақытқа байланысты төмендеді. Алайда, бұл параметрдің мөлшері, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 36,95%, 111,68% және 214,47%-ға жоғарылады (Сурет 35). Гематокриттің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, уақытқа байланысты 22,20%, 30,96% және 40,92%-ға күрт төмендеді. Бірақ, осы параметрдің мөлшері, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 28,97%, 136,78% және 207,16%-ға жоғарылады (Сурет 36). Ал гемоглобиннің мөлшері де 15,38%, 20,11% және 28,40%-ға төмендеді. Дегенмен, бұл көрсеткіштің концентрациясы тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 39,72%, 147,62% және 243,23%-ға жоғарылады (Сурет 37).

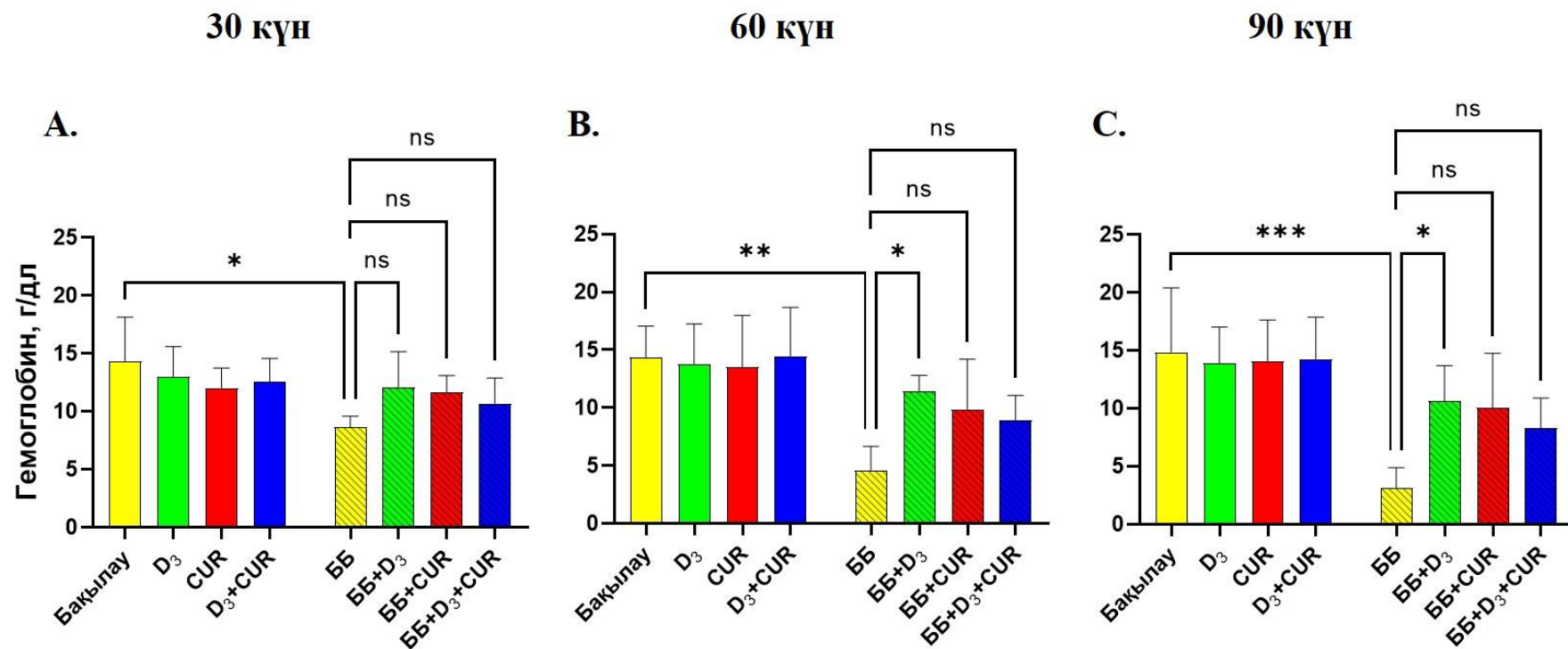
Жетінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында Cirsuta longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының эритроциттің мөлшері, бақылау



Сурет 35 – D_3 дәрумені, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы және екеуінің комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшырамаған немесе ұшыраған егеуқұйрықтардың қанындағы эритроциттің концентрациясының өзгерістері. Әр топтан $n=5$ егеуқұйрықтың 30 (A), 60 (B) және 90 (C) күндері алынған перифериялық қан үлгілері талданды. Деректер $OM \pm CA$. One-way ANOVA-ға ілесуші Tukey критерийі бойынша бірнеше салыстыру тесті. *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ****, $p < 0,0001$ көрсетілген топтар арасындағы елеулі айырмашылықтар; ns, статистикалық маңызды емес.



Сурет 36 – D₃ дәрумені, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы және екеуінің комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшырамаған немесе ұшыраған егеуқұйрықтардың қанындағы гематокриттің концентрациясының өзгерістері. Әр топтан n=5 егеуқұйрықтың 30 (A), 60 (B) және 90 (C) күндері алынған перифериялық қан үлгілері талданды. Деректер OM±CA. One-way ANOVA-ға ілесуші Tukey критерийі бойынша бірнеше салыстыру тесті. *, p<0,05; **, p<0,01; ***, p<0,001; ****, p<0,0001 көрсетілген топтар арасындағы елеулі айырмашылықтар; ns, статистикалық маңызды емес.



Сурет 37 – D₃ дәрумені, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы және екеуінің комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшырамаған немесе ұшыраған егеуқұйрықтардың қанындағы гемоглобиннің концентрациясының өзгерістері. Әр топтан n=5 егеуқұйрықтың 30 (А), 60 (В) және 90 (С) күндері алынған перифериялық қан үлгілері талданды. Деректер OM±CA. One-way ANOVA-ға ілесуші Tukey критерийі бойынша бірнеше салыстыру тесті. *, p<0,05; **, p<0,01; ***, p<0,001 көрсетілген топтар арасындағы елеулі айырмашылықтар; ns, статистикалық маңызды емес.

тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күндер бойы, тиісінше 36,07%, 38,30% және 48,27% уақытқа байланысты төмендеді. Алайда, бұл параметрдің мөлшері, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 27,35%, 96,35% және 175%-ға жоғарылады (Сурет 35). Гематокриттің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, уақытқа байланысты 26,17%, 35,87% және 48,67%-ға күрт төмендеді. Бірақ, осы параметрдің мөлшері, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 22,38%, 119,94% және 166,89%-ға жоғарылады (Сурет 36). Ал гемоглобиннің мөлшері де 18,60%, 31,15% және 32,17%-ға төмендеді. Дегенмен, бұл көрсеткіштің концентрациясы тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 34,41%, 113,42% және 225,16%-ға жоғарылады (Сурет 37).

Сегізінші топ, ББ-ның ингальциясы аясында D₃ дәруменін және Cirsuta longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын эритроциттің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күндер бойы, тиісінше 42,14%, 46,10% және 51,73% уақытқа байланысты төмендеді. Алайда, бұл параметрдің мөлшері, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 15,26%, 71,53% және 156,58%-ға жоғарылады (Сурет 35).

Гематокриттің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, уақытқа байланысты 31,07%, 42,89% және 52,07%-ға күрт төмендеді. Бірақ, осы параметрдің мөлшері, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 14,26%, 95,86% және 149,22%-ға жоғарылады (Сурет 36). Ал гемоглобиннің мөлшері де 25,17%, 37,71% және 44,01%-ға төмендеді. Дегенмен, бұл көрсеткіштің концентрациясы тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 23,56%, 93,07% және 168,39%-ға жоғарылады (Сурет 37).

Лейкоциттердің, лимфоциттердің және гранулоциттердің – қандағы мөлшерінің төмендеуі иммунитет қызметінің бұзылуын және түрлі қабыну процесстерінің дамуын білдіруі мүмкін.

Бірінші, базалық диета қабылдаған бақылау тобы егеуқұйрықтарының қанындағы лейкоциттердің концентрациясы 30, 60 және 90 күн бойы, сәйкесінше $14,36 \pm 2,74$, $14,04 \pm 2,73$ және $15,04 \pm 4,08$ ($\times 10^3/\text{мкл}$) көрсетті (Сурет 38). Ал лимфоциттердің мөлшері, тиісінше $58,18 \pm 3,07$, $61,20 \pm 3,32$ және $61,94 \pm 4,76\%$ болды (Сурет 39). Гранулоциттердің концентрациясы, сәйкесінше $26,06 \pm 1,33$, $28,40 \pm 2,42$ және $29,84 \pm 6,28\%$ екені анықталды (Сурет 40).

Екінші топ, D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының қанындағы лейкоциттердің концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, 30 және 60 күндері, сәйкесінше 4,46% және 3,48%-ға көтерілді, ал 90 күні 2,93%-ға төмендеді (Сурет 38). Ал лимфоциттердің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, 30-шы күні 1,41%-ға жоғарылады, ал 60 және 90-шы күндері, сәйкесінше 1,96% және 4,42%-ға төмендеді (Сурет 39). Гранулоциттердің концентрациясы, 30-шы күні 3,76%-ға көтерілді, ал 60 және 90-шы күндері, сәйкесінше 4,72% және 2,88%-ға төмендеді (Сурет 40).

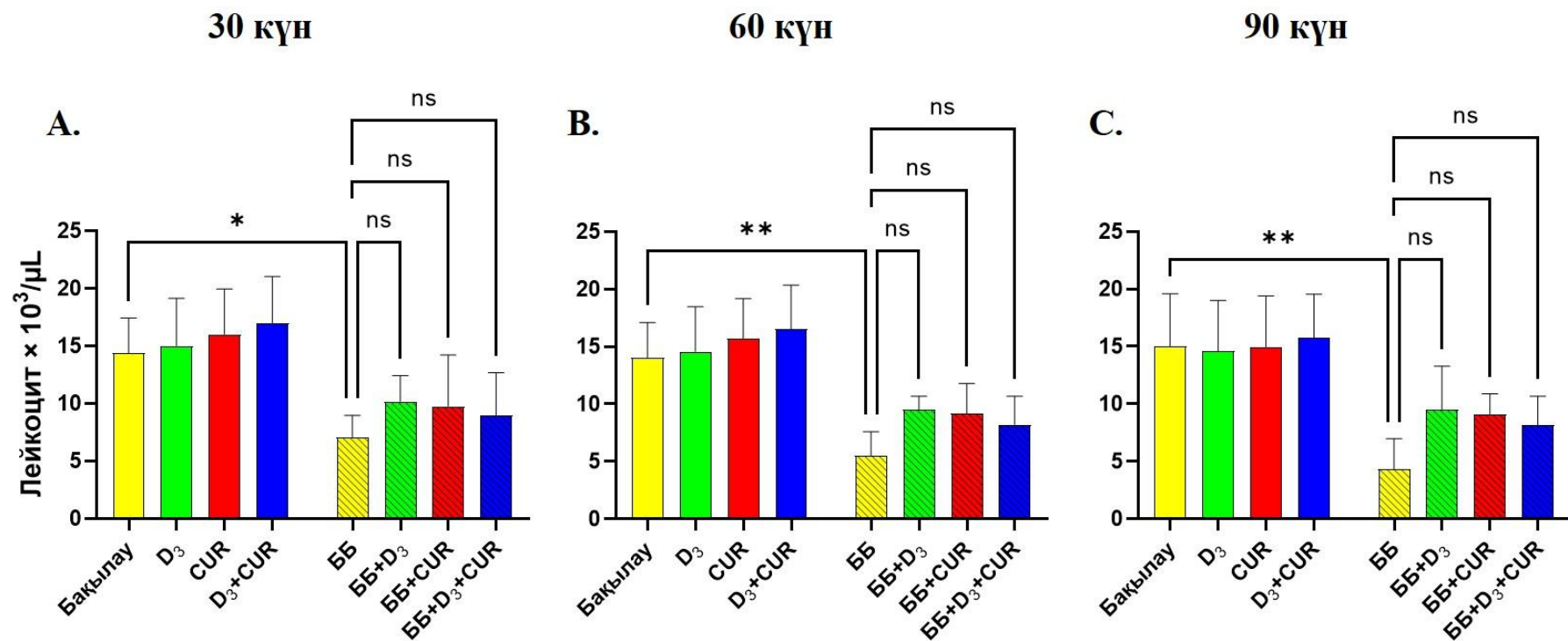
Үшінші топ, Curcuma longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының қанындағы лейкоциттердің концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, 30 және 60 күндері, сәйкесінше 11,42% және 11,97%-ға көтерілді, ал 90 күні 0,93%-ға төмендеді (Сурет 38). Ал лимфоциттердің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, 30-шы күні 3,20%-ға жоғарылады, ал 60 және 90-шы күндері, сәйкесінше 1,21% және 2,42%-ға төмендеді (Сурет 39). Гранулоциттердің концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, 30-шы күні 7,90%-ға көтерілді, ал 60 және 90-шы күндері, сәйкесінше 4,44% және 1,94%-ға төмендеді (Сурет 40).

