

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)
Lunenfeld 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), 49 – 56

A. S. Seisenbayeva^{1,2,3}, V. V. Isachenko², Ye. M. Toishibekov¹¹Institute of Experimental Biology, Almaty, Kazakhstan,²Universitäts klinikum Köln IVF/Kryo-Labor, Köln, Germany,³Al-Farabi kazakh national university, Almaty, Kazakhstan**STUDY OF VIABILITY OF FROZEN-THAWED OVARIAN TISSUE
BY XENOGRAFTING TO SCID MICE**

Abstract. The aim of our study was to test the viability of human ovarian tissue which was either frozen just after operative removal from patient or cooled before cryopreservation to 5°C for 24 h and then frozen using xenografting and flow cytometry methods. Ovarian fragments from nine patients have been fragmented into small pieces and divided into two groups: group 1 pieces (n=15) were frozen immediately after operation without pre-cooling, thawed, transplanted to SCID mice and then, after 45 d of culture their quality was analyzed. Group 2 pieces (n=15) were frozen after 24 h pre-cooling to 5°C, thawed, transplanted to SCID mice and then, after 45 d their quality was analyzed. Efficiency of pre-cooling was estimated using of a histologic research and the FACS analysis (check of translocation of phosphatidylserine with FITC-Annexin V and Propidium Iodide). Percent of morphologically normal preantral follicles were 86% and 89% in groups 1 and 2 respectively ($P_{1-2} > 0.1$). The FACS analysis showed significantly decreased intensiveness of translocation of phosphatidylserine after pre-cooling of frozen tissue (33,9%), in contrast with tissue frozen without pre-cooling (57,7%) $P < 0.05$. It was established, that pre-cooling to 5°C for 24 h before cryopreservation positively influences on viability of follicles after thawing.

Keywords: ovarian tissue, follicles, cryopreservation, xenografting, SCID mice, viability.

УДК 57.086.13

A. С. Сейсенбаевна^{1,2}, В. В. Исаченко², Е. М. Тойшибеков¹¹Ф. М. Мухамедгалиев атындағы экспериментальді биология институты, Алматы, Қазақстан,²Кёльн Университеті, Акушерлік және гинекология клиникасы, IVF/ Cryo-Lab лабораториясы, Кёльн, Германия,³Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан**МҰЗДАТЫЛЫП-ЕРІТІЛГЕН ОВАРИАЛЬДІ ҰЛПАНЫҢ
ӨМІРШЕНДІГІН SCID ТЫШҚАНДАРЫНА
КСЕНОТРАНСПЛАНТАЦИЯЛАУ АРҚЫЛЫ ЗЕРТТЕУ**

Аннотация. Зерттеу жұмысының мақсаты мұздатылу алдында арнайы салқындатылған адамның овариальді ұлпасының өміршеңдігін ксенотрансплантациялау және ағынды цитометрия әдістерін пайдалану арқылы зерттеу. Тоғыз пациенттен алынған овариальді ұлпа кесіндісін кішкентай бөліктерге бөлшектеп, екі топқа бөлік: 1) топ, овариальді ұлпаны алдын-ала салқындатпай операциядан кейін бірден мұздатып, ерітілген соң SCID тышқандарына ксенотрансплантациялап, 45 күн дақылдағаннан кейін өміршеңдігін зерттеу; 2) топ, овариальді ұлпаны мұздату алдында 5°C температурада 24 сағат тоңазытқышта салқындатып, ерітілген соң SCID тышқандарына ксенотрансплантациялап, 45 күн дақылдағаннан кейін өміршеңдігін зерттеу. Алдын-ала салқындату әдісінің тиімділігі гистологиялық талдау мен FACS-анализ арқылы тексерілді (фосфатидилсерин транслокациясын FITC-аннексин V мен йодид пропидиямен зерттеу). Морфологиялық қалыпты преантральді фолликулдардың проценті 1-ші және 2-ші топта 86% және 89% тең болды. FACS-анализ нәтижесі фосфатидилсериннің транслокация интенсивтілігі алдын-ала салқындатылып мұздатылған ұлпада

(33,9%) алдын-ала салқындатылмаған ұлпаға қарағанда төмен болатынын (57,7%) көрсетті ($P < 0,5$). Қорытындылай келе овариальді ұлпаны мұздату алдында 5°C температурада 24 сағат тоңазытқышта салқындату фолликулдардың өміршеңдігіне оң әсер ететінін белгілі болды.

