

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

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ҰЛТТЫҚ ҒЫЛЫМ АКАДЕМИЯСЫНЫҢ
Өсімдіктердің биологиясы және биотехнологиясы институтының

Х А Б А Р Л А Р Ы

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
Института биологии и биотехнологии растений

NEWS

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

**БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ МЕДИЦИНА
СЕРИЯСЫ**



СЕРИЯ

БИОЛОГИЧЕСКАЯ И МЕДИЦИНСКАЯ



SERIES

OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

5 (323)

**ҚЫРҚҮЙЕК – ҚАЗАН 2017 ж.
СЕНТЯБРЬ – ОКТЯБРЬ 2017 г.
SEPTEMBER – OCTOBER 2017**

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

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

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

Б а с р е д а к т о р

ҚР ҰҒА академигі, м. ғ. д., проф. **Ж. А. Арзықұлов**

Абжанов Архат проф. (Бостон, АҚШ),
Абелев С.К., проф. (Мәскеу, Ресей),
Айтқожина Н.А., проф., академик (Қазақстан)
Ақшулақов С.К., проф., академик (Қазақстан)
Алшынбаев М.К., проф., академик (Қазақстан)
Бәтпенев Н.Д., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Березин В.Э., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Берсімбаев Р.И., проф., академик (Қазақстан)
Беркінбаев С.Ф., проф., (Қазақстан)
Бисенбаев А.К., проф., академик (Қазақстан)
Бишимбаева Н.К., проф., академик (Қазақстан)
Ботабекова Т.К., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Bosch Ernesto prof. (Spain)
Жансүгірова Л.Б., б.ғ.к., проф. (Қазақстан)
Елленbogen Adrian prof. (Tel-Aviv, Israel),
Жамбакин Қ.Ж., проф., академик (Қазақстан), бас ред. орынбасары
Заядан Б.К., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Ishchenko Alexander prof. (Villejuif, France)
Исаева Р.Б., проф., (Қазақстан)
Қайдарова Д.Р., проф., академик (Қазақстан)
Кохметова А.М., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Күзденбаева Р.С., проф., академик (Қазақстан)
Лось Д.А., prof. (Мәскеу, Ресей)
Lunenfeld Bruno prof. (Израиль)
Макашев Е.К., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Муминов Т.А., проф., академик (Қазақстан)
Огарь Н.П., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Омаров Р.Т., б.ғ.к., проф., (Қазақстан)
Продеус А.П. проф. (Ресей)
Purton Saul prof. (London, UK)
Рахыпбеков Т.К., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Сапарбаев Мұрат проф. (Париж, Франция)
Сарбасов Дос проф. (Хьюстон, АҚШ)
Тұрысбеков Е.К., б.ғ.к., асс.проф. (Қазақстан)
Шарманов А.Т., проф. (АҚШ)

«ҚР ҰҒА Хабарлары. Биология және медициналық сериясы».

ISSN 2518-1629 (Online),

ISSN 2224-5308 (Print)

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

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

Мерзімділігі: жылына 6 рет.

Тиражы: 300 дана.

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

© Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы, 2017

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

Г л а в н ы й р е д а к т о р

академик НАН РК, д.м.н., проф. **Ж. А. Арзыкулов**

Абжанов Архат проф. (Бостон, США),
Абелев С.К. проф. (Москва, Россия),
Айтхожина Н.А. проф., академик (Казахстан)
Акшулаков С.К. проф., академик (Казахстан)
Алчинбаев М.К. проф., академик (Казахстан)
Батпенов Н.Д. проф. член-корр.НАН РК (Казахстан)
Березин В.Э., проф., чл.-корр. (Казахстан)
Берсимбаев Р.И., проф., академик (Казахстан)
Беркинбаев С.Ф. проф. (Казахстан)
Бисенбаев А.К. проф., академик (Казахстан)
Бишимбаева Н.К. проф., академик (Казахстан)
Ботабекова Т.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Bosch Ernesto prof. (Spain)
Джансугурова Л. Б. к.б.н., проф. (Казахстан)
Ellenbogen Adrian prof. (Tel-Aviv, Israel),
Жамбакин К.Ж. проф., академик (Казахстан), зам. гл. ред.
Заядан Б.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Ishchenko Alexander, prof. (Villejuif, France)
Исаева Р.Б. проф. (Казахстан)
Кайдарова Д.Р. проф., академик (Казахстан)
Кохметова А.М. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Кузденбаева Р.С. проф., академик (Казахстан)
Лось Д.А. prof. (Москва, Россия)
Lunenfeld Bruno prof. (Израиль)
Макашев Е.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Муминов Т.А. проф., академик (Казахстан)
Огарь Н.П. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Омаров Р.Т. к.б.н., проф. (Казахстан)
Продеус А.П. проф. (Россия)
Purton Saul prof. (London, UK)
Рахыпбеков Т.К. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Сапарбаев Мурат проф. (Париж, Франция)
Сарбасов Дос проф. (Хьюстон, США)
Турсыбеков Е. К., к.б.н., асс.проф. (Казахстан)
Шарманов А.Т. проф. (США)

«Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская».