Төртінші топ, D₃ дәруменін және Curcuma longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтардың қанындағы лейкоциттердің концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күндері, сәйкесінше 18,11%, 17,81% және 4,65%-ға уақытқа тәуелді көтерілді (Сурет 38). Ал лимфоциттердің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, 30-шы күні 5,02%-ға көтерілсе, ал 60 және 90-шы күндері, сәйкесінше 1,01% және 3,81%-ға төмендеді (Сурет 39). Гранулоциттердің концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, 30-шы күні 7,90%-ға көтерілді, ал 60 және 90-шы күндері, сәйкесінше 2,18% және 3,15%-ға төмендеді (Сурет 40).

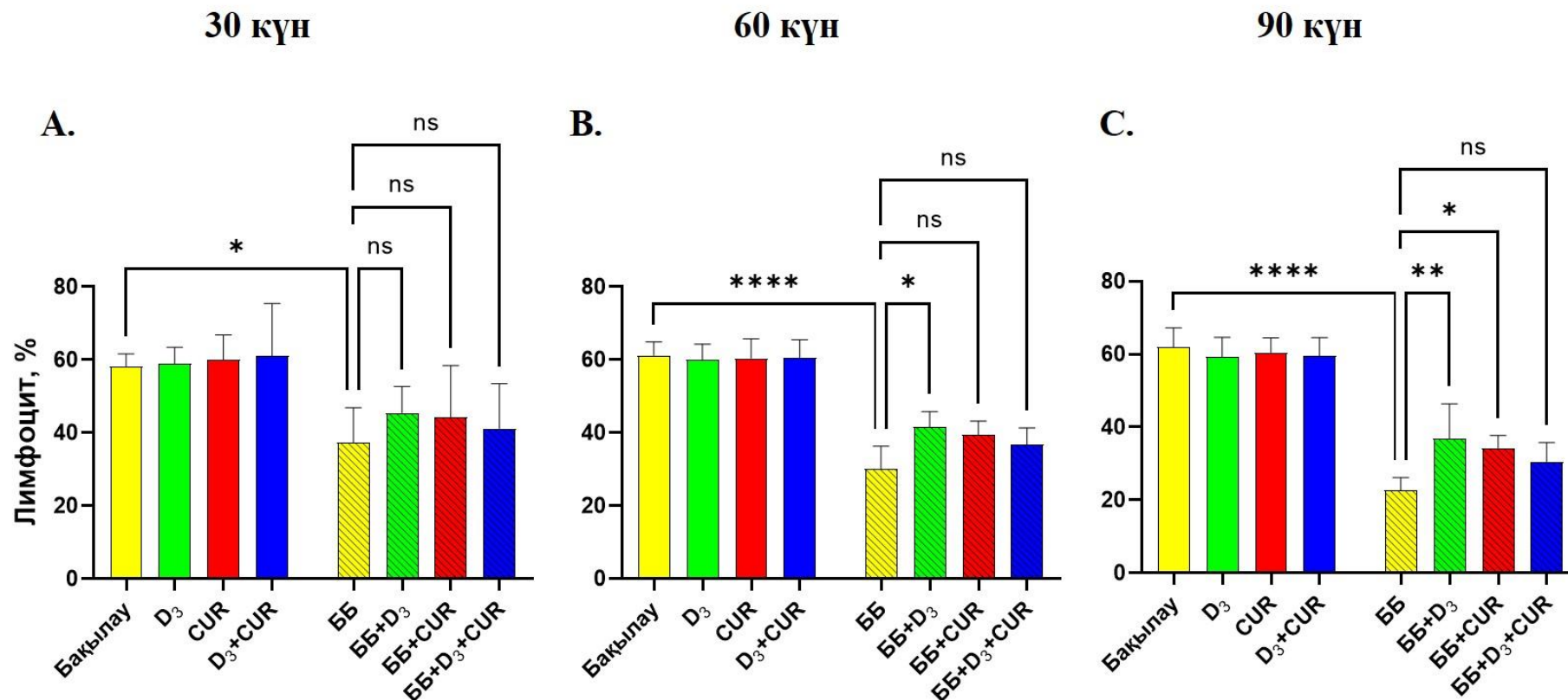
Бесінші топтағы, тек қана ББ-на ұшыраған егеуқұйрықтардың лейкоциттерінің саны, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күндері, сәйкесінше 50,70%, 60,54% және 71,14%-ға уақытқа байланысты төмендеді (Сурет 38). Ал лимфоциттердің мөлшері де, бақылау тобымен салыстырғанда, уақытқа тәуелді 35,75%, 50,72% және 63,45%-ға төмендеді (Сурет 39). Гранулоциттердің концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, 40,68%, 54,72 және 67,09%-ға төмендеді (Сурет 40).

Алтыншы топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының лейкоциттерінің саны, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күндері, сәйкесінше 29,11%, 32,48% және 36,84%-ға уақытқа байланысты төмендеді. Алайда, бұл параметрдің мөлшері, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 43,79%, 71,12% және 118,89%-ға жоғарылады (Сурет 38). Ал лимфоциттердің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, уақытқа тәуелді 21,79%, 32,22% және 40,39%-ға төмендеді. Бірақ, бұл көрсеткіштің мөлшері, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 21,72%, 37,53% және 63,07%-ға жоғарылады (Сурет 39). Гранулоциттердің концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, 14,35%, 23,17% және 32,44%-ға төмендеді. Дегенмен, бұл көрсеткіштің концентрациясы тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 44,37%, 69,67% және 105,30%-ға жоғарылады (Сурет 40).

Жетінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында Curcuma longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының лейкоциттерінің саны, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күндері, сәйкесінше 32,03%, 34,76% және 39,36%-ға уақытқа байланысты төмендеді. Алайда, бұл параметрдің

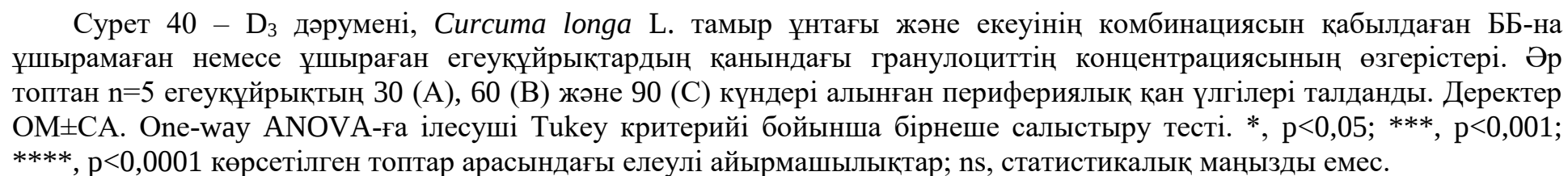


Сурет 38 – D₃ дәрумені, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы және екеуінің комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшырамаған немесе ұшыраған егеуқұйрықтардың қанындағы лейкоциттің концентрациясының өзгерістері. Әр топтан n=5 егеуқұйрықтың 30 (A), 60 (B) және 90 (C) күндері алынған перифериялық қан үлгілері талданды. Деректер OM±CA. One-way ANOVA-ға ілесуші Tukey критерийі бойынша бірнеше салыстыру тесті. *, p<0,05; **, p<0,01 көрсетілген топтар арасындағы елеулі айырмашылықтар; ns, статистикалық маңызды емес.



Сурет 39 – D₃ дәрумені, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы және екеуінің комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшырамаған немесе ұшыраған егеуқұйрықтардың қанындағы лимфоциттің концентрациясының өзгерістері. Әр топтан n=5 егеуқұйрықтың 30 (А), 60 (В) және 90 (С) күндері алынған перифериялық қан үлгілері талданды. Деректер OM±CA. One-way ANOVA-ға ілесуші Tukey критерийі бойынша бірнеше салыстыру тесті. *, p<0,05; **, p<0,01; ****, p<0,0001 көрсетілген топтар арасындағы елеулі айырмашылықтар; ns, статистикалық маңызды емес.

90 күн



мөлшері, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 37,85%, 65,34% және 110,14%-ға жоғарылады (Сурет 38).

Ал лимфоциттердің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, уақытқа тәуелді 23,89%, 35,72% және 44,66%-ға төмендеді. Бірақ, бұл көрсеткіштің мөлшері, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 18,46%, 30,44% және 51,41%-ға жоғарылады (Сурет 39). Гранулоциттердің концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, 23,56%, 34,86% және 41,55%-ға төмендеді. Дегенмен, бұл көрсеткіштің концентрациясы тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 28,85%, 43,86% және 77,60%-ға жоғарылады (Сурет 40).

Сегізінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында D₃ дәруменін және Cirsium longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтардың Осы топтың лейкоциттерінің саны, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күндері, сәйкесінше 37,74%, 41,45% және 45,61%-ға уақытқа байланысты төмендеді. Алайда, бұл параметрдің мөлшері, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 26,27%, 48,38% және 88,48%-ға жоғарылады (Сурет 38). Ал лимфоциттердің мөлшері, бақылау тобымен салыстырғанда, уақытқа тәуелді 29,25%, 39,93% және 50,69%-ға төмендеді. Бірақ, бұл көрсеткіштің мөлшері, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 10,11%, 21,88% және 34,89%-ға жоғарылады (Сурет 39). Гранулоциттердің концентрациясы, бақылау тобымен салыстырғанда, 31,01%, 42,11% және 50,27%-ға төмендеді. Дегенмен, бұл көрсеткіштің концентрациясы тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 16,30%, 27,84% және 51,12%-ға жоғарылады (Сурет 40).

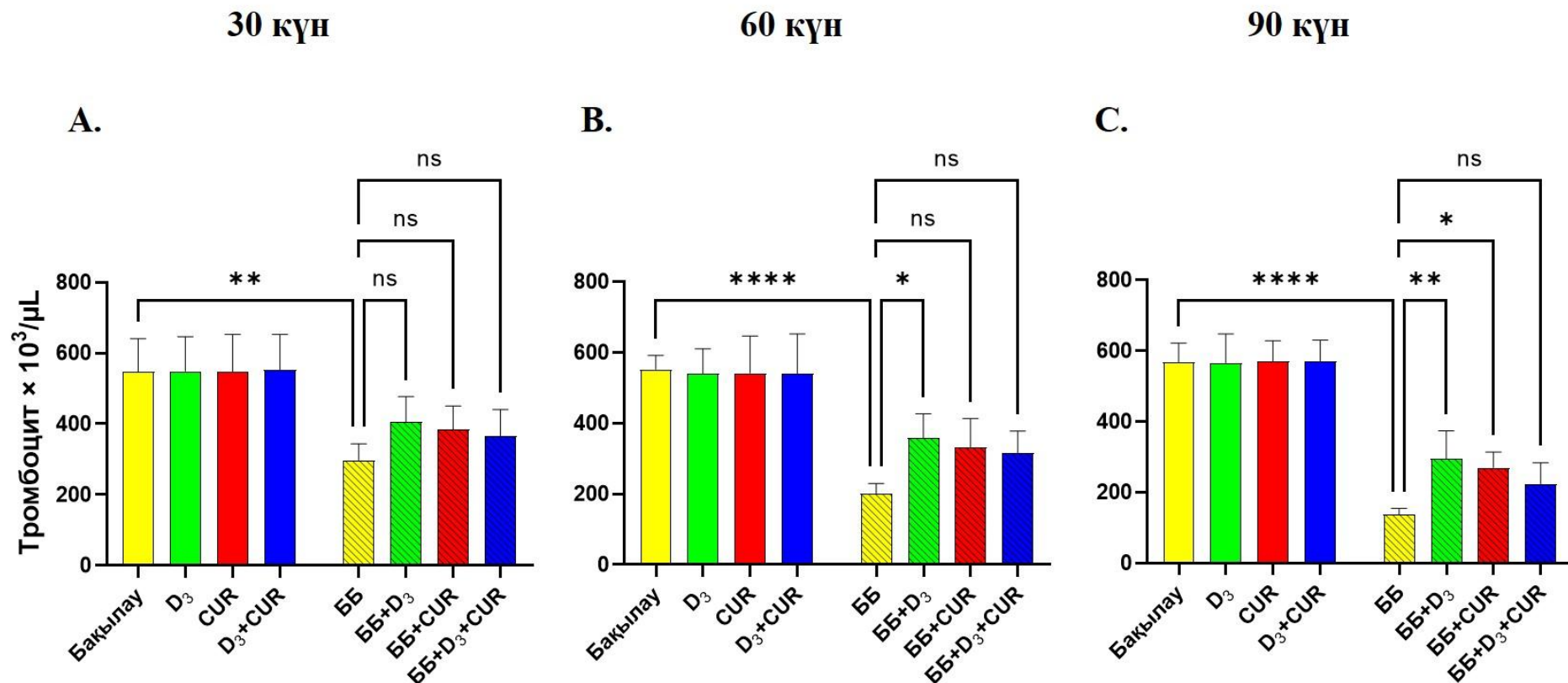
Тромбоциттердің – қанның ұю процесіне жауап беретін клеткалар болып табылады. Олардың қандағы концентрациясының гипокоагуляцияға, яғни қанның ұюының нашарлауына алып келуі мүмкін.

Бірінші, базалық диета қабылдаған бақылау тобы егеуқұйрықтарының қанындағы тромбоциттердің саны $547,38 \pm 83,96$, $552,26 \pm 35,43$ және $568,06 \pm 48,12$ ($\times 10^3/\text{мкл}$) болды (Сурет 41).