Түйін сөздер: овариальді ұлпа, фолликулдар, криоконсервация, ксенотрансплантациялау, SCID тышқандар, өміршеңдік.

Қазіргі таңда Дүние жүзінде адамдар арасында бедеулік кең таралған аурулардың бірі. Дүниежүзілік Денсаулық сақтау Ұйымының статистикасы бойынша бала көтеретін жастағы ерлі-зайыпты жұптардың 15% осы мәселемен қақтығысады [1]. Этиологиясы әртүрлі бедеулік ауруларын емдеу үшін қазіргі кезде қосымша репродуктивті технология (ҚРТ) әдістері пайдаланылады. Бірақ фолликулогенезді стимуляциялап, жетілген ооциттерді алудың ҚРТ әдістері пациенттерге горманальді препараттарды енгізуге негізделгендіктен бұл әдістерді пайдалану көптеген аурулар қатарына қарсы көрсетілімге ие, әсіресе барлық ісік ауруларында. Сонымен қатар заманауи химиотерапия әдістерін қолдану кезінде примордиальді фолликулдар қорының зақымдануына байланысты пациенттің овариальді резерві төмендейді [2-4]. Сондықтан осындай диагнозы бар әйелдердің фертильділігін сақтауға негізделген бірнеше әдістер бар. Соның бірі химиотерапия алдында криоконсервацияланған овариальді ұлпаның қыртысты бөлігін емделіп жазылған пациенттерге қайта трансплантациялау [5, 6]. Қазіргі таңда осы бағыт қарқынды дамуда және дүниежүзінде овариальді ұлпаларды сақтайтын криобанктер құрылуда. Бірақ аналық без ұлпасын пациенттерге ретрансплантациялау кейбір ісік аурулары типтерінде рецидивке алып келуі мүмкін. Бұл методикалық әдістің тағы бір шектеуі – оның эффективтілігінің төмендігі. Себебі ретрансплантацияланған ұлпалардағы фолликулдардың қоры ишемия әсерінен төмендеп кетеді. Қазіргі кезде криоконсервацияланған овариальді ұлпаны трансплантациялау бойынша жоғарғы деңгейдегі нәтижелер алынған жоқ және осы жолмен туылған балалар саны шамамен 10 ғана жетеді [7-10].

Пациенттерге аутоотрансплантация жасау алдында мұздатылып-ерітілген овариальді ұлпаның өміршеңдігіне болжам жасау үшін бірнеше әдістерді пайдаланып зерттеуге болады: 1) иммуносупрессорлы SCID тышқандарына ксенотрансплантациялау; 2) САМ-дақылдау (chorioallantoic membrane); 3) овариальді ұлпаларды немесе ұлпалардан жеке-жеке бөлініп алынған фолликулдарды *in vitro* дақылдау.

Имуносупрессорлы SCID тышқандарына ксенотрансплантациялау мен САМ-дақылдау әдістері мұздатылып-ерітілген овариальді ұлпадағы фолликулдардың дамуы мен ангиогенез үрдістерін зерттеуге мүмкіндік береді. Осы әдістерді қолданып криоконсервациялау әдістерінің тиімділігін зерттеуге болады. Бірақ бұл жолмен фолликулдарды өсіріп, ооциттерді бөліп алу әдістерін клиникада қолдану этикалық тұрғыда қарастырылмаған.

Фертильділікті қайта қалыптастырудың тағы бір жолы овариальды ұлпаны немесе ұлпадан бөлініп алынған фолликулдарды *in vitro* дақылдау. Бұл технологияға ғалымдар үлкен сенім артып отыр және біршама ғалымдар тобы осы бағытпен белсенді айналысуда [11-20]. Осы жолмен алынған ооциттер стандартты ҚРТ әдістері арқылы ұрықтандырылып, алынған эмбриондар клиникаларда кең таралған стандартты әдіс арқылы криоконсервацияланып пациентке қажет болғанша ұзақ мерзімге сұйық азотта сақталады.

Сонымен жоғарыда аталған себептерге байланысты зерттеу жұмысының мақсаты овариальді ұлпаны криоконсервациялау алдында 5°C температурада салқындатудың тиімділігін мұздатылып-ерітілген ұлпалардың өміршеңдігін иммуносупрессорлы SCID тышқандарына ксенотрансплантациялау арқылы зерттеу.