ISSN 2518-1629 (Online),

ISSN 2224-5308 (Print)

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

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

Периодичность: 6 раз в год

Тираж: 300 экземпляров

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

© Национальная академия наук Республики Казахстан, 2017

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

Editor in chief

Zh.A. Arzykulov, academician of NAS RK, Dr. med., prof.

Abzhanov Arkhat, prof. (Boston, USA),
Abelev S.K., prof. (Moscow, Russia),
Aitkhozhina N.A., prof., academician (Kazakhstan)
Akshulakov S.K., prof., academician (Kazakhstan)
Alchinbayev M.K., prof., academician (Kazakhstan)
Batpenov N.D., prof., corr. member (Kazakhstan)
Berezin V.Ye., prof., corr. member. (Kazakhstan)
Bersimbayev R.I., prof., academician (Kazakhstan)
Berkinbaev S.F., prof. (Kazakhstan)
Bisenbayev A.K., prof., academician (Kazakhstan)
Bishimbayeva N.K., prof., academician (Kazakhstan)
Botabekova T.K., prof., corr. member. (Kazakhstan)
Bosch Ernesto, prof. (Spain)
Dzhansugurova L.B., Cand. biol., prof. (Kazakhstan)
Ellenbogen Adrian, prof. (Tel-Aviv, Israel),
Zhambakin K.Zh., prof., academician (Kazakhstan), deputy editor-in-chief
Ishchenko Alexander, prof. (Villejuif, France)
Isayeva R.B., prof. (Kazakhstan)
Kaydarova D.R., prof., academician (Kazakhstan)
Kokhmetova A., prof., corr. member (Kazakhstan)
Kuzdenbayeva R.S., prof., academician (Kazakhstan)
Los D.A., prof. (Moscow, Russia)
Lunefeld Bruno, prof. (Israel)
Makashev E.K., prof., corr. member (Kazakhstan)
Muminov T.A., prof., academician (Kazakhstan)
Ogar N.P., prof., corr. member (Kazakhstan)
Omarov R.T., Cand. biol., prof. (Kazakhstan)
Prodeus A.P., prof. (Russia)
Purton Saul, prof. (London, UK)
Rakhypbekov T.K., prof., corr. member. (Kazakhstan)
Saparbayev Murat, prof. (Paris, France)
Sarbassov Dos, prof. (Houston, USA)
Turysbekov E.K., cand. biol., assoc. prof. (Kazakhstan)
Sharmanov A.T., prof. (USA)

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

ISSN 2518-1629 (Online),

ISSN 2224-5308 (Print)

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

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

Periodicity: 6 times a year

Circulation: 300 copies

Editorial address: 28, Shevchenko str., of. 219, 220, Almaty, 050010, tel. 272-13-19, 272-13-18,
<http://nauka-nanrk.kz> / biological-medical.kz

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

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

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 5, Number 323 (2017), 235 – 241

A. S. Mukhamejanova¹, G. A. Shalakhmetova², Z. Alikulov¹¹L. N. Gumilev Eurasian national university, Astana, Kazakhstan,²Al-Farabi Kazakh national university, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: zer-kaz@mail.ru

**IN VIVO INFLUENCE OF EXOGENOUS MOLYBDENUM
ON MILK AND LIVER XANTHINE OXIDASE ACTIVITY IN SHEEP**

Abstract. During the month three sheep groups were fed with the same feed, but first group drank with natural water, second – with Mo-containing and third – with W-containing water. At every four day intervals milking in fresh milk the associated activities of xanthine oxidase (XO) – oxidation of xanthine, reduction of nitrate and nitrite were determined. In the milk samples, collected from all groups these activities were not detected. However, heat treatment at 80°C of milk in the presence of exogenous Mo (molybdenum) and cysteine resulted in high associated activities of XO. Even in the absence of exogenous Mo in drinking water an active XO is formed in sheep liver. But the presence of Mo in drinking water only slightly increased an associated activities of liver enzyme. Wolfram containing (W) water led to the loss of all activities of liver XO. It is proposed that the liver contains a special protein involving in the incorporation of Mo (or W) into XO molecule, but in the milk or mammary gland this protein is not exists.

Key words: milk, xanthine oxidase, molybdenum, wolfram, nitrate, nitrite.