Екінші топ, D₃ дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының тромбоциттердің саны, бақылау тобымен салыстырғанда, 30-шы күні 0,31%-ға көтерілді, ал 60 және 90-шы күндері, сәйкесінше 2,17% және 0,31%-ға төмендеді (Сурет 41)

Үшінші топ, Cirsium longa L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының тромбоциттердің саны, бақылау тобымен салыстырғанда, 30 және 60-шы күндері 0,03% және 1,97%-ға төмендеді, ал 90-шы күні 0,30%-ға жоғарылады (Сурет 41).

Төртінші топ, D₃ дәруменін және Cirsium longa L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтардың тромбоциттердің саны, бақылау тобымен салыстырғанда, 30 және 90-шы күндері, тиісінше 1,02% және 0,25%-ға жоғарылады, ал 60-шы күні 2,19%-ға төмендеді (Сурет 41).



Сурет 41 – D₃ дәрумені, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы және екеуінің комбинациясын қабылдаған ББ-на ұшырамаған немесе ұшыраған егеуқұйрықтардың қанындағы тромбоциттердің концентрациясының өзгерістері. Әр топтан n=5 егеуқұйрықтың 30 (A), 60 (B) және 90 (C) күндері алынған перифериялық қан үлгілері талданды. Деректер OM $\pm$ CA. One-way ANOVA-ға ілесуші Tukey критерийі бойынша бірнеше салыстыру тесті. *, p<0,05; **, p<0,01; ****, p<0,0001 көрсетілген топтар арасындағы елеулі айырмашылықтар; ns, статистикалық маңызды емес.

Бесінші топтағы, тек қана ББ-на ұшыраған егеуқұйрықтардың тромбоциттері, бақылау тобымен салыстырғанда, 45,62%, 63,49% және 75,74%-ға төмендеді (Сурет 41).

Алтыншы топ, ББ-ның ингаляциясы аясында *D₃* дәруменін қабылдаған егеуқұйрықтарының тромбоциттері, бақылау тобымен салыстырғанда, 30, 60 және 90 күндері, тиісінше 26,06%, 35,30% және 47,97%-ға төмендеді. Алайда, тромбоциттердің мөлшері, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 35,99%, 77,21% және 114,47%-ға жоғарылады (Сурет 41).

Жетінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын қабылдаған егеуқұйрықтарының тромбоциттері, бақылау тобымен салыстырғанда, 29,77%, 39,80% және 52,53%-ға төмендеді. Алайда, тромбоциттердің мөлшері, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 29,16%, 64,87% және 95,66%-ға жоғарылады (Сурет 41).

Сегізінші топ, ББ-ның ингаляциясы аясында *D₃* дәруменін және *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының комбинациясын қабылдаған егеуқұйрықтардың тромбоциттері, бақылау тобымен салыстырғанда, 32,91%, 42,91% және 60,67%-ға төмендеді. Алайда, тромбоциттердің мөлшері, тек ББ-на ұшыраған бесінші топпен салыстырғанда, тиісінше 23,39%, 56,35% және 62,12%-ға жоғарылады (Сурет 41).

Осылайша, ББ-сыз *D₃* дәруменін, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын және олардың комбинациясын қабылдаған алғашқы 4 топ егеуқұйрықтарының гематологиялық талдау нәтижелері ауытқуларсыз екенін көрсетті. Олардың гематологиялық параметрлері нормаға сай болғаны анықталды. Сонымен қатар, қоректік қоспалардың қанның биохимиялық параметрлеріне жағымсыз әсер етпегені байқалады.

Ал, ББ-ын қабылдаған бесінші топ егеуқұйрықтарының гематологиялық көрсеткіштерін зерттеу барысында параметрлердің мөлшерінің елеулі ауытқуы көрінді. Бірақ, бұл елеулі ауытқулар *D₃* дәруменін, *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағын және олардың комбинациясын қабылдаған кезде уақытқа байланысты ішінара қалпына келгенін көруге болады. *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағын және оның *D₃* дәруменімен комбинациясын қабылдау, егеуқұйрықтардың гематологиялық параметрлеріне айтарлықтай қорғаныс әсерін берген жоқ. Ал *D₃* дәруменінің қорғаныс белсенділігі *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағынан немесе комбинациялық емдеуден жоғары болды, бұл қоспалардың комбинациясы әрқашан жеке қолданылатын әр агенттен гөрі пайдалы бола бермейтінін көрсетеді.

ҚОРЫТЫНДЫ

1. Лейкоздық HL60 клеткаларын 1,25D₃-тің 0,5 нМ концентрациясы – 1,68%, ал 1 нМ – 6,80 % дифференциясын тудырғаны анықталды. Куркуминнің 2,5 мкМ концентрациясы – 77,12 %, 5 мкМ – 62,87 % HL60 клеткаларының өміршеңдігін төмендетті. 1,25D₃ пен куркуминнің комбинациялық емдеуден қарағанда 1,25D₃ дәрумені жалғыз өзі HL60 клеткаларына жоғарғы ($p < 0,0001$) дифференциялық қасиет көрсететіндігі анықталды.

2. *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағының фитохимиялық құрамы зерттелді. Нәтижесінде, негізгі куркуминоидтардың, яғни куркуминнің (69,8 мг/г), деметоксикуркуминнің (31,6 мг/г) және бисдеметоксикуркуминнің (20,9 мг/г) жоғары концентрациясы анықталды. Сонымен қатар, флавоноидтар (2,8 мг/г), таниндер (27,0 мг/г), алкалоидтар (15,8 мг/г) және сапониндер (41,8 мг/г) мөлшері анықталды.

3. D₃ дәруменін 90 күн бойы қабылдау егеуқұйрықтардағы бензин буының уыттылығынан туындаған дене салмағының төмендеуінен, сонымен қатар макроскопиялық және микроскопиялық зерттеулер кезінде өкпенің, бауырдың, бүйректің, көкбауырдың морфологиялық зақымдануынан айтарлықтай қорғайтындығы дәлелденді. Ал *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы және оның D₃ дәруменімен комбинациясы тиімділігі төмен қорғаныс жасағандығы анықталды. Екі агентті бірге қолданғанда, *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы D₃ дәруменінің кейбір қорғаныс әсеріне антагонизм жасағаны байқалды. Бұл деректер осы екі агентті біріктіріп қолдану, бензин буының зиянды әсеріне қарсы жоғары пайдалы белсенділікті қамтамасыз ете алмайтынын көрсетті.

4. D₃ дәруменін 90 күн бойы қабылдау егеуқұйрықтардың қан сарысуындағы бензин буының уыттылығынан туындаған бауырдың (АЛТ – $p < 0,0001$ және АСТ – $p < 0,0001$) және бүйректің биомаркерлерінің (креатинин – $p < 0,001$ және мочевина – $p < 0,001$) жоғарылауынан, және белок ($p < 0,001$) пен глюкозаның ($p < 0,0001$) төмендеуінен сақтайтыны дәлелденді. Ал *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы және оның D₃ дәруменімен комбинациясы, D₃ дәруменімен салыстырғанда, аталған қан биохимиясы көрсеткіштерінің деңгейлерінің ауытқуын әлсіз тежегені анықталды.

5. D₃ дәруменін 90 күн бойы қабылдау егеуқұйрықтардың қанындағы бензин буының уыттылығынан туындаған эритроциттердің ($p < 0,01$), гематокриттің ($p < 0,001$), гемоглобиннің ($p < 0,05$), лейкоциттердің, лимфоциттердің ($p < 0,01$), гранулоциттердің ($p < 0,05$) және тромбоциттердің ($p < 0,01$) мөлшерінің төмендеуінен қорғайтындығы дәлелденді. Ал *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы және оның D₃ дәруменімен комбинациясы, D₃ дәруменімен салыстырғанда, аталған гематологиялық параметрлердің концентрацияларының өзгерісін әлсіз қалыпқа келтіретіні анықталды.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Warden, H.; Richardson, H.; Richardson, L.; Siemiatycki, J.; Ho, V. Associations between occupational exposure to benzene, toluene and xylene and risk of lung cancer in Montréal. *Occup. Environ. Med.* 2018, 75, 696–702. <https://doi.org/10.1136/oemed2017-104987>.
- 2 Enterline, P.E. Review of new evidence regarding the relationship of gasoline exposure to kidney cancer and leukemia. *Environ. Health Perspect.* 1993, 101 (Suppl. 6), 101–103. <https://doi.org/10.1289/ehp.93101s6101>.
- 3 Hadkhale, K.; Martinsen, J.I.; Weiderpass, E.; Kjaerheim, K.; Sparen, P.; Tryggvadottir, L.; Lynge, E.; Pukkala, E. Occupational exposure to solvents and bladder cancer: A population-based case control study in Nordic countries. *Int. J. Cancer* 2017, 140, 1736–1746. <https://doi.org/10.1002/ijc.30593>.
- 4 Talbott, E.O.; Xu, X.; Youk, A.O.; Rager, J.R.; Stragand, J.A.; Malek, A.M. Risk of leukemia as a result of community exposure to gasoline vapors: A follow-up study. *Environ. Res.* 2011, 111, 597–602. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2011.03.009>.
- 5 World Health Organization. World Health Statistics 2022: Leukemia. 2022
- 6 Danilenko, M.; Wang, Q.; Wang, X.; Levy, J.; Sharoni, Y.; Studzinski, G.P. Carnosic acid potentiates the antioxidant and prodifferentiation effects of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 in leukemia cells but does not promote elevation of basal levels of intracellular calcium. *Cancer Res.* 2003, 63, 1325–1332.
- 7 Wang, Q.; Salman, H.; Danilenko, M.; Studzinski, G.P. Cooperation between antioxidants and 1,25-dihydroxyvitamin D3 in induction of leukemia HL60 cell differentiation through the JNK/AP-1/Egr-1 pathway. *J. Cell. Physiol.* 2005, 204, 964–974. <https://doi.org/10.1002/jcp.20355>.
- 8 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi. Exploring air pollution and its solutions in developing countries. January 17, 2022. DOI: <https://osf.io/4vzf2>
- 9 Mackenzie, Jillian and Jeff Turrentine. “Air Pollution: Everything You Need to Know.” Natural Resources Defense Council. <https://www.nrdc.org/stories/air-pollution-everything-you-needknow>. Accessed January 20, 2022
- 10 Gordon McGranahan, Frank Murray. Air Pollution and Health in Rapidly Developing Countries. ISBN 9781853839856. Published March 1, 2003 by Routledge. 256 p.
- 11 Aimanbetova Z., 2010. Алматы – в списке самых грязных городов мира (Almaty – in the list of most dirtiest cities in the world), Voice of America, Russian ed., 2010, 20th Jan.; http://www.voanews.com/russian/news/former-ussr/Almaty-Pollution-2010-01-20_82192382.html (Accessed Apr. 2012)
- 12 Newsfactory, 2011. Алматы – ядовитый город (Almaty – toxic city), <http://www.newsfactory.kz/24639.html> (Accessed Apr. 2012).
- 13 Всемирная организация здравоохранения. Во многих городах мира качество воздуха ухудшается. 7 мая, 2014 г. Доступно на: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/air-quality/en/>

- 14 Page NP, Mehlman M. Health effects of gasoline refueling vapors and measured exposures at service stations. *Toxicol Ind Health*. 1989 Oct;5(5):869-90. doi: 10.1177/074823378900500521. PMID: 2683228.
- 15 Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Gasoline. Agency for Toxic Substances and Disease Registry; Atlanta, GA, USA: 1995.
- 16 IARC Gasoline. Monographs. 1989;45:159–199.
- 17 Agency for Toxic Substances and Disease Registry . Toxicological Profile for Gasoline. Agency for Toxic Substances and Disease Registry; Atlanta, GA, USA: 1995.
- 18 Shearston JA, Hilpert M. Gasoline Vapor Emissions During Vehicle Refueling Events in a Vehicle Fleet Saturated With Onboard Refueling Vapor Recovery Systems: Need for an Exposure Assessment. *Front Public Health*. 2020 Feb 7;8:18. doi: 10.3389/fpubh.2020.00018. PMID: 32117853; PMCID: PMC7020915.
- 19 Lewné M, Nise G, Lind ML, Gustavsson P. Exposure to particles and nitrogen dioxide among taxi, bus and lorry drivers. *Int Arch Occup Environ Health*. 2006 Mar;79(3):220-6. doi: 10.1007/s00420-005-0047-6. Epub 2005 Nov 9. PMID: 16283363.
- 20 Abou-ElWafa HS, Albadry AA, El-Gilany AH, Bazeed FB. Some Biochemical and Hematological Parameters among Petrol Station Attendants: A Comparative Study. *Biomed Res Int*. 2015;2015:418724. doi: 10.1155/2015/418724. Epub 2015 Nov 8. PMID: 26634207; PMCID: PMC4655017.
- 21 Abdel Maksoud HA, Elharif MG, Mahfouz MK, Omnia MA, Abdullah MH, Eltabey ME. Biochemical study on occupational inhalation of benzene vapours in petrol station. *Respir Med Case Rep*. 2019 Apr 8;27:100836. doi: 10.1016/j.rmcr.2019.100836. PMID: 31008048; PMCID: PMC6458524.
- 22 Lan Q, Zhang L, Li G, Vermeulen R, Weinberg RS, Dosemeci M, Rappaport SM, Shen M, Alter BP, Wu Y, Kopp W, Waidyanatha S, Rabkin C, Guo W, Chanock S, Hayes RB, Linet M, Kim S, Yin S, Rothman N, Smith MT. Hematotoxicity in workers exposed to low levels of benzene. *Science*. 2004 Dec 3;306(5702):1774-6. doi: 10.1126/science.1102443. PMID: 15576619; PMCID: PMC1256034.
- 23 Patton AN, Levy-Zamora M, Fox M, Koehler K. Benzene Exposure and Cancer Risk from Commercial Gasoline Station Fueling Events Using a Novel Self-Sampling Protocol. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 Feb 15;18(4):1872. doi: 10.3390/ijerph18041872. PMID: 33671888; PMCID: PMC7918986.
- 24 Bahadar H, Mostafalou S, Abdollahi M. Current understandings and perspectives on non-cancer health effects of benzene: a global concern. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2014 Apr 15;276(2):83-94. doi: 10.1016/j.taap.2014.02.012. Epub 2014 Mar 1. PMID: 24589379.
- 25 Fenga C, Catania C, Di Nola C, Cacciola A, Germanò D, Costa C. L'inquinamento atmosferico delle aree urbane come fattore di rischio per la salute della popolazione generale e lavorativa. *monitoraggio ambientale biologico dell'1-3 butadiene* [Air pollution in urban areas as a risk factor for health in the general

population and in workers. Environmental and biologic monitoring of 1-3 butadiene]. *G Ital Med Lav Ergon*. 2007 Jul-Sep;29(3 Suppl):861-3. Italian. PMID: 18410004.