Зерттеу әдістері мен материалдары

Зерттеу жұмысы Кёльн Университетінің акушерлік және гинекология клиникасында (Кёльн қ., Германия) жасалды. Заң жүзінде бекітілген құжаттармен танысқан 9 пациенттен лапораскопиялық жолмен оң және сол жақ аналық безінен екі кесінді алынды. Кесінділер Лейбовиц-15 пен 5% Декстран сары суы қосылған қоректік ортада арнайы контейнерге салынып лабораторияға жеткізілді. Пинцет пен скальпелдің көмегімен овариальді ұлпа кесіндісін көлемі $1.5-2.0 \times 1.0-1.2 \times 1.0-1.2$ мм кішкентай бөліктерге бөліп, алынған үлгілерді екі топқа бөлдік:

№1 овариальді ұлпа бөліктері бірден мұздатылып, содан кейін ерітілген ұлпалардың өміршеңдігін анықтау үшін ксенотрансплантация жасалынды;

№2 овариальді ұлпа бөліктерін бір тәулік 5°C температурада тоңазтқышта салқындатып, мұздатып, ерітілген ұлпалардың өміршеңдігін анықтау үшін ксенотрансплантация жасалынды;

Бақылау тобы: бірден Буэн ерітіндісіне фиксацияланған мұздатылмаған овариальді ұлпа.

Баяу мұздату үшін алынған ұлпа бөліктерін бөлме температурасында 20 мл мұздату ерітіндісі құйылған контейрге салдық. Мұздату ерітіндісі 6% диметильсульфоксид, 6% этиленгликоль және 0,15М сахароза криопротекторларының қоспасынан тұрды. Криопротекторлар мен эквипотенциацияланған бөліктерді алдын ала мұздату ерітіндісі құйылған 5 мл криопробиркаларға салып арнайы бағдарламалы баяу мұздатқыш IceCube 14S (SyLab, Neupurkersdorf, Austria) құрылғысында криоконсервацияладық. Баяу мұздатудың температуралық режимі келесідей болды: бастапқы температурасы -6°C; содан кейін -6°C бастап -34°C температураға дейін 0,3°C/мин мұздату жылдамдығымен; ары қарай -34°C криопробиркаларды мұздатылған үлгілермен бірге алып, сұйық азотқа салып Дьюар ыдысында сақтадық. Бұл құрылғыда сидинг процесі автоматты түрде -6°C температурада жүреді. Еріту үшін криопробиркаларды 30 сек бөлме температурасында ұстап, содан кейін 100°C қайнап жатқан су моншасына салып, мұздың көлемі 1-2 мм жеткенше ұстап тұрдық. Ерітілген үлгілерді ішіне 10 мл ерітінді құйылған 100 мл контейнерге салдық. Ерітінді құрамы негізгі қоректік ортадан және 0,5 М сахарозадан тұрды. Осмостық шокты болдырмау мақсатында криопротекторларды біртіндеп шығару үшін жиілігі минутына 200 цикл айналатын шейкердің үстінде бөлме температурасында 15 минут ұстадық. Осыдан кейін 10 минут ішінде SCID тышқандарына трансплантацияланды. Ксенотрансплантациялау үшін Харлан фермасынан (Терн, Ұлыбритания) алынған 7 апталық SCID (BALB/c) тышқандарының 30 аналық дарақтары пайдаланылды. Жануарлар стерильді ортада 12/12 сағат қараңғы/жарық режимінде болды, су мен жемге *ad libitum*. Анестетик ретінде

Rompun 2% және Ketanest 50 мг/мл (Германия) қоспасы қолданылды. Әрбір тышқанның терісі дезинфекцияланып, омыртқа жотасының оң және сол жағына ерітілген ұлпаларды трансплантацияладық. Тышқандарға бір күн өткізіп 1.0 IU рекомбинанттық ФСГ (фолликула стимулдайтын гормон) енгізіп отырдық.

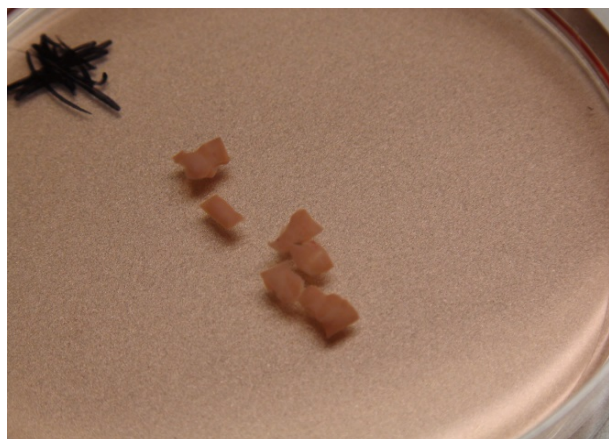
Ксенотрансплантациялаудан 45 күн өткен соң тышқандарды мойын омыртқасын дислокациялау арқылы жансыздандырып, алынған 60 трансплантанттардың жартысын гистологиялық зерттеу үшін фиксациялап, ал қалған жартысын апоптозды анықтау үшін 10% FCS (Fetal calf serum) қосылған PBS (Phosphate buffer solution) ортасына салдық. Содан кейін трансплантанттарды GM 501 коллагеназамен 37°C температурада 1 сағат шейкерде инкубацияладық.