УДК 577.1

А. С. Мухамеджанова¹, Г. А. Шалахметова², З. Аликулов¹¹Евразийский национальный университет им. Л. Н. Гумилева, Астана, Казахстан,²Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан**ВЛИЯНИЕ IN VIVO ЭКЗОГЕННОГО МОЛИБДЕНА
НА АКТИВНОСТЬ КСАНТИНОКСИДАЗЫ МОЛОКА
И ПЕЧЕНИ ОВЦЫ**

Аннотация. Три группы овец в течение месяца кормили одинаковым кормом, но первую группу овец поили природной водой, вторую – четыре дня в свеженадоенном молоке определяли ассоциированные активности ксантин-оксидазы (КО): окисление ксантина, восстановление нитрата и нитрита. Во всех образцах молока, собранных у всех групп животных не обнаруживаются эти активности. Однако термообработка молока при 80°C в присутствии экзогенных молибдена (Мо) и цистеина приводит к появлению высоких активностей. А в печени овцы даже без экзогенного Мо в питьевой воде образуется активная КО. Присутствие Мо в питьевой воде только слегка повышало ассоциированные активности фермента печени. А вольфрамовая (W) вода приводила к полной потере всех активностей КО печени. Предполагается, что в печени содержится особый белок, включающий Мо (или W) в молекулу КО, а в молоке или молочной железе такого белка не существует.

Ключевые слова: молоко, ксантинооксидаза (КО), молибден (Мо), вольфрам (W), нитрат, нитрит.

Один из важных микроэлементов – молибден (Мо) в организме животных находится в различных концентрациях в зависимости от вида органа. Мо является необходимым кофактором молибденсодержащих ферментов у животных, таких как ксантинооксидаза, альдегидоксидаза, сульфитоксидаза и недавно открытый митохондриальный амидоксим-восстанавливающий (mARC) белок [1].

Еще в 1980 году нами было установлено, что гомогенная ксантинооксидаза, очищенная из коровьего молока, обладает активностью восстанавливать нитрат и нитрит (т.е. КО молока проявляет ассоциированные нитратредуктазную и нитритредуктазную активности) [2]. Наши предыдущие результаты, полученные из экспериментов по изучению ассоциированных активностей свежего овечьего, козьего, верблюжьего и кобыльего молока показали, что молоко этих животных не проявляли активность КО и ее нитрат- и нитритредуктазную активность. Однако, термообработка при 80°C молока этих животных в течение 5 минут в присутствии экзогенного молибдата натрия и тиолов (цистеина или глутатиона) приводила к появлению максимальных активностей КО [3]. Использование в этих условиях химического аналога молибдена – вольфрамата, не приводило к появлению этих активностей. Однако, в литературе сведений о влиянии экзогенного, добавленного в корм или питьевую воду Мо на активность КО молока почти отсутствуют.

Одним из способов изучения влияния экзогенного Мо на активность молибдоферментов *in vivo* является добавление соли этого металла в питьевую воду животных [4-6]. Установлено, что Мо, добавленный в питьевую воду был менее токсичным, чем в свежем растительном корме [7]. Содержание молибдена в печени, крови и коровьем молоке увеличивалось от 5 до 10 раз в зависимости от поглощенного молибдена [8]. Была изучена токсичная концентрация молибдена в виде молибдата аммония в питьевой воде пятидневных телят. Минимальные токсичные концентрации Мо в питьевой воде для телят была между 10 и 50 ppm. Когда овец кормили травой с добавлением молибдата натрия в течение 28 дней, концентрация Мо в печени увеличивалась быстрее, чем при кормлении овец молибден-содержащим кормом на 14-ый день [9].

Общеизвестно, что Мо является химическим аналогом В и в отсутствие последнего легко встраивается в активный центр молибдоферментов. Однако, вольфрам не способен переносить электроны между донорами и акцепторами в активном центре молибдоферментов и поэтому, вольфрамовые ферменты становятся каталитически неактивными. Молибден был заменен на 100 ppm вольфрамом в питьевой воде для крыс. Добавление в их питьевую воду в концентрациях от 1 до 100 ppm вольфрама, что приводило к пропорциональному уменьшению активности КО и сульфитооксидазы. Одновременное присутствие 1 ppm молибдена почти полностью предотвращает ингибирующее действие 100 ppm вольфрама [4].

Всасывание Мо в желудочно-кишечном тракте зависит от его химической природы. Водорастворимые молибдаты, тиомолибдаты и оксо-тиомолибдаты, а также растительный Мо желудочно-кишечным трактом ингибируется сульфатом, возможно, из-за конкуренции за общий белок-переносчик. Мо и его соединения, поглощенные через желудочно-кишечный тракт и легкие, временно удерживаются в этих тканях, затем полностью выводятся в форме молибдатов, в основном с мочой. Биологический период нахождения Мо в организме животных составляет часы, а у человека – недели. Мо также может накапливаться в молоке [10]. В то же время, относительно высокие концентрации этого металла вызывают различные заболевания у животных. Это связано с тем, что высокие концентрации Мо ингибируют поглощение биологически важных элементов – фосфора и серы. С медью Мо образует нерастворимые в воде соединения, что приводит к дефициту этого металла. Анализ многочисленных исследований показывает, что концентрация молибдата менее чем 300 мкг в литре питьевой воды, не вызывают токсичные эффекты у домашних животных [10, 11].