26 Schupp T., Bolt H.M., Jaekch R., Hengstler J.G. Benzene and its methyl-derivatives: derivation of maximum exposure levels in automobiles // *Toxicology Letters*. –2006. – Vol. 160(2). – P.93-104.

27 1. Bergsagel D.E., Wong O., Bergsagel P.L., Alexanian R., Anderson K., Kyle R.A., Raabe G.K. Benzene and Multiple Myeloma: Appraisal of the Scientific Evidence. *Blood*. 1999;94:1174–1182. doi: 10.1182/blood.V94.41174.

28 Paxton M.B., Chinchilli V.M., Brett S.M., Rodricks J.V. Leukemia risk associated with benzene exposure in the pliofilm cohort: I. Mortality update and exposure distribution. *Risk Anal*. 1994;14:147–154. doi: 10.1111/j.1539-6924.1994.tb00039.x.

29 Paxton M.B., Chinchilli V.M., Brett S.M., Rodricks J.V. Leukemia risk associated with benzene exposure in the pliofilm cohort. II. Risk estimates. *Risk Anal*. 1994;14:155–161. doi: 10.1111/j.1539-6924.1994.tb00040.x.

30 Wong O. Risk of acute myeloid leukaemia and multiple myeloma in workers exposed to benzene. *Occup. Environ. Med*. 1995;52:380–384. doi: 10.1136/oem.52.6.380.

31 Agency for Toxic Substances and Disease Registry . Toxicological Profile for Benzene. Agency for Toxic Substances and Disease Registry; Washington, DC, USA: 2006.

32 Keenan J.J., Gaffney S., Gross S.A., Ronk C.J., Paustenbach D.J., Galbraith D., Kerger B.D. An evidence-based analysis of epidemiologic associations between lymphatic and hematopoietic cancers and occupational exposure to gasoline. *Hum. Exp. Toxicol*. 2013;32:1007–1027. doi: 10.1177/0960327113476909.

33 ATSDR Toxicological Profile for Benzene. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services; (2007).

34 Kanada M, Miyagawa M, Sato M, Hasegawa H, HohMa T. Neurochemical profile of effects of 28 neurotoxic chemicals on the central nervous system in rats (1). Effects of oral administration on brain contents of biogenic amines and metabolites. *Ind Health*. 1994;32(3):145-64. doi: 10.2486/indhealth.32.145. PMID: 7698903.

35 IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Occupational exposures in petroleum refining; crude oil and major petroleum fuels. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*. 1989;45:1-322. PMID: 2664246; PMCID: PMC7681331.

36 Reutman SR, LeMasters GK, Knecht EA, Shukla R, Lockey JE, Burroughs GE, Kesner JS. Evidence of reproductive endocrine effects in women with occupational fuel and solvent exposures. *Environ Health Perspect*. 2002 Aug;110(8):805-11. doi: 10.1289/ehp.02110805. PMID: 12153763; PMCID: PMC1240953.

37 Marchetti F, Eskenazi B, Weldon RH, Li G, Zhang L, Rappaport SM, Schmid TE, Xing C, Kurtovich E, Wyrobek AJ. Occupational exposure to benzene

and chromosomal structural aberrations in the sperm of Chinese men. *Environ Health Perspect.* 2012 Feb;120(2):229-34. doi: 10.1289/ehp.1103921. Epub 2011 Nov 15. PMID: 22086566; PMCID: PMC3279447

38 Smith MT. Advances in understanding benzene health effects and susceptibility. *Annu Rev Public Health.* 2010;31:133-48 2 p following 148. doi: 10.1146/annurev.publhealth.012809.103646. PMID: 20070208; PMCID: PMC4360999.

39 Uzma N, Kumar BS, Hazari MA. Exposure to benzene induces oxidative stress, alters the immune response and expression of p53 in gasoline filling workers. *Am J Ind Med.* 2010 Dec;53(12):1264-70. doi: 10.1002/ajim.20901. PMID: 20886531

40 Winek CL, Collom WD. Benzene and toluene fatalities. *J Occup Med.* 1971 May;13(5):259-61. PMID: 5103143.

41 Collins JJ, Ireland B, Buckley CF, Shepperly D. Lymphohaematopoeitic cancer mortality among workers with benzene exposure. *Occup Environ Med.* 2003 Sep;60(9):676-9. doi: 10.1136/oem.60.9.676. PMID: 12937190; PMCID: PMC1740628.

42 Snyder R. Leukemia and benzene. *Int J Environ Res Public Health.* 2012 Aug;9(8):2875-93. doi: 10.3390/ijerph9082875. Epub 2012 Aug 14. PMID: 23066403; PMCID: PMC3447593

43 Bennett LM, Davis BJ. Identification of mammary carcinogens in rodent bioassays. *Environ Mol Mutagen.* 2002;39(2-3):150-7. doi: 10.1002/em.10068. PMID: 11921183.

44 Rudel RA, Attfield KR, Schifano JN, Brody JG. Chemicals causing mammary gland tumors in animals signal new directions for epidemiology, chemicals testing, and risk assessment for breast cancer prevention. *Cancer.* 2007 Jun 15;109(12 Suppl):2635-66. doi: 10.1002/cncr.22653. PMID: 17503434.

45 Fenga C. Occupational exposure and risk of breast cancer. *Biomed Rep.* 2016 Mar;4(3):282-292. doi: 10.3892/br.2016.575. Epub 2016 Jan 21. PMID: 26998264; PMCID: PMC4774377

46 Collingwood KW, Raabe GK, Wong O. An updated cohort mortality study of workers at a northeastern United States petroleum refinery. *Int Arch Occup Environ Health.* 1996;68(5):277-88. doi: 10.1007/BF00409412. PMID: 8832292.

47 Fu H, Demers PA, Costantini AS, Winter P, Colin D, Kogevinas M, Boffetta P. Cancer mortality among shoe manufacturing workers: an analysis of two cohorts. *Occup Environ Med.* 1996 Jun;53(6):394-8. doi: 10.1136/oem.53.6.394. PMID: 8758034; PMCID: PMC1128495.

48 Gérin M, Siemiatycki J, Désy M, Krewski D. Associations between several sites of cancer and occupational exposure to benzene, toluene, xylene, and styrene: results of a case-control study in Montreal. *Am J Ind Med.* 1998 Aug;34(2):144-56. doi: 10.1002/(sici)1097-0274(199808)34:2<144::aid-ajim7>3.0.co;2-x. PMID: 9651624.

49 Lewis RJ, Schnatter AR, Drummond I, Murray N, Thompson FS, Katz AM, Jorgensen G, Nicolich MJ, Dahlman D, Thériault G. Mortality and cancer

morbidity in a cohort of Canadian petroleum workers. *Occup Environ Med*. 2003 Dec;60(12):918-28. doi: 10.1136/oem.60.12.918. PMID: 14634182; PMCID: PMC1740448.

50 Snyder R, Witz G, Goldstein BD. The toxicology of benzene. *Environ Health Perspect*. 1993 Apr;100:293-306. doi: 10.1289/ehp.93100293. PMID: 8354177; PMCID: PMC1519582.

51 Zhang L, McHale CM, Rothman N, Li G, Ji Z, Vermeulen R, Hubbard AE, Ren X, Shen M, Rappaport SM, North M, Skibola CF, Yin S, Vulpe C, Chanock SJ, Smith MT, Lan Q. Systems biology of human benzene exposure. *Chem Biol Interact*. 2010 Mar 19;184(1-2):86-93. doi: 10.1016/j.cbi.2009.12.011. Epub 2009 Dec 21. PMID: 20026094; PMCID: PMC2846187.

52 Nishikawa T, Izumo K, Miyahara E, Horiuchi M, Okamoto Y, Kawano Y, Takeuchi T. Benzene induces cytotoxicity without metabolic activation. *J Occup Health*. 2011;53(2):84-92. doi: 10.1539/joh.10-002-oa. Epub 2011 Feb 11. PMID: 21325737

53 Wan J, Badham HJ, Winn L. The role of c-MYB in benzene-initiated toxicity. *Chem Biol Interact*. 2005 May 30;153-154:171-8. doi: 10.1016/j.cbi.2005.03.037. Epub 2005 Apr 18. PMID: 15935814.

54 Kalousova M, Zima T, Tesar V, Dusilova-Sulkova S, Skrha J. Advanced glycoxidation end products in chronic diseases-clinical chemistry and genetic background. *Mutat Res*. 2005 Nov 11;579(1-2):37-46. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2005.03.024. Epub 2005 Aug 5. PMID: 16084533.

55 Costa C, Ozcagli E, Gangemi S, Schembri F, Giambò F, Androutsopoulos V, Tsatsakis A, Fenga C. Molecular biomarkers of oxidative stress and role of dietary factors in gasoline station attendants. *Food Chem Toxicol*. 2016 Apr;90:30-5. doi: 10.1016/j.fct.2016.01.017. Epub 2016 Jan 29. PMID: 26827788.

56 Malaponte G, Signorelli SS, Bevelacqua V, Polesel J, Taborelli M, Guarneri C, Fenga C, Umezawa K, Libra M. Increased Levels of NF- κ B-Dependent Markers in Cancer-Associated Deep Venous Thrombosis. *PLoS One*. 2015 Jul 20;10(7):e0132496. doi: 10.1371/journal.pone.0132496. PMID: 26192925; PMCID: PMC4507873.

57 Fenga C, Gangemi S, Giambò F, Tsitsimpikou C, Golokhvast K, Tsatsakis A, Costa C. Low-dose occupational exposure to benzene and signal transduction pathways involved in the regulation of cellular response to oxidative stress. *Life Sci*. 2016 Feb 15;147:67-70. doi: 10.1016/j.lfs.2015.12.025. Epub 2016 Jan 14. PMID: 26775569.

58 Badham HJ, Renaud SJ, Wan J, Winn LM. Benzene-initiated oxidative stress: Effects on embryonic signaling pathways. *Chem Biol Interact*. 2010 Mar 19;184(1-2):218-21. doi: 10.1016/j.cbi.2009.11.005. Epub 2009 Nov 12. PMID: 19913523.

59 Stokes SE, Winn LM. NF- κ B signaling is increased in HD3 cells following exposure to 1,4-benzoquinone: role of reactive oxygen species and p38-MAPK. *Toxicol Sci*. 2014 Feb;137(2):303-10. doi: 10.1093/toxsci/kft256. Epub 2013 Nov 9. PMID: 24213144.