Үстіне мұздай PBS-FCS құйып, ұлпаны 20G инесімен механикалық ұсақтап, саңылауы 70 мкм фильгрден өткіздік. Клеткаларды мұздай PBS-FCS 4°C температурада 1000 айналым/мин 10 минут центрифугирледік. Бөлініп алынған клеткаларды 10% FCS, 4 ммоль L-глутамин, 50 мкмоль 2-меркаптоэтанол және антибиотиктер қосылған 1640 RPMI ортасында 37°C температурада 5%CO₂ 1 сағат дақылдадық. Осыдан кейін апоптозды анықтауға арналған Propidium Iodide қосылған арнайы kit I FITC-аннексин V бояуымен бояп, ағынды цитометрия BD LSR II құрылғысымен апоптоз деңгейін анықтадық.

Гистологиялық зерттеу үшін дақылданған үлгілерді Буэн ерітіндісінде фиксациялап, парафинге бекітіп, қалыңдығы 4 мкм кесінділер жасадық. Жасалған кесінділерді гематоксилин-эозинмен бояп микроскоп арқылы зерттедік. Зерттеу барысында зақымданған фолликулдар мен морфологиялық құрылысы жақсы сақталған фолликулдарға сандық талдау жасалынды. Фолликулдардың үш типі зерттелінді: 1) примордиальді фолликулдар – ооцит жалпақ гранулезды клеткалардың бір қабатымен қоршалған; 2) біріншілік фолликулдар – ооцит куб тәрізді гранулезды клеткалардың бір қабатымен қоршалған; 3) екіншілік фолликулдар – ооцит куб тәрізді гранулезды клеткалардың екі немесе одан да көп қабатымен қоршалған. Статистикалық талдау үшін ANOVA әдісі қолданылды.

Зерттеу нәтижелері мен оларды талдау

Алынған гистологиялық зерттеулер нәтижесі екі топта да примордиальді, біріншілік және екіншілік фолликулдардың жақсы сақталғанын көрсетті. Морфологиялық құрылысы қалыпты фолликулдардың ооциттерінің пішіні дөңгелек. Ооциттің сыртын тегіс таралған гранулезды клеткалар қоршап тұр, цитоплазмасы біртекті және ядросының тура ортасында дөңгелек пішінді тығыздалған хроматині бар. Зақымдалған фолликулдардың ооциттері деформацияланған, вакуолиз-