С другой стороны, многочисленные исследования показывают, что КО печени животных проявляет высокую активность *in vitro* без экзогенного молибдата, по сравнению с молоком животных [1, 4]. Поэтому, задачей настоящей работы явилось сравнительное изучение эффекта экзогенного, добавленного в питьевую воду молибдена на ассоциированные активности ксантинооксидазы печени и молока овцы. *In vivo* и *in vitro* активация КО молока может иметь важное значение в детоксикации этого продукта от нитратов и нитритов, превращая их в физиологически важный оксид азота.

Материалы и методы

Эксперименты для изучения эффекта экзогенного молибдена или вольфрама проводились в крестьянском хозяйстве «Кастекбай-Кажы», Алматинской области Панфиловского района. Для экспериментов использовали шесть лактирующих овец с 20-го мая до 20-го июня 2016 года. Живой

вес животных в начале экспериментов составлял 40-45 кг. Животных кормили свежескошенными растениями. В экспериментах для изучения эффекта экзогенного молибдена в питьевую воду животных добавляли в расчете 10 мг молибдатов аммония на кг веса животных. Животных поили водой с молибденом (около 3 литров) после кормления днем и вторую порцию воды без молибдена, животные получали вечером. Вторую пару животных кормили точно также, но поили один раз в день вольфрамовой водой – один литр такой воды содержала 100 мг вольфрамата натрия. Контрольных животных ежедневно кормили свежей травой и поили природной водой без добавления молибдена или вольфрама. Овец доили один раз в день – вечером, через каждые четыре дня, 100 мл порции свежего молока были сразу заморожены при температуре -20°C . Таким образом, были заморожены 18 образцов каждой пары овец (от шести животных были получены 5.4 литра). Кроме того, в свежем молоке непосредственно определены все ассоциированные активности КО.

Параллельный эксперимент проводился для изучения влияния Мо или W добавленного в питьевую воду на активность КО печени овцы. Поскольку забой шестерых нелактующих животных планировался заблаговременно, одну пару животных держали в качестве контроля, т.е. их в течение 30 дней до забоя кормили, свежескошенной травой в определенном месте поля и поили природной водой. Вторая пара животных получала такой же растительный корм и поили той же водой, но содержащую 10 мг/мл молибдатов аммония. Третья пара вместо молибдена получала в 10 раз большую концентрацию вольфрама по сравнению с молибденом в виде 100 мг/мл вольфрамата натрия (известно, что, самая малая концентрация Мо в воде может препятствовать включению W в ксантиноксидазу, и поэтому, W дается в большей концентрации). Кусочки печени по 100 г свежескошенного животного, также замораживали при -20°C температуре. Через 30 дней замороженные образцы молока оттаивали и в них одновременно определялись ксантиноксидазная (КО), нитратредуктазная (НаР) и нитритредуктазная (НиР) активности. Все образцы молока содержали около 6,5% жира и 5,5% белка. Образцы печени оттаивали, мелко нарезанные кусочки смешивали в соотношении 1:5 с холодным 0,1 М натрий-фосфатным буфером, содержащим 10 мкМ ЭДТА и 10 мкМ фенолметилсульфонилфторид (ингибитор протеаз). Супернатант получали центрифугированием гомогената печени при 15 000 г в течение 20 минут.

Перед термообработкой, в молоко добавляли в конечных концентрациях 100 мМ раствора натрий-фосфатного буфера ($\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$), pH буфера составляла 6,5; 10 мкМ раствор ЭДТА, 2 мМ растворы Na_2MoO_4 или Na_2WO_4 и 2 мМ раствор цистеина. А в супернатант печени добавляли такие же концентрации растворов молибдатов или вольфрамата натрия и цистеина. Затем молоко и супернатант печени прогревали при температуре 80°C в течение 5 минут. После охлаждения для определения ферментативных активностей использовали 100 мкл аликвоты молока и супернатанта печени. Определение каждой активности проводили в трех повторностях.

Определение ассоциированных активностей ксантиноксидазы молока. Определение ассоциированных активностей КО - нитратредуктазной активности (НаР) и нитритредуктазной (НиР) проводили согласно, Аликулов З.А. и др. [2]

Для определения активности КО вместо нитрата (или нитрита) и бензилвиологена добавляли 0,1 мл раствора оксалата калия, 0,1 мл 10 мМ раствора гипоксантина. После инкубации 15 мин при 37°C во все пробирки добавляли 60 мкл 20% раствора трихлоруксусной кислоты, перемешивали и центрифугировали при 10000g 10 минут. Количество образовавшейся мочевой кислоты измеряли при длине волны 295 нм.