- 60 Barreto G, Madureira D, Capani F, Aon-Bertolino L, Saraceno E, Alvarez-Giraldez LD. The role of catechols and free radicals in benzene toxicity: an oxidative DNA damage pathway. *Environ Mol Mutagen*. 2009 Dec;50(9):771-80. doi: 10.1002/em.20500. PMID: 19449395.
- 61 Lacquaniti A, Fenga C, Venuti VA, Pernice L, Catanzariti S, Sirna G, Pernice F, Arena A, Lupica R, Abbate C, Buemi M. Hydrocarbons and kidney damage: potential use of neutrophil gelatinase-associated lipocalin and sister chromatide exchange. *Am J Nephrol*. 2012;35(3):271-8. doi: 10.1159/000336310. Epub 2012 Feb 25. PMID: 22378219
- 62 Smith MT, Zhang L, Wang Y, Hayes RB, Li G, Wiemels J, Dosemeci M, Titenko-Holland N, Xi L, Kolachana P, Yin S, Rothman N. Increased translocations and aneusomy in chromosomes 8 and 21 among workers exposed to benzene. *Cancer Res*. 1998 May 15;58(10):2176-81. PMID: 9605763.
- 63 Smith MT, Zhang L, Wang Y, Hayes RB, Li G, Wiemels J, Dosemeci M, Titenko-Holland N, Xi L, Kolachana P, Yin S, Rothman N. Increased translocations and aneusomy in chromosomes 8 and 21 among workers exposed to benzene. *Cancer Res*. 1998 May 15;58(10):2176-81. PMID: 9605763.
- 64 Bassig BA, Zhang L, Cawthon RM, Smith MT, Yin S, Li G, Hu W, Shen M, Rappaport S, Barone-Adesi F, Rothman N, Vermeulen R, Lan Q. Alterations in leukocyte telomere length in workers occupationally exposed to benzene. *Environ Mol Mutagen*. 2014 Oct;55(8):673-8. doi: 10.1002/em.21880. Epub 2014 Jun 19. PMID: 24945723; PMCID: PMC4360990.
- 65 Cruz-Martinez L, Smits JE, Fernie K. Stress response, biotransformation effort, and immunotoxicity in captive birds exposed to inhaled benzene, toluene, nitrogen dioxide, and sulfur dioxide. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2015 Feb;112:223-30. doi: 10.1016/j.ecoenv.2014.10.016. Epub 2014 Nov 25. PMID: 25463874.
- 66 Harada K, Ichiyama T, Ikeda H, Yoshida K. A fatal case of oral ingestion of benzene. *Am J Forensic Med Pathol*. 1999 Mar;20(1):84-9. doi: 10.1097/00000433-199903000-00020. PMID: 10208345.
- 67 López E, Schuhmacher M, Domingo JL. Human health risks of petroleum-contaminated groundwater. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2008 May;15(3):278-88. doi: 10.1065/espr2007.02.390. PMID: 18504848.
- 68 Bogen KT, Sheehan PJ. Dermal versus total uptake of benzene from mineral spirits solvent during parts washing. *Risk Anal*. 2014 Jul;34(7):1336-58. doi: 10.1111/risa.12166. Epub 2014 Feb 3. PMID: 24495022.
- 69 Williams PR, Sahmel J, Knutsen J, Spencer J, Bunge AL. Dermal absorption of benzene in occupational settings: estimating flux and applications for risk assessment. *Crit Rev Toxicol*. 2011 Feb;41(2):111-42. doi: 10.3109/10408444.2010.530224. PMID: 21288163.
- 70 Chen L, Guo P, Zhang H, Li W, Gao C, Huang Z, Fan J, Zhang Y, Li X, Liu X, Wang F, Wang S, Li Q, He Z, Li H, Chen S, Wu X, Ye L, Li Q, Tang H, Wang Q, Dong G, Xiao Y, Chen W, Li D. Benzene-induced mouse hematotoxicity is regulated by a protein phosphatase 2A complex that stimulates transcription of cytochrome P4502E1. *J Biol Chem*. 2019 Feb 15;294(7):2486-2499. doi:

10.1074/jbc.RA118.006319. Epub 2018 Dec 19. PMID: 30567741; PMCID: PMC6378973.

71 Abubakar MB, Abdullah WZ, Sulaiman SA, Ang BS. The effects of exposure to petrol vapours on growth, haematological parameters and oxidative markers in sprague-dawley male rats. *Malays J Med Sci.* 2015 Jan-Feb;22(1):23-31. PMID: 25892947; PMCID: PMC4390771.

72 Kinawy AA, Ezzat AR, Al-Suwaigh BR. Inhalation of air polluted with gasoline vapours alters the levels of amino acid neurotransmitters in the cerebral cortex, hippocampus, and hypothalamus of the rat. *Exp Toxicol Pathol.* 2014 Aug;66(5-6):219-24. doi: 10.1016/j.etp.2014.02.001. Epub 2014 Mar 30. PMID: 24690269.

73 Kawasaki Y, Hirabayashi Y, Kaneko T, Kanno J, Kodama Y, Matsushima Y, Ogawa Y, Saitoh M, Sekita K, Uchida O, Umemura T, Yoon BI, Inoue T. Benzene-induced hematopoietic neoplasms including myeloid leukemia in Trp53-deficient C57BL/6 and C3H/He mice. *Toxicol Sci.* 2009 Aug;110(2):293-306. doi: 10.1093/toxsci/kfp107. Epub 2009 May 28. PMID: 19478238; PMCID: PMC2708599.

74 Abou-ElWafa HS, Albadry AA, El-Gilany AH, Bazeed FB. Some biochemical and hematological parameters among petrol station attendants: a comparative study. *Biomed Res Int.* (2015) 2015:418724. 10.1155/2015/418724

75 Kirkeleit J., Riise T., Gjertsen B.T., Moen B.E., Bråtveit M.B.Ø. Effects of benzene on human hematopoiesis. *Open Hematol. J.* 2008;2:87–102.

76 Olufemi AE, Terry AO, Kola OJ. Anti-leukemic and immunomodulatory effects of fungal metabolites of *Pleurotus pulmonarius* and *Pleurotus ostreatus* on benzene-induced leukemia in Wister rats. *Korean J Hematol.* 2012 Mar;47(1):67-73. doi: 10.5045/kjh.2012.47.1.67. Epub 2012 Mar 28. PMID: 22479280; PMCID: PMC3317474.

77 Wasser SP, Weis AL. Medicinal properties of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: current perspectives. *Int J Med Mushrooms.* 1999;1:31–62.

78 Perry C., Eldor A., Soreq H. Runx1/AML1 in leukemia: disrupted association with diverse protein partners //Leuk. Res.- 2002.- V.26 (3). – P. 221–228.

79 Yestemirova G.A., Yessimsiitova Z.B., Danilenko M.P. Current progress in the study of acute myeloid leukemia. *Journal of the al Farabi Kazakh National University. International Journal of Biology and Chemistry.* V. 12, N. 2, 2019. 86-92

80 Rubnitz J.E., Gibson B., Smith F.O. Leucemia mieloide aguda//Pediatr. Clin. North. Am. – 2008. – T.55. – P.21–51.

81 Естемірова Г.Ә., Тлеубеккызы П. Жедел миелоидты лейкоздың даму ерекшеліктері және оны емдеу әдістері. Жас ғалымдар, магистранттар, студенттер «XX Сәтбаев оқулары» атты Халықаралық ғылыми конференциясы. 10 сәуір 2020. 143-147

82 Bennett J.M., Catovsky D., Daniel M.T., Flandrin G., Galton D.A., Gralnick, H.R., Sultan C. Proposals for the Classification of the Acute Leukaemias,

French- American-British (FAB) Co-Operative Group //Br. J. Haematol. – 1976. – V. 33. – P.451–458.

83 Perry C., Eldor A., Soreq H. Runx1/AML1 in leukemia: disrupted association with diverse protein partners //Leuk. Res.- 2002.- V.26 (3). – P. 221–228.

84 Jemal A., Siegel R., Ward E., Hao Y., Xu J., Thun M.J. Cancer statistics, 2009 //Cancer J. Clin. – 2009. -V.59. – P. 225–249.

85 Advani A.S. Targeting the c-kit receptor in the treatment of acute myelogenous leukemia //Curr. Hematol. Malig. Rep.- 2006. - №1. –P.101–107.

86 Богданов К.В., Фролова О.И., Маринец О.В., Зарайский М.И., Родионов А.В., Зарицкий А.Ю., Афанасьев Б.В. Клиническое значение вариантов хромосомной транслокации t(9;22) у больных хроническим миелолейкозом//Гематология и трансфузиология. – 2003. – Т. 48. - №3. – С. 9-13.

87 Туркина А.Г. Патогенетическое лечение хронического миелолейкоза: препарат Гливек блокирует активность специфического BCR/ABL онкопротеина//Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии. -2002 – Т.1. - №2. – С. 60-65.

88 Хорошко Н.Д., Виноградова О.Ю., Туркина А.Г. Терапия дазатинибом больных хроническим миелоидным лейкозом, резистентных к лечению иматинибом//Гематология и трансфузиология. – 2008. – Т. 53. - №3. - С.25-29

89 Куцев, С.И., Морданов С.В. Амплификация гена BCR-ABL у пациентов с хроническим миелоидным лейкозом, рефрактерных к иматинибу//Онкогематология. – 2009. - №3. – С. 23-26

90 Brincker H. Population-based age- and sex-specific incidence rates in the 4 main types of leukaemia //Scand J. Hemat.- 1982. – V.29. – p.241-244.

91 Call T., Noel P., Habbermann T. Incidence of leukemia in Olmsted County, Minnesota, 1975 through 1989. //Mayo clin. Proc. - 1994. –V.69. – P.315-319

92 Клиническая онкогематология: Руководство для врачей./ Под ред. М.А.Волковой. - М.: Медицина, 2001. – 576 с., с 237

93 Колосков А.В. Острые лейкозы. Классификация. Этиология. Патогенез. (лекция для врачей и студентов) //http://www.rusmedserv.com/hematology/leikoz.htm.

94 Цикл лекций по детской онкологии. Принципы диагностики в детской онкологии //V российская онкологическая конференция: материалы конгрессов и конференций. - Санкт-Петербург, 2001. – Т. 2. - С. 160-162

95 Inaba H., Greaves M., Mullighan C.G. Acute lymphoblastic leukaemia//Lancet.— 2013.—V. 381. - № 9881.—P. 1943—1955

96 International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia: Recommendations for diagnosis, staging and response criteria //Ann inter Med. – 1989. – Vol. 110. – p.236-238.

97 Reis L.A.G, Miller B.A., Hankey B.F., Clegg L.X., Edwards B.K. SEER Cancer Statistics Review, 1973–1996, National Cancer Institute.- Bethesda, 1999

- 98 Bloomfield C.D., Foon K.A., Lemine E.G. Basic principles and Clinical Management of Cancer. – N.Y., 1993. – P. 459-468.
- 99 Gkoutinakou IM, Mylonis I, Tsakalof A. Vitamin D and Hypoxia: Points of Interplay in Cancer. *Cancers* (Basel). 2022 Mar 31;14(7):1791. doi: 10.3390/cancers14071791. PMID: 35406562; PMCID: PMC8997790.
- 100 Г.Я. Шварц. Витамин D, D-гормон и альфакальцидол: медицинские, молекулярнобиологические и фармакологические аспекты. *Український ревматологічний журнал* • № 3 (37) • 2009. Р 63-70
- 101 Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, van Etten E, Verstuyf A, Luderer HF, Lieben L, Mathieu C, Demay M. Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocr Rev.* 2008 Oct;29(6):726-76. doi: 10.1210/er.2008-0004. Epub 2008 Aug 11. PMID: 18694980; PMCID: PMC2583388.;
- 102 Jäpelt RB, Jakobsen J. Vitamin D in plants: a review of occurrence, analysis, and biosynthesis. *Front Plant Sci.* 2013 May 13;4:136. doi: 10.3389/fpls.2013.00136. PMID: 23717318; PMCID: PMC3651966.
- 103 Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, van Etten E, Verstuyf A, Luderer HF, Lieben L, Mathieu C, Demay M. Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocr Rev.* 2008 Oct;29(6):726-76. doi: 10.1210/er.2008-0004. Epub 2008 Aug 11. PMID: 18694980; PMCID: PMC2583388.;
- 104 О.А. Громова, И.Ю. Торшин. Витамин D. Смена парадигмы. 2-е издание переработанное и дополненное. Изд.гр. «ГЕОТАР-Медиа», 2021, 18-19 стр.
- 105 Lee SM, Meyer MB, Benkusky NA, O'Brien CA, Pike JW. The impact of VDR expression and regulation in vivo. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2018 Mar;177:36-45. doi: 10.1016/j.jsbmb.2017.06.002. Epub 2017 Jun 9. PMID: 28602960; PMCID: PMC5723236.
- 106 Lopez AG, Kerlan V, Desailoud R. Non-classical effects of vitamin D: Non-bone effects of vitamin D. *Ann Endocrinol (Paris).* 2021 Feb;82(1):43-51. doi: 10.1016/j.ando.2020.12.002. Epub 2020 Dec 3. PMID: 33279474.
- 107 Giammanco M, Di Majo D, La Guardia M, Aiello S, Crescimannno M, Flandina C, Tumminello FM, Leto G. Vitamin D in cancer chemoprevention. *Pharm Biol.* 2015;53(10):1399-434. doi: 10.3109/13880209.2014.988274. Epub 2015 Apr 9. PMID: 25856702.
- 108 Garland CF, Comstock GW, Garland FC, Helsing KJ, Shaw EK, Gorham ED. Serum 25-hydroxyvitamin D and colon cancer: eight-year prospective study. *Lancet.* 1989 Nov 18;2(8673):1176-8. doi: 10.1016/s0140-6736(89)91789-3. PMID: 2572900.
- 109 Engel P, Fagherazzi G, Boutten A, Dupré T, Mesrine S, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F. Serum 25(OH) vitamin D and risk of breast cancer: a nested case-control study from the French E3N cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010 Sep;19(9):2341-50. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0264. PMID: 20826834.