а



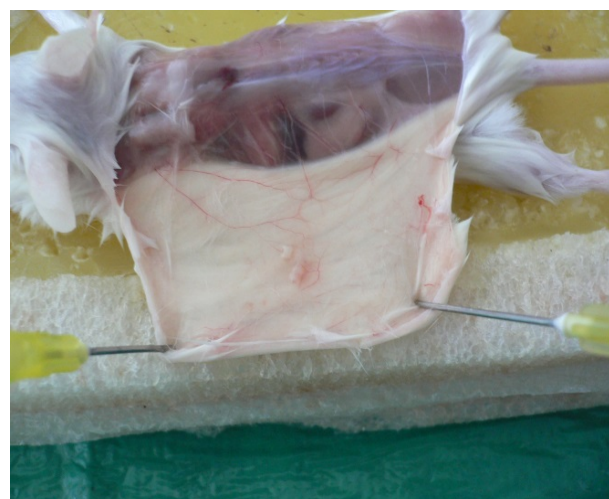
ә



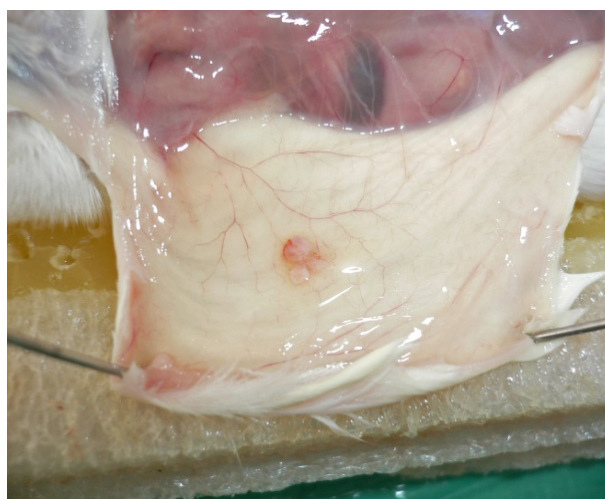
б



в



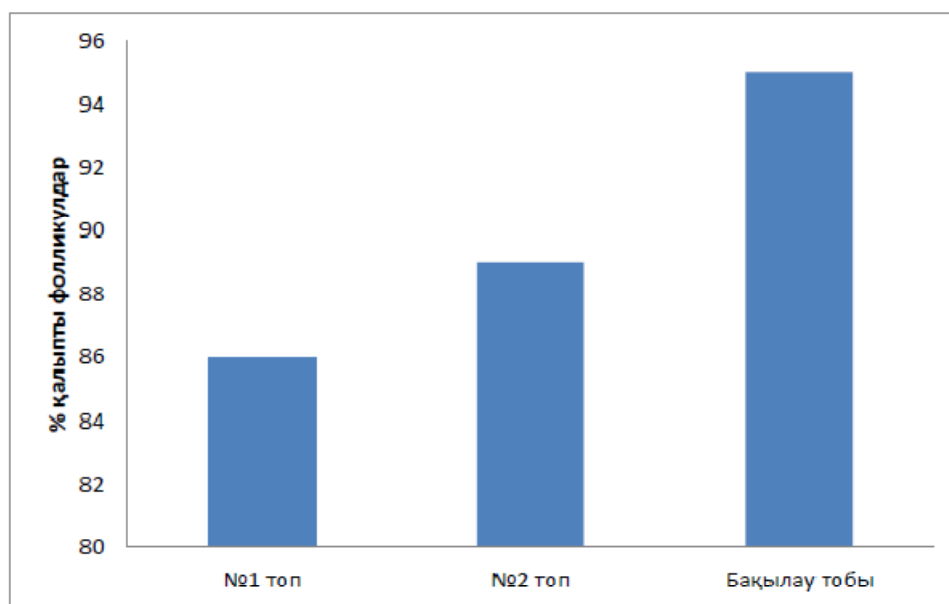
г



д

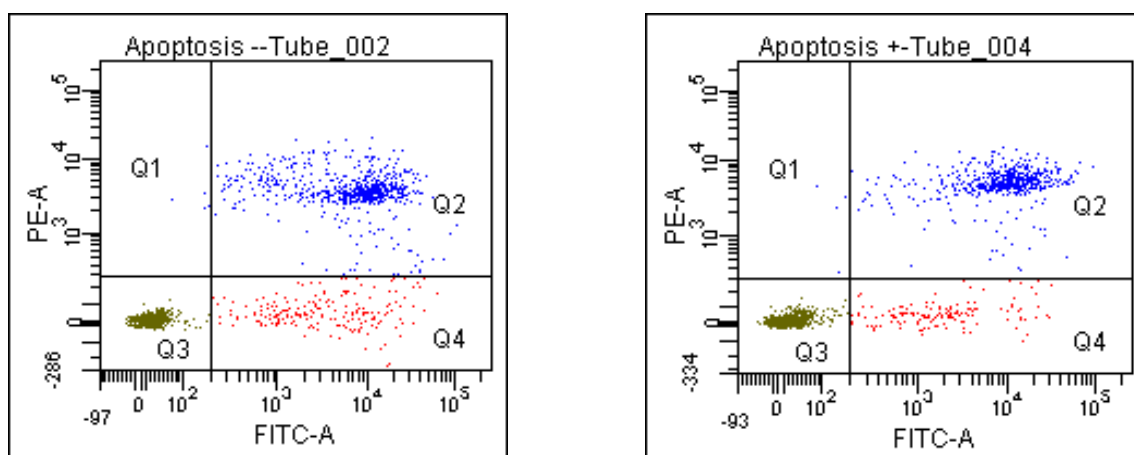
1-сурет – Мұздатылып-ерітілген овариальді ұлпа бөліктерін иммуносупрессорлы SCID тышқандарына ксенотрансплантациялау: а – мұздатылып-ерітілген овариальді ұлпа бөліктері; ә – ксенотрансплантациялау үшін SCID тышқандардың терісін кесіп, қалташалар жасап дайындау; б – овариальді ұлпа бөліктерін тері астына енгізу; в – арнайы стерильді ортадағы ксенотрансплантация жасалынған тышқандар; г, д – ксенотрансплантациялағаннан соң 45 күн өткеннен кейінгі трансплантанттардың көрінісі