Определение количества свободного молибдена в молоке. Многочисленные эксперименты, проведенные нами до настоящего времени показали, что Мо слабо связан с молибдокофактором (Мосо) в активном центре вышесказанных ферментов (Мосо имеет птериновую природу и, поэтому называют молибдоптерином – МПТ) [12]. Например, термообработка молибдофермента приводит к отделению Мо от МПТ и от апобелкамолибдофермента. Поэтому, для активации МПТ (или связывания его с Мо) необходима высокая концентрация экзогенного Мо. Более того, несмотря на высокие концентрации, Мо не связывается с МПТ – они связываются друг с другом только в присутствии апобелковмолибдоферментов.

Наши ранние результаты показали также, что Мо-МПТ комплекс вне апобелка образуется в сильно восстановленных условиях (например, в присутствии дитионита) [2]. Поэтому, для определения общего количества Мо достаточно термообработки молибдоферментов. Определение

общего количества Мо проводили с использованием метода, разработанного нами, согласно Дюсембаев К. и др.[13].

Результаты и их обсуждение

Определение ассоциированных активностей ксантинооксидазы в свежем молоке и после хранения при -20°C показали, что при хранении молока в замороженном виде эти активности сохраняются. Как видно из таблицы 1, в свежем овечьем молоке, надоенных в течение месяца почти не обнаруживаются все ассоциированные активности КО. Однако после термообработки молока при 80°C (в таблицах вариант +Мо+t^o) в течение 5 минут в присутствии экзогенного молибдена и цистеина появляются все ассоциированные активности этого фермента (таблица 1). Отсутствие цистеина при термообработке не приводило к появлению этих активностей (не показано).

Таблица 1 – Динамика изменения ассоциированных активностей ксантинооксидазы овечьего молока в течение месяца

Дни	Ассоциированные активности					
	Ксантинооксидаза		NO ₃ -редуктаза		NO ₂ -редуктаза	
	К+Мо	+Мо+t ^o	К+Мо	+Мо+t ^o	К+Мо	+Мо+t ^o
0	>0.2	~3.2	~1.4	136.8±13.7	~2.3	243.7±28.3
4	>0.2	~3.2	~1.4	136.7±20.1	~2.3	243.7±24.9
8	>0.2	~3.0	~1.4	136.3±18.6	~2.2	243.1±19.8
12	>0.2	~2.8	~1.3	132.6±12.3	~2.0	240.2±22.3
16	>0.2	~2.8	~1.3	132.5±14.8	~1.8	240.2±27.6
20	>0.2	~2.8	~1.2	130.7±21.6	~1.8	238.3±21.4
24	>0.2	~2.6	~1.1	128.8±23.5	~1.8	236.4±18.7
28	>0.2	~2.6	~1.1	128.6±18.9	~1.7	236.4±21.8
32	>0.2	~2.6	~1.0	128.4±10.3	~1.7	236.2±22.4

КО – активность в наномолях мочевой кислоты/100 мкл молока/мин; НаР и НиР активности в наномолях NO₂/100 мкл молока/мин.

Результаты, представленные в таблице показывают, что ассоциированные активности КО до 10-го дня в молоке сначала незначительно повышается, а затем снижается (таблицы 1–3). Есть предположение о том, что относительно высокая активность КО в начале лактации связана с антипатогенным свойством этого фермента. Однако наши результаты показывают, что КО молока не содержит молибден и неактивен. Возможно и другое объяснение в том, что супероксид-продуцирующий центр не содержит молибден, а содержит ФАД [14, 15]. Полученные результаты показывают, что в свежем молоке овцы КО не содержит молибдена. По видимому, КО находящиеся во внутренней мембране мицелл жировых глобул (ММЖГ) недоступна для экзогенного молибдена. При термообработке при 80°C разрушается ММЖГ, а молекула КО денатурируется, и в результате доступ молибдена к МПТ-содержащему активному повышается. Наши и другие многочисленные исследования показали, что МПТ крайне чувствителен к кислороду. Поэтому, присутствие антиоксиданта – цистеина защищает сульфгидрильные группы МПТ от кислорода. По-видимому, цистеин образуя временные дисульфидные связи с МПТ защищает его от окисления. Затем из активного МПТ в экзогенный молибден легко вытесняется цистеин и связывается с ним в активном центре КО.