- 110 Ahonen MH, Tenkanen L, Teppo L, Hakama M, Tuohimaa P. Prostate cancer risk and prediagnostic serum 25-hydroxyvitamin D levels (Finland). *Cancer Causes Control*. 2000 Oct;11(9):847-52. doi: 10.1023/a:1008923802001. PMID: 11075874.,
- 111 Tretli S, Hernes E, Berg JP, Hestvik UE, Robsahm TE. Association between serum 25(OH)D and death from prostate cancer. *Br J Cancer*. 2009 Feb 10;100(3):450-4. doi: 10.1038/sj.bjc.6604865. Epub 2009 Jan 20. PMID: 19156140; PMCID: PMC2658536.
- 112 Giovannucci E, Liu Y, Rimm EB, Hollis BW, Fuchs CS, Stampfer MJ, Willett WC. Prospective study of predictors of vitamin D status and cancer incidence and mortality in men. *J Natl Cancer Inst*. 2006 Apr 5;98(7):451-9. doi: 10.1093/jnci/djj101. PMID: 16595781.
- 113 Feldman D, Krishnan AV, Swami S, Giovannucci E, Feldman BJ. The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nat Rev Cancer*. 2014 May;14(5):342-57. doi: 10.1038/nrc3691. Epub 2014 Apr 4. PMID: 24705652.
- 114 Fleet JC, DeSmet M, Johnson R, Li Y. Vitamin D and cancer: a review of molecular mechanisms. *Biochem J*. 2012 Jan 1;441(1):61-76. doi: 10.1042/BJ20110744. PMID: 22168439; PMCID: PMC4572477.,
- 115 Giammanco M, Di Majo D, La Guardia M, Aiello S, Crescimannno M, Flandina C, Tumminello FM, Leto G. Vitamin D in cancer chemoprevention. *Pharm Biol*. 2015;53(10):1399-434. doi: 10.3109/13880209.2014.988274. Epub 2015 Apr 9. PMID: 25856702.
- 116 Gocek E, Studzinski GP. (2009). Vitamin D and differentiation in cancer. *Crit Rev Clin Lab Sci* 46:190–209
- 117 Vanoirbeek E, Krishnan A, Eelen G, et al. (2011). The anti-cancer and anti-inflammatory actions of 1,25(OH)D. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 25:593–604
- 118 Norman, A. W. Vitamin D nutritional policy needs a vision for the future [Text] / A. W. Norman, R. Bouillon // *Exp. Biol. Med.* – 2010. – № 235 (9). – P. 1034-1045.
- 119 Естемірова Г.Ә., Тлеубеккызы П. Дәрілік өсімдіктерді тиімді пайдалану. «Фараби Әлемі» атты студенттер мен жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференция Материалдары. Алматы, Қазақстан, 6-9 сәуір 2020. 44
- 120 Singh S, Kaur I, Kariyat R. The Multifunctional Roles of Polyphenols in Plant-Herbivore Interactions. *Int J Mol Sci*. 2021 Feb 1;22(3):1442. doi: 10.3390/ijms22031442. PMID: 33535511; PMCID: PMC7867105.
- 121 Zhou Y, Zheng J, Li Y, Xu DP, Li S, Chen YM, Li HB. Natural Polyphenols for Prevention and Treatment of Cancer. *Nutrients*. 2016 Aug 22;8(8):515. doi: 10.3390/nu8080515. PMID: 27556486; PMCID: PMC4997428.
- 122 Omodanisi E.I., Aboua Y.G., Oguntibeju O.O. Assessment of the anti-hyperglycaemic, anti-inflammatory and antioxidant activities of the methanol extract of *Moringa oleifera* in diabetes-induced nephrotoxic male wistar rats. *Molecules*. 2017;22:439. doi: 10.3390/molecules22040439,

- 123 Odongo G.A., Schlotz N., Herz C., Hanschen F.S., Baldermann S., Neugart S., Trierweiler B., Frommherz L., Franz C.M., Ngwene, 2. Luo J., Wei Z., Zhang S., Peng X., Huang Y., Zhang Y., Lu J. Phenolic fractions from muscadine grape “Noble” Pomace can inhibit breast cancer cell MDA-MB-231 Better than those from European grape “Cabernet Sauvignon” and induces-phase arrest and apoptosis. Food Sci. 2017 doi: 10.1111/1750-3841.13670.
- 124 Sajid M., Khan M.R., Shah S.A., Majid M., Ismail H., Maryam S., Batool R., Younis T. Investigations on anti-inflammatory and analgesic activities of *Alnus nitida* Spach (Endl). stem bark in sprague dawley rats. J. Ethnopharmacol. 2017;198:407–416. doi: 10.1016/j.jep.2017.01.041.
- 125 González Arbeláez LF , Ciocci Pardo A , Fantinelli JC , Schinella GR , Mosca SM , Ríos JL . Cardioprotection and natural polyphenols: an update of clinical and experimental studies. Food Funct. 2018 Dec 13;9(12):6129-6145. doi: 10.1039/c8fo01307a. PMID: 30460963.
- 126 Léotoing L., Wauquier F., Davicco M.J., Lebecque P., Gaudout D., Rey S., Vitrac X., Massenat L., Rashidi S., Wittrant Y., et al. The phenolic acids of Agen prunes (dried plums) or Agen prune juice concentrates do not account for the protective action on bone in a rat model of postmenopausal osteoporosis. Nutr. Res. 2016;36:161–173. doi: 10.1016/j.nutres.2015.10.002,
- 127 An J., Hao D., Zhang Q., Chen B., Zhang R., Wang Y., Yang H. Natural products for treatment of bone-erosive diseases: The effects and mechanisms on inhibiting osteoclastogenesis and bone resorption. Int. Immunopharmacol. 2016;36:118–131. doi: 10.1016/j.intimp.2016.04.024.
- 128 Ben Mansour R., Wided M.K., Cluzet S., Krisa S., Richard T., Ksouri R. LC-MS identification and preparative HPLC isolation of *Frankenia pulverulenta* phenolics with antioxidant and neuroprotective capacities in PC12 cell line. Pharm. Biol. 2017;55:880–887. doi: 10.1080/13880209.2016.1278452.
- 129 Sarrias A.G., Núñez-Sánchez M.Á., Tomás-Barberán F.A., Espín J.C. Neuroprotective effects of bioavailable polyphenol-derived metabolites against oxidative stress-induced cytotoxicity in human neuroblastoma SH-SY5Y Cells. J. Agric. Food Chem. 2017;65:752–758. doi: 10.1021/acs.jafc.6b04538.
- 130 Shaw O.M., Hurst R.D., Harper J.L. Boysenberry ingestion supports fibrolytic macrophages with the capacity to ameliorate chronic lung remodeling. Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 2016;311:L628–L638. doi: 10.1152/ajplung.00309.2015.
- 131 Gómez C.I.G., González-Laredo R.F., Gallegos-Infante J.A., Pérez M.D., Moreno-Jiménez M.R., Flores-Rueda A.G., Rocha-Guzmán N.E. Antioxidant and angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of *Eucalyptus camaldulensis* and *Litsea glaucescens* infusions fermented with kombucha consortium. Food Technol. Biotechnol. 2016;54:367–374.
- 132 Nobile V., Michelotti A., Cestone E., Caturla N., Castillo J., Benavente-García O., Pérez-Sánchez A., Micol V. Skin photoprotective and antiageing effects of a combination of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and grapefruit (*Citrus paradisi*) polyphenols. Food Nutr. Res. 2016 doi: 10.3402/fnr.v60.31871.

- 133 Forte M., Conti V., Damato A., Ambrosio M., Puca A.A., Sciarretta S., Frati G., Vecchione C., Carrizzo A. Targeting nitric oxide with natural derived compounds as a therapeutic strategy in vascular diseases. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016;2016:7364138. doi: 10.1155/2016/7364138.
- 134 Tenore G.C., Caruso D., Buonomo G., D'Avino M., Campiglia P., Marinelli L., Novellino E. A healthy balance of plasma cholesterol by a novel Annurca apple-based nutraceutical formulation: Results of a randomized trial. *J. Med. Food.* 2017;20:288–300. doi: 10.1089/jmf.2016.0152.
- 135 Jia M., Ren D., Nie Y., Yang X. Beneficial effects of apple peel polyphenols on vascular endothelial dysfunction and liver injury in high choline-fed mice. *Food Funct.* 2017;8:1282–1292. doi: 10.1039/C7FO00147A.
- 136 Miyamoto T., Zhang X., Ueyama Y., Apisada K., Nakayama M., Suzuki Y., Ozawa T., Mitani A., Shigemune N., Shimatani K., et al. Development of novel monoclonal antibodies directed against catechins for investigation of antibacterial mechanism of catechins. *J. Microbiol. Methods.* 2017;137:6–13. doi: 10.1016/j.mimet.2017.03.014.
- 137 Singh A., Holvoet S., Mercenier A. Dietary polyphenols in the prevention and treatment of allergic diseases // *Clin Exp Allergy.* – 2011. - №41. – P. 1346– 1359.
- 138 Yestemirova G.A., Yessimsiitova Z.B., Sitpayeva G.T. General characteristics of the effectiveness of the use of medicinal plants for cancer. *Астана медициналық журналы* 2020, №2. 154-161
- 139 Yessimsiitova Z.B., Ablaihanova N.T., Bazarbayeva Zh. M., Yestemirova G.A., Turdybayeva A., Beken Z., Kozhamzharova A. Basic mechanisms of action of drugs on the animal organism. *ҚазҰМУ Хабаршысы* 2021, №2, 168-174
- 140 Han X., Shen T., Lou H. Dietary polyphenols and their biological significance. *Int. J. Mol. Sci.* 2007;8:950–988. doi: 10.3390/i8090950.
- 141 Yessimsiitova Z.B., Ablaihanova N.T., Bazarbayeva Zh. M., Yestemirova G.A., Beken Z., Kozhamzharova A., Mukhitdinov A. Study of the influence of plant herbs on histostructural changes in the rat's body. *ҚазҰМУ Хабаршысы*, 2021, №2. 175-180
- 142 Shen S.Q., Zhang Y., Xiang J.J., Xiong C.L. Protective effect of curcumin against liver warm ischemia/reperfusion injury in rat model is associated with regulation of heat shock protein and antioxidant enzymes. *World J. Gastroenterol.* 2007;13:1953–1961. doi: 10.3748/wjg.v13.i13.1953.
- 143 Kocaadam B., Sanlier N. Curcumin, an active component of turmeric (*Curcuma longa*), and its effects on health. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2015; 57(13):2889–95. DOI: 10.1080/10408398.2015.1077195.
- 144 Hosseini A., Hosseinzadeh H. Antidotal or protective effects of *Curcuma longa* (turmeric) and its active ingredient, curcumin, against natural and chemical toxicities: A review. *Biomed Pharmacother* 2018;99:411–21. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.01.072.

- 145 Hewlings S.J., Kalman D.S. Curcumin: a review of its effects on human health // *Foods*. – 2017. - №6(10). – P. 92-103.
- 146 Allegra A., Innao V., Russo S., Gerace D., Alonci A., Musolino C. Anticancer activity of curcumin and its analogues: preclinical and clinical studies // *Cancer Invest.* – 2017. - №35(1). – P. 1-22.
- 147 Luo Q., Luo H., Fu H. et al. Curcumin suppresses invasiveness and migration of human glioma cells in vitro by inhibiting HDGF/ β -catenin complex. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2019;39(8):911–6. DOI: 10.12122/ j.issn.1673-4254.2019.08.06
- 148 Shabaninejad Z., Pourhanifeh M.H., Movahedpour A. et al. Therapeutic potentials of curcumin in the treatment of glioblastoma. *Eur J Med Chem* 2020;188:112040. DOI: 10.1016/j.ejmech.2020.112040,
- 149 Amalraj A., Pius A., Gopi S. et al. Biological activities of curcuminoids, other biomolecules from turmeric and their derivatives – a review. *J Tradit Complement Med* 2016;7(2):205–33. DOI: 10.1016/j.jtcme.2016.05.005.,
- 150 Mortezaee K., Salehi E., Mirtavoos Mahyari H. et al. Mechanisms of apoptosis modulation by curcumin: implications for cancer therapy. *J Cell Physiol* 2019;234(8):12537–50. DOI: 10.1002/jcp.28122.
- 151 Zanutto-Filho A., Braganhol E., Klafke K. et al. Autophagy inhibition improves the efficacy of curcumin/temozolomide combination therapy in glioblastomas. *Cancer Let* 2015;358(2):220–31. DOI: 10.1016/j.canlet.2014.12.044.
- 152 Klinger N.V., Mittal S. Therapeutic Potential of Curcumin for the Treatment of Brain Tumors. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016:1–14. DOI: 10.1155/2016/9324085.
- 153 Kunati S.R., Yang S., William B.M., Xu Y. An LC-MS/MS method for simultaneous determination of curcumin, curcumin glucuronide and curcumin sulfate in a phase II clinical trial. *J Pharm Biomed Anal* 2018;156:189–98. DOI: 10.1016/j.jpba.2018.04.034.
- 154 Carolina Alves R., Perosa Fernandes R., Fonseca-Santos B. et al. A critical review of the properties and analytical methods for the determination of curcumin in biological and pharmaceutical matrices. *Crit Rev Anal Chem* 2019;49(2):138–49. DOI: 10.1080/10408347.2018.1489216.
- 155 Carolina Alves R., Perosa Fernandes R., Fonseca-Santos B. et al. A critical review of the properties and analytical methods for the determination of curcumin in biological and pharmaceutical matrices. *Crit Rev Anal Chem* 2019;49(2):138–49. DOI: 10.1080/10408347.2018.1489216.
- 156 Carolina Alves R., Perosa Fernandes R., Fonseca-Santos B. et al. A critical review of the properties and analytical methods for the determination of curcumin in biological and pharmaceutical matrices. *Crit Rev Anal Chem* 2019;49(2):138–49. DOI: 10.1080/10408347.2018.1489216.
- 157 Nachliely M, Trachtenberg A, Khalfin B, Nalbandyan K, Cohen-Lahav M, Yasuda K, Sakaki T, Kutner A, Danilenko M. Dimethyl fumarate and vitamin D derivatives cooperatively enhance VDR and Nrf2 signaling in differentiating AML cells in vitro and inhibit leukemia progression in a xenograft mouse model. *J Steroid*

Biochem Mol Biol. 2019 Apr;188:8-16. doi: 10.1016/j.jsbmb.2018.11.017. Epub 2018 Nov 30. PMID: 30508646.