денген, тека мен гранулезды клеткалар фолликулдардың шетінен алшақтай бастаған. Гранулезды клеткаларда пикноз байқалады. Екі топтағы морфологиялық қалыпты преантральді фолликулдардың саны $89,0 \pm 4,9\%$ және $86,5 \pm 4,3\%$ құрады ($P_{1-2} > 0.1$) (2-сурет).



2-сурет – Алдын ала салқындатудың фолликулдардың сапасына әсері (морфологиялық құрылысы қалыпты сақталған фолликулдар). №1 топ: тоңазытқышта алдын ала салқындатылмай мұздатылып-ерітіліп ксенотрансплантацияланған овариальді ұлпа; №2 топ: алдын ала 24 сағат 5°C температурада тоңазытқышта салқындатылып, содан кейін мұздатылып-ерітіліп ксенотрансплантацияланған овариальді ұлпа; Бақылау тобы: мұздатылмай, бірден Буэн ерітіндісінде фиксацияланған ұлпа. Көрсетілген топтар арасында статистикалық айырмашылықтар байқалмады (№1 топ пен №2 топ арасында ($P > 0,1$))

Криоконсервациялау кезінде клеткада стресске жауап ретінде клеткаішілік апаптоз немесе некроздық сигнал басталатыны белгілі болған [21]. Некроз бен апоптоз кезінде клетка циклында сигналдарды жеткізуде негізгі роль атқаратын компонент – мембрана фосфолипидінің құрамына кіретін фосфатидилсерин болып табылады. Фосфотидилсерин цитоплазмалық мембрананың ішкі бетінде орналасады. Клеткаға бір жағымсыз фактор әсер еткенде фосфотидилсерин мембрананың ішкі бетінен клетканың сыртқы бетіне ауысады. Клеткаларды криоконсервациялау кезінде бес



3-сурет – Алдын ала 24 сағат 5°C температурада тоңазытқышта салқындатылып, содан кейін мұздатылып-ерітіліп SCID тышқандарына ксенотрансплантацияланған овариальді ұлпадағы фосфотидилсериннің транслокациясы. №1 топ: тоңазытқышта алдын ала салқындатылмай мұздатылып-ерітіліп ксенотрансплантацияланған овариальді ұлпа; №2 топ: алдын ала 24 сағат 5°C температурада тоңазытқышта салқындатылып, содан кейін мұздатылып-ерітіліп ксенотрансплантацияланған овариальді ұлпа; FACS анализдің көмегімен. (Q1) Annexine V (FITC A) теріс, ал PI оң боялды (бастапқы некроздық клеткалары). (Q2) Annexine V (FITC A) мен PI оң боялды (кеш апоптоз). (Q3) Annexine V (FITC A) мен PI теріс боялды (тірі клеткалар). (Q4) Annexine V (FITC A) оң, ал PI теріс боялды (апоптоздың ерте түрі). Көрсетілген топтар арасында статистикалық талдаудың нәтижесі $P < 0,5$ болды

түрлі теріс әсер байқалады: 1) гипоксия [22]; 2) клеткаішілік Ca^{2+} жоғарлауы [23]; 3) клетка мембранасының осмостық зақымдануы; 4) оттегінің активті формасының генерациясы; және 5) липидтердің асқын тотығуы. Осы факторлардың кез-келгені фосфотидилсериннің ауысуын туғызуы мүмкін. 1990 жылдан бастап фосфатидилсериннің ауысуы апоптоз датчигінің рөлін атқаратыны белгілі болды [24]. Апоптозды клетка ДНҚ-сын әртүрлі бояғыштармен маркерлеу арқылы немесе терминальді дезоксинуклеотид-трансфераза көмегімен анықтайды. Апоптозды анықтайтын kit-тің негізгі принципі клетка бетінде орналасқан фосфатидилсериннің Аннексином V-пен байланысуына негізделген. Тірі клеткаларды өлі клеткалардан ажырату үшін екінші бояғыш - йодид проподия керек. Біз алынған нәтижелерді интерпретациялау кезінде фосфотидилсериннің ауысуын клетканың криобиологиялық өңдеуге реакциясы ретінде бағаладық. Бірінші топта $6,9 \pm 0,8\%$ клеткалар бастақы апоптоз деңгейін (FITC-Annexin V оң, PI теріс), ал $50,8 \pm 5,0\%$ (FITC-Annexin V және PI теріс) соңғы апоптоз немесе өлі клеткаларды көрсетті. Бұл топтағы тірі клеткалар $39,5 \pm 4,1\%$ (FITC-Annexin V және PI теріс), ал некроздық клеткалар деңгейі $0,5 \pm 0,0\%$ болды (FITC-Annexin V теріс, PI оң). Екінші топта $8,9 \pm 2,1\%$ клеткалар бастақы апоптоз деңгейін, ал $25,0 \pm 1,7\%$ соңғы апоптоз немесе өлі клеткаларды көрсетті. Бұл топтағы клеткалардың өміршеңдігі $67,0\% \pm 4,2$, ал некроздық клеткалар деңгейі $0,3 \pm 0,0\%$ болды.