Овцы, получавшие молибденсодержащую воду в течение месяца, аккумулировали молибден в молоке, концентрация которого достигала максимума (51 нанограмм/мл) на 20-ый день, и такое количество молибдена в молоке не приводило к появлению всех ассоциированных активностей КО после термообработки в присутствии цистеина (но, без экзогенного молибдена). И в этом случае только экзогенный молибден активировал активности КО после термообработки в присутствии цистеина (таблица 2). Можно предположить, что до встраивания молибдена в активный центр (или

до связывания с МПТ в активном центре) вновь синтезированные молекулы КО вовлекаются в образование внутренней мембраны МЖГ, а КО, находящиеся во внутренней ММЖГ, становятся уже недоступной для молибдена *in vivo*. Таким образом, активная КО включается во внутреннюю мембрану МЖГ независимо от присутствия молибдена в молоке.

Таблица 2 – Влияние экзогенного Мо на динамику изменения ассоциированных активностей ксантинооксидазы овечьего молока (содержание молибдена в молоке в нанограммах в миллилитре)

Дни	Ассоциированные активности						Мо
	Ксантинооксидаза		NO ₃ -редуктаза		NO ₂ -редуктаза		
	К+Мо	+Мо+t°	К+Мо	+Мо+t°	К+Мо	+Мо+t°	
0	>0.2	3.2±0.4	~1.4	136.8±24.6	~2.3	43.7±41.6	>2
4	>0.2	3.2±0.3	~1.4	136.8±22.4	~2.3	243.7±42.3	>2
8	~0.3	3.2±0.4	~1.5	142.7±28.6	~2.5	249.7±43.7	12.6±2.1
12	~0.4	3.4±0.5	~1.5	149.8±19.4	~2.6	249.5±51.6	42.7±7.2
16	~0.4	3.4±0.4	~1.6	152.9±12.6	~2.5	252.3±32.4	48.5±6.3
20	~0.4	3.2±0.5	~1.5	150.7±13.2	~2.5	252.2±28.6	51.3±8.4
24	~0.4	3.2±0.3	~1.4	148.9±24.3	~2.4	248.5±35.4	51.3±7.8
28	~0.4	3.0±0.3	~1.4	148.6±13.8	~2.3	246.7±28.3	51.4±9.4
32	~0.4	2.9±0.4	~1.3	148.3±12.8	~2.2	246.8±32.6	51.5±11.3

Включается ли химический аналог молибдена – вольфрам, содержащийся в питьевой воде, в молекулы КО – остается неясным (прямое определение вольфрама в жировых глобулах не проводилось). Тем не менее, при термообработке овечьего молока в присутствии молибдата и цистеина КО активировалась и показала высокие ассоциированные активности (таблица 3), сравнимые с вариантом молибден-содержащей водой. Таким образом, для синтезов КО в молоке и ее включения в ММЖГ совершенно не требуется присутствие молибдена или химического аналога – вольфрама.

Таблица 3 – Влияние вольфрама на динамику изменения ассоциированных активностей ксантинооксидазы овечьего молока

Дни	Ассоциированные активности					
	Ксантинооксидаза		NO ₃ -редуктаза		NO ₂ -редуктаза	
	К+Мо	+Мо+t°	К+Мо	+Мо+t°	К+Мо	+Мо+t°
0	0.0	3.2±0.4	0.0	136.7±21.6	0.0	243.6± 23.6
4	0.0	3.2±0.3	0.0	136.8±22.2	0.0	243.5± 20.3
8	0.0	3.1±0.4	0.0	135.5±24.7	0.0	242.3± 22.3
12	0.0	3.1±0.5	0.0	135.5±19.1	0.0	240.4±28.2
16	0.0	2.9±0.4	0.0	134.7±15.8	0.0	239.3±31.4
20	0.0	2.9±0.5	0.0	134.6±21.6	0.0	238.7±27.5
24	0.0	2.8±0.4	0.0	131.6±15.2	0.0	237.5±26.3
28	0.0	2.8±0.4	0.0	130.4±17.3	0.0	237.8±23.2
32	0.0	2.7±0.4	0.0	129.3±20.3	0.0	236.6±21.9

Следующие одновозрастные шесть нелактирующие овца (самки) разделили точно также на три пары. Поскольку забой шестерых животных планировался заблаговременно, одну пару животных держали в качестве контроля, т.е. их в течение 30 дней до забоя кормили зеленой травой, свежескошенной в определенном месте поля, поили природной водой. Вторая пара животных ежедневно получала такой же растительный корми поили такой же водой, но содержащей молибдатоммония. Третья пара вместо молибдена получала вольфрам в виде вольфрамата натрия

(содержание молибдатаи вольфрамата в питьевой воде было такое же как в предыдущем эксперименте). В свежем экстракте печени были определены ассоциированные активности КО. Результаты этого эксперимента представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Влияние молибдена и вольфрама на ассоциированные активности ксантинооксидазы печени