158 Zhamanbayeva GT, Aralbayeva AN, Murzakhmetova MK, Tuleukhanov ST, Danilenko M. Cooperative antiproliferative and differentiation-enhancing activity of medicinal plant extracts in acute myeloid leukemia cells. Biomed Pharmacother. 2016 Aug;82:80-9. doi: 10.1016/j.biopha.2016.04.062. Epub 2016 May 7. PMID: 27470342.

159 A.K. Burnett, N.H. Russell, R.K. Hills, A.E. Hunter, L. Kjeldsen, J. Yin, B.E. Gibson, K. Wheatley, D. Milligan. Optimization of chemotherapy for younger patients with acute myeloid leukemia: results of the medical research council AML15 trial. J. Clin. Oncol., 31 (2013), pp. 3360-3368

160 R.B. Walter, E.H. Estey. Management of older or unfit patients with acute myeloid leukemia. Leukemia, 29 (2015), pp. 770-775

161 H.P. Erba. Finding the optimal combination therapy for the treatment of newly diagnosed AML in older patients unfit for intensive therapy. Leuk. Res., 39 (2015), pp. 183-191

162 J.E. Lancet. New agents: great expectations not realized. Best Pract. Res. Clin. Haematol., 26 (2013), pp. 269-274

163 G.P. Studzinski, J.S. Harrison, X. Wang, S. Sarkar, V. Kalia, M. Danilenko. Vitamin D control of hematopoietic cell differentiation and leukemia. J. Cell. Biochem., 116 (2015), pp. 1500-1512.

164 H. Cao, Y. Xu, R. de Necochea-Campion, D.J. Baylink, K.J. Payne, X. Tang, C. Ratanatharathorn, Y. Ji, S. Mirshahidi, C.S. Chen. Application of vitamin D and vitamin D analogs in acute myelogenous leukemia. Exp. Hematol., 50 (2017), pp. 1-12

165 S. Christakos, P. Dhawan, A. Verstuyf, L. Verlinden, G. Carmeliet. Vitamin d: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. Physiol. Rev., 96 (2016), pp. 365-408

166 Danilenko M., Studzinski G.P. Enhancement by other compounds of the anti- cancer activity of vitamin D3 and its analogs //Exp Cell Res.- 2004.-V. 298. – P. 339- 358.

167 Ostrem VK, Lau WF, Lee SH, Perlman K, Prah J, Schnoes HK, DeLuca HF. Induction of monocytic differentiation of HL-60 cells by 1,25-dihydroxyvitamin D analogs. J Biol Chem. 1987 Oct 15;262(29):14164-71. PMID: 3477545.

168 Danilenko M., Wang X., Studzinski G. P. Carnosic acid and promotion of monocytic differentiation of HL60-G cells initiated by other agents //Journal of the National Cancer Institute. – 2001.- V. 93. -№16. - P. 1224–1233

169 Steiner M., Priel I., Giat J., Levy J., Sharoni Y., Danilenko M. Carnosic acid inhibits proliferation and augments differentiation of human leukemic cells induced by 1,25-dihydroxyvitamin D3 and retinoic acid //Nutrition and Cancer. – 2001.- V. 41. - №1-2. - P. 135

170 Bobilev I., Novik V., Levi I., Shpilberg O., Levy J, Sharoni Y., Studzinski G.P., Danilenko M. The Nrf2 transcription factor is a positive regulator of

myeloid differentiation of acute myeloid leukemia cells //Cancer Biology and Therapy. – 2011. - V. 11. - № 3. - P. 317–329

171 Thompson T, Danilenko M., Vassilev L., Studzinski G. P. Tumor suppressor p53 status does not determine the differentiation- associated G 1 cell cycle arrest induced in leukemia cells by 1,25-dihydroxyvitamin D3 and antioxidants //Cancer Biology and Therapy. – 2010. - V. 10. - №4. - P. 344–350.

172 Sharabani H., Izumchenko E., Wang Q., Kreinin R., Steiner M., Barvish Z., Kafka M., Sharoni Y., Levy J., Uskokovic M., Studzinski G.P., Danilenko M. Cooperative antitumor effects of vitamin D3 derivatives and rosemary preparations in a mouse model of myeloid leukemia //International Journal of Cancer. - 2006. -V. 118. - №12. - P. 3012–3021.

173 J.A. Sokoloski, K. Shyam, A.C. Sartorelli. Induction of the differentiation of HL-60 promyelocytic leukemia cells by curcumin in combination with low levels of vitamin D3. *Oncol. Res.*, 9 (1997), pp. 31-39.

174 J.A. Sokoloski, R. Narayanan, A.C. Sartorelli. Enhancement by antisense oligonucleotides to NF- κ B of the differentiation of HL-60 promyelocytic leukemia cells induced by vitamin D3. *Cancer Lett.*, 125 (1998), pp. 157-164

175 Q. Wang, H. Salman, M. Danilenko, G.P. Studzinski. Cooperation between antioxidants and 1,25-dihydroxyvitamin D3 in induction of leukemia HL60 cell differentiation through the JNK/AP-1/Egr-1 pathway. *J. Cell. Physiol.*, 204 (2005), pp. 964-974

176 Avtanski D, Poretsky L. Phyto-polyphenols as potential inhibitors of breast cancer metastasis. *Mol Med.* 2018 Jun 5;24(1):29. doi: 10.1186/s10020-018-0032-7. PMID: 30134816; PMCID: PMC6016885.

177 Borges GA, Elias ST, Amorim B, de Lima CL, Coletta RD, Castilho RM, Squarize CH, Guerra ENS. Curcumin downregulates the PI3K-AKT-mTOR pathway and inhibits growth and progression in head and neck cancer cells. *Phytother Res.* 2020 Dec;34(12):3311-3324. doi: 10.1002/ptr.6780. Epub 2020 Jul 6. PMID: 32628350.

178 Petiti J, Rosso V, Lo Iacono M, Panuzzo C, Calabrese C, Signorino E, Pironi L, Cartellà A, Bracco E, Pergolizzi B, Beltramo T, Fava C, Cilloni D. Curcumin induces apoptosis in JAK2-mutated cells by the inhibition of JAK2/STAT and mTORC1 pathways. *J Cell Mol Med.* 2019 Jun;23(6):4349-4357. doi: 10.1111/jcmm.14326. Epub 2019 Apr 29. PMID: 31033209; PMCID: PMC6533565.

179 Mahmoud N, Saeed MEM, Sugimoto Y, Klinger A, Fleischer E, Efferth T. Putative molecular determinants mediating sensitivity or resistance towards carnosic acid tumor cell responses. *Phytomedicine.* 2020 Oct;77:153271. doi: 10.1016/j.phymed.2020.153271. Epub 2020 Jun 29. PMID: 32659679.

180 López-Jiménez A, García-Caballero M, Medina MÁ, Quesada AR. Anti-angiogenic properties of carnosol and carnosic acid, two major dietary compounds from rosemary. *Eur J Nutr.* 2013 Feb;52(1):85-95. doi: 10.1007/s00394-011-0289-x. Epub 2011 Dec 16. PMID: 22173778.

181 Kikuchi H, Yuan B, Yuhara E, Imai M, Furutani R, Fukushima S, Hazama S, Hirobe C, Ohyama K, Takagi N, Toyoda H. Involvement of histone H3

phosphorylation via the activation of p38 MAPK pathway and intracellular redox status in cytotoxicity of HL-60 cells induced by Vitex agnus-castus fruit extract. *Int J Oncol.* 2014 Aug;45(2):843-52. doi: 10.3892/ijo.2014.2454. Epub 2014 May 21. PMID: 24859772.

182 Yang CW, Chang CL, Lee HC, Chi CW, Pan JP, Yang WC. Curcumin induces the apoptosis of human monocytic leukemia THP-1 cells via the activation of JNK/ERK pathways. *BMC Complement Altern Med.* 2012 Mar 24;12:22. doi: 10.1186/1472-6882-12-22. PMID: 22443687; PMCID: PMC3342909.

183 Montané X, Kowalczyk O, Reig-Vano B, Bajek A, Roszkowski K, Tomczyk R, Pawliszak W, Giamberini M, Mocek-Plócinia A, Tylkowski B. Current Perspectives of the Applications of Polyphenols and Flavonoids in Cancer Therapy. *Molecules.* 2020 Jul 23;25(15):3342. doi: 10.3390/molecules25153342. PMID: 32717865; PMCID: PMC7435624.

184 Maiti P., Plemmons A., Dunbar G.L. Combination treatment of berberine and solid lipid curcumin particles increased cell death and inhibited PI3K/Akt/mTOR pathway of human cultured glioblastoma cells more effectively than did individual treatments. *PloS ONE.* 2019;14:e0225660. doi: 10.1371/journal.pone.0225660.

185 Hu W.H., Chan G.K., Duan R., Wang H.Y., Kong X.P., Dong T.T., Tsim K.W. Synergy of Ginkgetin and Resveratrol in Suppressing VEGF-Induced Angiogenesis: A Therapy in Treating Colorectal Cancer. *Cancers (Basel)* 2019;11:1828. doi: 10.3390/cancers11121828.

186 Bulut G., Atmaca H., Karaca B. Trastuzumab in combination with AT-101 induces cytotoxicity and apoptosis in Her2 positive breast cancer cells. *Future Oncol.* 2020;16:4485–4495. doi: 10.2217/fon-2019-0521.

187 Srivastava N.S., Srivastava R.A.K. Curcumin and quercetin synergistically inhibit cancer cell proliferation in multiple cancer cells and modulate Wnt/beta-catenin signaling and apoptotic pathways in A375 cells. *Phytomedicine.* 2019;52:117–128. doi: 10.1016/j.phymed.2018.09.224.

188 Santana-Galvez J., Villela-Castrejon J., Serna-Saldivar S.O., Cisneros-Zevallos L., Jacobo-Velazquez D.A. Synergistic Combinations of Curcumin, Sulforaphane, and Dihydrocaffeic Acid against Human Colon Cancer Cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21:3108. doi: 10.3390/ijms21093108

189 Liu Y., Chang R.L., Cui X.X., Newmark H.L., Conney A.H. Synergistic effects of curcumin on all-trans retinoic acid- and 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃-induced differentiation in human promyelocytic leukemia HL-60 cells. *Oncol. Res.* 1997;9:19–29.

190 Nachliely M., Sharony E., Kutner A., Danilenko M. Novel analogs of 1,25-dihydroxyvitamin D₂ combined with a plant polyphenol as highly efficient inducers of differentiation in human acute myeloid leukemia cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2015. doi: 10.1016/j.jsbmb.2015.09.014.

191 Wang X., Gocek E., Novik V., Harrison J.S., Danilenko M., Studzinski G.P. Inhibition of Cot1/Tlp2 oncogene in AML cells reduces ERK5 activation and up-regulates p27Kip1 concomitant with enhancement of differentiation and cell cycle

arrest induced by silibinin and 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Cell Cycle*. 2010;9:4542–4551. doi: 10.4161/cc.9.22.13790.

192 Pesakhov S., Nachliely M., Barvish Z., Aqaq N., Schwartzman B., Voronov E., Sharoni Y., Studzinski G.P., Fishman D., Danilenko M. Cancer-selective cytotoxic Ca^{2+} overload in acute myeloid leukemia cells and attenuation of disease progression in mice by synergistically acting polyphenols curcumin and carnosic acid. *Oncotarget*. 2016;7:31847–31861. doi: 10.18632/oncotarget.7240.

193 Pesakhov S., Khanin M., Studzinski G.P., Danilenko M. Distinct combinatorial effects of the plant polyphenols curcumin, carnosic acid, and silibinin on proliferation and apoptosis in acute myeloid leukemia cells. *Nutr. Cancer*. 2010;62:811–824. doi: 10.1080/01635581003693082.

194 Trachtenberg A, Sidoryk K, Alreate S, Muduli S, Leś A, Cybulski M, Danilenko M. Structure-Activity Relationship of Hydroxycinnamic Acid Derivatives for Cooperating with Carnosic Acid and Calcitriol in Acute Myeloid Leukemia Cells. *Biomedicines*. 2021 Oct 21;9(11):1517. doi: 10.3390/biomedicines9111517. PMID: 34829746; PMCID: PMC8615284.

195 Zhishen, J.; Mengcheng, T.; JiahMing, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*. 1999, 64, 555–559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2).