Қорытынды. Ғалымдар арасында салқындалу үрдісі клетка дамуына оң әсер етеді деген пікір қалыптасқан. Жылы қанды атжалмандардың суық температураға адаптациясы кезінде клеткада митоз үрдісі күшейген. Адамдар мен тышқандардың суыққа *in vitro* адаптацияланған клеткаларында да митоздың жоғарлағаны байқалған. 26 сағатқа дейін төменгі плюс температурада сақталған овариальды ұлпаны *in vitro* дақылдау барысында гипотермиялық температура әсері примордиальді фолликулдардың дамуын тоқтатпайтыны анықталған. Осы зерттеудің нәтижесінде гипотермиялық температурада 26 сағаттан артық сақталған овариальді ұлпаларда примордиальді фолликулдардың саны азая бастағанын көрсеткен [25]. Қорытындылай келе овариальді ұлпаны криоконсервациялау алдында 5°C температурада 24 сағат салқындалу фосфотидилсериннің ауысуын төмендетеді, сәйкесінше ерітілген ұлпалардағы тірі клеткалардың өміршеңдігін дәлелдейді.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Mascarenhas M.N., Flaxman S.R., Boerma T., Vanderpoel S., Stevens G.A. (2012) National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys, PLoS Med, V.9. P.1-12. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001356>
- [2] Kalich-Philosoph L., Roness H., Carmely A., Fishel-Bartal M., Ligumsky H., Paglin S., Wolf I., Kanety H., Sredni B., Meirou D. (2013) Cyclophosphamide triggers follicle activation and “burnout”; AS101 prevents follicle loss and preserves fertility, Sci. Transl. Med, V.5. P.62-70. doi: 10.1126/scitranslmed.3005402.
- [3] Saleh H., Omar E., Froemming G., Said R. (2015) Tocotrienol preserves ovarian function in cyclophosphamide therapy, Hum. Exp. Toxicol, P.1-7. doi: 10.1177/0960327114564793.
- [4] Song G., Gao H., Yuan Z. (2013) Effect of leuprolide acetate on ovarian function after cyclophosphamide-doxorubicin-based chemotherapy in premenopausal patients with breast cancer: results from a phase II randomized trial, Med. Oncol, V.30. P.667-674. doi: 10.1007/s12032-013-0667-8
- [5] Hovatta O. (2004) Cryopreservation and culture of human ovarian cortical tissue containing early follicles, Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol, V.113. Suppl. -S50-54.
- [6] Oktay K., Newton H., Gosden R.G. (2000) Transplantation of cryopreserved human ovarian tissue results in follicle growth initiation in SCID mice, Fertil. Steril, V.73. P.599-603. DOI:[http://dx.doi.org/10.1016/S0015-0282\(99\)00548-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0015-0282(99)00548-8)
- [7] Dolmans M.-M., Jadoul P., Gilliaux S., Amorim C.A., Luyckx V., Squifflet J., Donnez J., Van Langendonck A. (2013) A review of 15 years of ovarian tissue bank activities, J. Assist. Reprod. Genet. V.30. P.305-314. doi: 10.1007/s10815-013-9952-x
- [8] Donnez J., Jadoul P., Pirard C., Hutchings G., Demylle D., Squifflet J., Smits J., Dolmans M.-M. (2012) Live birth after transplantation of frozen-thawed ovarian tissue after bilateral oophorectomy for benign disease, Fertil. Steril, V.98. P.720-725. doi: 10.1016/j.fertnstert
- [9] Donnez J., Silber S., Andersen C.Y., Demeestere I., Piver P., Meirou D., Pellicer A., Dolmans M.-M. (2011) Children born after autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue. a review of 13 live births, Ann. Med., V.43. P.437-450. doi: 10.3109/07853890.2010.546807
- [10] Isachenko V., Isachenko E., Keck G., Dittrich R., Montag M., van der Ven H., Mallmann P., Müller A., Distler W., Beckmann M.W., Rahimi G. (2012) First live birth in Germany after re-transplantation of cryopreserved ovarian tissue: original device for initiation of ice formation, Clin. Lab., V.58. P.933-938. DOI: 10.7754/Clin.Lab.2013.130239
- [11] Amorim C. a, Van Langendonck A., David A., Dolmans M.-M., Donnez J. (2009) Survival of human pre-antral follicles after cryopreservation of ovarian tissue, follicular isolation and in vitro culture in a calcium alginate matrix, Hum. Reprod. V.24. P.92-99. DOI:<https://doi.org/10.1093/humrep/den343>