Варианты	Ассоциированные активности					
	Ксантинооксидаза		NO ₃ -редуктаза		NO ₂ -редуктаза	
	К	+М	К	+Мо	К	+Мо
Контроль	2.9±0.3	3.5±0.4	118.7±4.6	132.7±18.6	197.6±25.9	218.6±23.6
Молибден	3.2±0.3	3.3±0.4	130.9±6.3	132.9±21.6	217.6± 2.3	219.6±20.3
Вольфрам	0.0	3.1±0.2	0.0	128.9± 5.4	0.0	216.3±24.2

Полученные результаты показывают, что в природной питьевой воде содержится достаточное количество для нормальной активности КО в печени. Повышение содержания молибдена в питьевой воде только слегка повышало ассоциированные активности КО печени. Как видно из таблицы 4, КО печени показывает высокие ассоциированные активности без термообработки, а прогревание при 80°C в присутствии молибдата и цистеина только слегка повышало эти активности КО печени овцы. По-видимому, это скорее всего является нефизиологическим эффектом «действия массы» молибдена *in vivo*. А постоянное присутствие вольфрама в течение месяца в питьевой воде приводит к инактивации КО печени и ее ассоциированных активностей, т.е. образуется неактивные молекулы этого фермента. При относительно низких концентрациях молибдена в тканях печени определенный белок включает этот металл в молибдоптерин (молибдокофактор). Например, бактериальный MogA (или животный белок – гефирин) белок проявляет сродство к молибдоптерину и предполагается, что действует как молибдохелатаза, которая включает молибден в молекулу молибдокофактора [16, 17]. А при высокой концентрации вольфрама этот белок таким же образом включает этот металл в молекулу ксантинооксидазы. По-видимому, в молоке или в молочной железе отсутствует этот белок.

Работа выполнена в рамках проекта №1253/ГФ4: «Изучение стимуляции ксантинооксидазы для превращения токсичных нитратов и нитритов в полезный оксид азота в парном верблюжьем, кобыльем и козьем молоке».

REFERENCES

- [1] Hille Russ, Nishino Takeshi, Bittner Florian. Molybdenum enzymes in higher organisms. *Coord Chem Rev.* **2011**, 255, 1179-1205.
- [2] Alikulov Z.A., Lyvov N.P., Kretovich V.L. Nitrat- and nitritreductaznaya activity of milkxantinoxidase. *Biochemistry.* **1980**, v. 45 N 9, 1714-1719 (In Russ.)
- [3] Dyussebayev K., Kulataeva M., Kussainova A., Shalakhmetova G., Alikulov Z. Study on nitrate and nitrite reducing activity of mare's milk and their seasonal changes. *Massachusetts Review of Scienceand Technologies.* "MIT Press", **2016**, 1 (13), 857-862.
- [4] Devyatka, D. G., Val'chuk, N. K., Voronina, T. Z. and Bukhovets, V. J., Effect of molybdenum on the immunological reactivity of organisms. *Gig. Sanit.*, **1971**, 36, 104.
- [5] Johnson J.L., Rajagopalan K. V., Cohen H.J., Molecular Basis of the Biological Function of Molybdenum. Effect of tungsten on xanthine oxidase and sulfite oxidase in the rat. *J.Biol. Chem.* **1974**, 249, No. 3, 859-866.
- [6] Rajinder R.K., Pawan K.V., Imtiyaz A. Alterations in biochemical indices during repeated oral administration of molybdenum alone and in conjunctionwithcopper sulfate in goats. *World Journal of Pharmaceutical Research.* **2015**, 4, Issue 3, 1057-1065.
- [7] Kincaid R.L. Toxicity of ammonium molybdate added to drinking water of calves. *J Dairy Sci.* **1980**, 63(4), 608-610.
- [8] Huber, J. T., N. O. Price, R. W. Engel. Response of lactating dairy cows to high levels of dietary molybdenum. *J. Anim. Sci.* **1971**, 32, 364–367.
- [9] Pott E.B., Henrya P.R., Zanetti M.A., Raob P.V., Hinderberger E.J. Ammermana C.B. Effects of high dietary molybdenum concentration and duration of feeding time on molybdenum and copper metabolism in sheep. *Animal Feed Science and Technology.* 1999, 79, 1-2
- [10] NTP (National Toxicology Program) Toxicology and carcinogenesis studies of molybdenum trioxide in F344/N rats and B6C3F1 mice (inhalation studies). *Technical Report Series.* 1997, 462, No. 97, 3374 -3378
- [11] Van Ryssen J.B., Stielau W.J. Effect of different levels of dietary on copper and Mo metabolism in sheep fed on high levels of Cu, *Br. J. Nut r.* **1981**, 45(1), 203-210.