196 Celeste, M.; Tomas, C.; Cladera, A.; Estela, J.M.; Cerda, V. Thermometric titration of polyhydric phenols. Application to the determination of the tannin content of wines. *Analyst* 1993, 118, 895–898. <https://doi.org/10.1039/AN9931800895>.

197 Li, L.; Long, W.; Wan, X.; Ding, Q.; Zhang, F.; Wan, D. Studies on quantitative determination of total alkaloids and berberine in five origins of crude medicine “Sankezhen”. *J. Chromatogr. Sci.* 2015, 53, 307–311. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmu060>.

198 Chua, L.S.; Lau, C.H.; Chew, C.Y.; Dawood, D.A.S. Solvent Fractionation and Acetone Precipitation for Crude Saponins from *Eurycoma longifolia* Extract. *Molecules* 2019, 24, 1416. <https://doi.org/10.3390/molecules24071416>.

199 Li, R.; Xiang, C.; Ye, M.; Li, H.F.; Zhang, X.; Guo, D.A. Qualitative and quantitative analysis of curcuminoids in herbal medicines derived from *Curcuma* species. *Food Chem*. 2011, 126, 1890–1895. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.014>.

200 Egidijus Šimoliūnas, Ieva Rinkūnaitė, Živilė Bukelskienė, Virginija Bukelskienė. Bioavailability of Different Vitamin D Oral Supplements in Laboratory Animal Model. *Medicina* 2019, 55, 265; doi:10.3390/medicina55060265.

201 Uboh, F.E.; Ebong, P.E.; Umoh, I.B. Comparative hepatoprotective effect of vitamins A and E against gasoline vapor toxicity in male and female rats. *Gastroenterol. Res*. 2009, 2, 295–302. <https://doi.org/10.4021/gr2009.10.1318>.

202 Delwatta SL, Gunatilake M, Baumans V, Seneviratne MD, Dissanayaka MLB, Batagoda SS, Udagedara AH, Walpola PB. Reference values for selected hematological, biochemical and physiological parameters of Sprague-Dawley rats at

the Animal House, Faculty of Medicine, University of Colombo, Sri Lanka. *Animal Model Exp Med*. 2018 Nov 21;1(4):250-254. doi: 10.1002/ame2.12041. PMID: 30891574; PMCID: PMC6388088.

203 Bastie, Jean-Noël & Balitrand, Nicole & Guidez, Fabien & Guillemot, Isabelle & Larghero, Jérôme & Calabresse, Cynthia & Chomienne, Christine & Delva, Laurent. (2004). $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D₃ Transrepresses Retinoic Acid Transcriptional Activity via Vitamin D Receptor in Myeloid Cells. *Molecular endocrinology* (Baltimore, Md.). 18. 2685-99. 10.1210/me.2003-0412.

204 Gleba JJ, Kłopotowska D, Banach J, Mielko KA, Turlej E, Maciejewska M, Kutner A, Wietrzyk J. Micro-RNAs in Response to Active Forms of Vitamin D₃ in Human Leukemia and Lymphoma Cells. *Int J Mol Sci*. 2022 Apr 30;23(9):5019. doi: 10.3390/ijms23095019. PMID: 35563410; PMCID: PMC9104187.

205 Gao SM, Yang JJ, Chen CQ, Chen JJ, Ye LP, Wang LY, Wu JB, Xing CY, Yu K. Pure curcumin decreases the expression of WT1 by upregulation of miR-15a and miR-16-1 in leukemic cells. *J Exp Clin Cancer Res*. 2012 Mar 27;31(1):27. doi: 10.1186/1756-9966-31-27. PMID: 22449094; PMCID: PMC3325897.

206 Zhou, Y., Kong, Y., Jiang, M., Kuang, L., Wan, J., Liu, S., ... Zhang, Z. (2022). Curcumin activates NLRC4, AIM2, and IFI16 inflammasomes and induces pyroptosis by up-regulated ISG3 transcript factor in acute myeloid leukemia cell lines. *Cancer Biology & Therapy*, 23(1), 328–335. <https://doi.org/10.1080/15384047.2022.2058862>.

207 Zhang Y, Kong Y, Liu S, Zeng L, Wan L, Zhang Z. Curcumin induces apoptosis in human leukemic cell lines through an IFIT2-dependent pathway. *Cancer Biol Ther*. 2017 Jan 2;18(1):43-50. doi: 10.1080/15384047.2016.1276129. Epub 2017 Jan 10. PMID: 28071969; PMCID: PMC5323008.

208 Sokoloski JA, Shyam K, Sartorelli AC. Induction of the differentiation of HL-60 promyelocytic leukemia cells by curcumin in combination with low levels of vitamin D₃. *Oncol Res*. 1997;9(1):31-9. PMID: 9112258.

209 В.Н. Зиновьева, А.А. Спасов. Механизмы антиканцерогенных эффектов растительных полифенолов. Блокирование инициаций канцерогенеза. *Биомедицинская химия* 2012, том 58, вып. 2, с. 160-175.

210 Calero CI, Beltrán González AN, Gasulla J, Alvarez S, Evelson P, Calvo DJ. Quercetin antagonism of GABA_A α_1 receptors is prevented by ascorbic acid through a redox-independent mechanism. *Eur J Pharmacol*. 2013 Aug 15;714(1-3):274-80. doi: 10.1016/j.ejphar.2013.07.044. Epub 2013 Jul 31. PMID: 23916728.

211 Farhan H, Wähälä K, Cross HS. Genistein inhibits vitamin D hydroxylases CYP24 and CYP27B1 expression in prostate cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2003 Mar;84(4):423-9. doi: 10.1016/s0960-0760(03)00063-3. PMID: 12732287.

212 Grover, M.; Behl, T.; Sehgal, A.; Singh, S.; Sharma, N.; Virmani, T.; Rachamalla, M.; Farasani, A.; Chigurupati, S.; Alsubayiel, A.M.; et al. In Vitro Phytochemical Screening, Cytotoxicity Studies of Curcuma longa Extracts with Isolation and Characterisation of Their Isolated Compounds. *Molecules* 2021, 26, 7509. <https://doi.org/10.3390/molecules26247509>.

- 213 Sharma, M.; Monika; Thakur, P.; Saini, R.V.; Kumar, R.; Torino, E. Unveiling antimicrobial and anticancerous behavior of AuNPs and AgNPs moderated by rhizome extracts of *Curcuma longa* from diverse altitudes of Himalaya. *Sci. Rep.* 2020, 10, 10934. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67673-4>.
- 214 Okiki, Abimbola & Muhammad, Abdallah & OgunMefun, Olayinka. (2019). Anti-inflammatory actions and *Salmonella typhimurium*-bacteraemia clearance by methanol extract of *Curcuma longa* Linn. (Turmeric). *Malaysian Journal of Microbiology*. 51. 24-33. 10.21161/mjm.112417.
- 215 Yessimsiitova Z.B., Yestemirova G.A., Kozhamzharova A., Tleubekkyzy P., Ziyayeva G., Tuleubayev Zh., Aitugan A. T. Structural and functional changes in the lung of rats after poisoning with toxic substances. *Фармация Казахстана*, №6, 2022, 179-182
- 216 Yestemirova G.A., Z.B. Yessimsiitova, Botabayeva Zh.M., Yeszhan M.B., Tleubekkyzy P. Morphological changes in kidney of rats during intoxication with gasoline. *Астана Медициналық журналы*, №2, 2021, 131-137
- 217 Естемірова Г.Ә. Егеуқұйрықтардың интоксикациясы кезінде «*Curcuma longa*»-ның көрсететін әсері. «Фараби Әлемі» атты студенттер мен жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференция Материалдары. Алматы, Қазақстан, 6-8 сәуір 2021. 43
- 218 Horev, L.; Ramot, Y.; Klapholz, L. Yellow feet in a patient with breast and thyroid carcinoma, due to oral intake of turmeric. *Drug Saf. Case Rep.* 2015, 2, 4. <https://doi.org/10.1007/s40800-015-0006-4>.
- 219 Nm, J.; Joseph, A.; Maliakel, B.; Im, K. Dietary addition of a standardized extract of turmeric (TurmaFEEDTM) improves growth performance and carcass quality of broilers. *J. Anim. Sci. Technol.* 2018, 60, 8. <https://doi.org/10.1186/s40781-018-0167-7>.
- 220 Yestemirova, G.A.; Yessimsiitova, Z.B.; Danilenko, M. Protective Effects of Dietary Vitamin D3, Turmeric Powder, and Their Combination against Gasoline Intoxication in Rats. *Pharmaceuticals* 2024, 17, 619. <https://doi.org/10.3390/ph17050619>

ҚОСЫМША А

Жергілікті этикалық комиссиясының отырысының хаттама көшірмесі

КАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ ҒЫЛЫМ КОМИТЕТІНІҢ «ГЕНЕТИКА ЖӘНЕ ФИЗИОЛОГИЯ ИНСТИТУТЫ» ШЖҚ РМҚ		РГП на ПХВ «ИНСТИТУТ ГЕНЕТИКИ И ФИЗИОЛОГИИ» КОМИТЕТА НАУКИ МИНИСТЕРСТВА ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
050060, Алматы қ., аял-Фараби, 93 Телефон/Факс: 8 (727) 269-45-87 Web: www.igge.kz E-mail: igge@mail.ru		050060, г. Алматы, пр. аль-Фараби, 93 Телефон/Факс: 8 (727) 269-45-87 Web: www.igge.kz E-mail: igge@mail.ru

03.02.2023 № 12-28

ВЫПИСКА
из Протокола № 1
заседания Локальной Этической Комиссии
РГП на ПХВ «Институт генетики и физиологии»

г.Алматы 25 января 2023

Присутствовали: Демченко Г.А. - Председатель, д.м.н., заведующий лабораторией Физиологии лимфатической системы «ИГФ»; Перфильева А.В. - Заместитель председателя, к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики «ИГФ»; Тойшибеков Е.М. - д.б.н., директор ТОО «Институт экспериментальной биологии им. Ф.М. Мухамедгалиева»; Яценко Р.В. - д.б.н., генеральный директор «Институт зоологии»; Джангазина Э.Д. - к.б.н., ученый секретарь ИГФ; Кулманов Т.Е. - к.м.н., заведующий лабораторией фармакологических исследований «ИГФ»; Бекманов Б.О. - к.б.н., заместитель директора по науке ИГФ; Чередищенко О.Г. - к.б.н., заведующая лабораторией генетического мониторинга ИГФ; Крупа Е.Г. - д.б.н., завлабораторией гидробиологии и экотоксикологии Института зоологии КН МОН РК; Нурбаева Т.Ю. - к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии КазНМУ им. Асфендиярова; Асанова Е.А. - к.м.н., ТОО Клиника «AMD», ТОО «Институт экспериментальной биологии им. Ф.М.Мухамедгалиева»; Байжанова А.Б. - руководитель отдела кадров Института генетики и физиологии КН МОН РК; Аширбеков Е.Е. - младший научный сотрудник лаборатории структурной и функциональной геномики РГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А.Айтхожина»; Калиева А.М. - и.о.ученого секретаря РГП на ПХВ «Институт молекулярной биологии и биохимии им.М.А. Айтхожина», к.б.н. Кабышева Н.П. – секретарь ЛЭК.

ПОВЕСТКА ДНЯ:

Рассмотрение материалов докторской диссертации по теме «Антилейкемическая активность новых цитотоксических и дифференцирующих комбинаций биоактивных природных веществ», докторанта Естеміровой Гүлфиры Әбдіқайымқызы. Казахский Национальный Университет им. аль-Фараби, кафедра биоразнообразия и биоресурсов факультета биологии и биотехнологии.

Перечень документов, представленных на экспертизу: Заявление Председателю ЛЭК; Аннотация НИР; Заявка с протоколом планируемых экспериментов; Гарантийное обязательство.

Постановили: Локальная этическая комиссия РГП на ПХВ «Институт генетики и физиологии», в соответствии с заключениями экспертов, одобряет исследования по теме

000714

(Акт. РГП «Институт генетики и физиологии» от 25.01.2023 г. № 12-28)

Сурет А.1 – РГП «Адам және жануарлар физиологиясы институты» (Алматы, Қазақстан) КҒМ Жергілікті этикалық комиссиясымен бекітілген хаттама көшірмесі (№ 12-28, 2023 жылғы 3 ақпан)

«Антилейкемическая активность новых цитотоксических и дифференцирующих комбинаций биоактивных природных веществ» докторанта Естеміровой Гүлфиры Әбдікайымқызы.

Решение ЛЭК: Одобрить исследование докторанта Естеміровой Гүлфиры Әбдікайымқызы по теме «Антилейкемическая активность новых цитотоксических и дифференцирующих комбинаций биоактивных природных веществ». Казахский Национальный Университет им. аль-Фараби, кафедра биоразнообразия и биоресурсов факультета биологии и биотехнологии.

Председатель Локальной Этической Комиссии
Зав.лаб.лимфатической системы РГП «ИГФ»,
доктор мед.наук

Демченко Г.А.

Секретарь Локальной Этической Комиссии
канд.биол.наук

Кабышева Н.П.



Сурет А.2 – жалғасы, РГП «Адам және жануарлар физиологиясы институты» (Алматы, Қазақстан) КҒМ Жергілікті этикалық комиссиясымен бекітілген хаттама көшірмесі (№ 12-28, 2023 жылғы 3 ақпан)