- [12] Ken Okamoto, Teruo Kusano, Takeshi Nishino. Chemical Nature and Reaction Mechanisms of the Molybdenum Cofactor of Xanthine Oxidoreductase. *Curr. Pharm Des.* **2013**, 19(14), 2606–2614.
- [13] Dyussembayev K., Kulataeva M., Shalakhmetova G.A., Alikulov Z.A., A new rahidmethod for determining molybdenum xanthine oxidase of animal milk. *Bulletin of KazNU.* **2016**, №3(68), 134-142. (In Russ.)
- [14] Godber BL, Doel JJ, Sapkota GP, Blake DR, Stevens CR, Harrison R. Reduction of nitrite to nitric oxide catalyzed by xanthine oxidoreductase. *J Biol Chem.*, 2000, 275(11), 757-763.
- [15] Maia L, Duarte RO, Ponces-Freire A, Moura JJ, Mira L. NADH oxidase activity of rat and human liver xanthine oxidoreductase: potential role in superoxide production. *J BiolInorg Chem.* 2007, 12(6), 777-787.
- [16] Liu M.T., Wuebbens M.M., Rajagopalan K.V., Schindelin H. Crystal structure of the gephyrin-related molybdenum cofactor biosynthesis protein MogA from *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, 2000, 275, 1814–1822.
- [17] Harrison Roger. Milk xanthine oxidase: Properties and physiological roles. *International Dairy Journal*, **2006**, 16(6), 546-554.

А. Мухамеджанова¹, Г. А. Шалахметова², З. Әлікүлов¹

¹Л. Н. Гумилев атындағы Евразиялық ұлттық университеті, Астана, Қазақстан,
²Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан

СЫРТТАН БЕРІЛГЕН МОЛИБДЕННИҢ *IN VIVO* ЖАҒДАЙЫНДА ҚОЙДЫҢ СҮТІ МЕН БАУЫРЫНДАҒЫ КСАНТИНОКСИДАЗАҒА ӘСЕРІ

Аннотация. Ұрғашы қойлардың үш тобы бір ай бойы бірдей жем түрімен жемделді, бірақ олардың бір тобы табиғи сумен, екіншісі – құрамына молибден (Mo) және үшіншісі – құрамына вольфрам (W) қосылған сумен суғарылды. Әрбір төртінші күні жаңа сауылған сүтте ксантиноксидазаның (КО) біріккен активтіктерін – ксантиннің тотығуы, нитрат пен нитриттің тотықсыздануын анықтадық. Жануарлардың барлық топтарынан сауылған сүт үлгілерінде осы активтіктер жоқ болып шықты. Бірақ, сүтті сырттан берілген молибден (Mo) мен цистеиннің қатысуымен 80°C температурада қыздыру жоғары активтіктерге алып келді. Ал, қойдың бауырында суға Mo қосылмаса да активті КО пайда болды. Ішетін суға Mo қосылғанда бауырдағы ферменттің біріккен активтіктері сәл ғана жоғарылады. Ал, вольфрам (W) қосылған су бауырдың КО-ның барлық активтіктерінің жоюына алып келді. Бауырда Mo-ны (немесе W-ды) КО-ның молекуласының құрамына ендіретін ерекше белок болады деп болжауға болады, ал, сүтте немесе сүт безінде ондай белок болмайды.

Түйін сөздер: сүт, ксантиноксидаза (КО), молибден (Mo), вольфрам (W), нитрат, нитрит.

Publication Ethics and Publication Malpractice in the journals of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Submission of an article to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan implies that the described work has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. In particular, translations into English of papers already published in another language are not accepted.

No other forms of scientific misconduct are allowed, such as plagiarism, falsification, fraudulent data, incorrect interpretation of other works, incorrect citations, etc. The National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan follows the Code of Conduct of the Committee on Publication Ethics (COPE), and follows the COPE Flowcharts for Resolving Cases of Suspected Misconduct (http://publicationethics.org/files/u2/New_Code.pdf). To verify originality, your article may be checked by the Cross Check originality detection service <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

The authors are obliged to participate in peer review process and be ready to provide corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. All authors of a paper should have significantly contributed to the research.

The reviewers should provide objective judgments and should point out relevant published works which are not yet cited. Reviewed articles should be treated confidentially. The reviewers will be chosen in such a way that there is no conflict of interests with respect to the research, the authors and/or the research funders.

The editors have complete responsibility and authority to reject or accept a paper, and they will only accept a paper when reasonably certain. They will preserve anonymity of reviewers and promote publication of corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. The acceptance of a paper automatically implies the copyright transfer to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan.

The Editorial Board of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan will monitor and safeguard publishing ethics.

Правила оформления статьи для публикации в журнале смотреть на сайте:

www.nauka-nanrk.kz

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

<http://www.biological-medical.kz/index.php/ru/>

Редактор *М. С. Ахметова, Д. С. Аленов, Т. М. Апендиев*
Верстка на компьютере *Д. Н. Калкабековой*

Подписано в печать 13.09.2017.

Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.
15,5 п.л. Тираж 300. Заказ 5.