- [12] Dolmans M.-M., Martinez-Madrid B., Gadisseux E., Guiot Y., Yuan W.Y., Torre A., Camboni A., Van Langendonck A., Donnez J. (2007) Short-term transplantation of isolated human ovarian follicles and cortical tissue into nude mice, *Reproduction*, V.134. P.253–262. DOI:10.1530/REP-07-0131
- [13] Bertoldo M.J., Duffard N., Bernard J., Frapsauce C., Calais L., Rico C., Mermillod P., Locatelli Y. (2014) Effects of bone morphogenetic protein 4 (BMP4) supplementation during culture of the sheep ovarian cortex, *Anim. Reprod. Sci.*, V.149. P.124–134. doi: 10.1016/j.anireprosci.2014.07.010.
- [14] Isachenko V., Mallmann P., Petrunina A.M., Rahimi G., Nawroth F., Hancke K., Felberbaum R., Genze F., Damjanoski I., Isachenko E. (2012) Comparison of in vitro and chorioallantoic membrane (CAM)-culture systems for cryopreserved medulla-contained human ovarian tissue, *PLoS One.*, V.7. P.1-9. doi: 10.1371/journal.pone.0032549
- [15] Chin Siang Kue, Kae Yi Tan, May Lynn Lam, and Hong Boon Lee (2015). Chick embryo chorioallantoic membrane (CAM): an alternative predictive model in acute toxicological studies for anti-cancer drugs. *Exp. Anim.* 64(2), 129–138
- [16] Isachenko V., Orth I., Isachenko E., Mallmann P., Peters D., Schmidt T., Morgenstern B., Foth D., Hanstein B., Rahimi G. (2013) Viability of human ovarian tissue confirmed 5 years after freezing with spontaneous ice-formation by autografting and chorio-allantoic membrane culture, *Cryobiology*, V.66. P.233–238. doi: 10.1016/j.cryobiol.
- [17] Telfer E.E., Zelinski M.B. (2013) Ovarian follicle culture: advances and challenges for human and nonhuman primates, *Fertil. Steril.* V.99. P.1523–1533. doi:10.1016/j.fertnstert.
- [18] Xu M., Kreeger P.K., Shea L.D., Woodruff T.K. (2006a) Tissue-engineered follicles produce live, fertile offspring, *Tissue Eng.*, V.12. P.2739–2746. DOI:10.1089/ten.2006.12.2739
- [19] Xu M., West E., Shea L.D., Woodruff T.K. (2006b) Identification of a stage-specific permissive in vitro culture environment for follicle growth and oocyte development, *Biol. Reprod.*, V.75. P.916–923. DOI:10.1095/biolreprod.106.054833
- [20] Samaneh Sadeghina and et al. (2016) Development of sheep primordial follicles encapsulated in alginate or in ovarian tissue in fresh and vitrified samples. *Cryobiology*. 72(2):100-5. doi: 10.1016/j.cryobiol.2016.03.001
- [21] Soleimani R, Heytens E, Oktay K. (2011) Enhancement of neoangiogenesis and follicle survival by sphingosine-1-phosphate in human ovarian tissue xenotransplants. *PLoS One.* 6:e19475. doi:10.1371/journal.pone.0019475
- [22] Mattson MP, Chan SL. (2003) Calcium orchestrates apoptosis. *Nature Cell Biol.* 5:1041–1043. PMID: 14647298
- [23] Chiarugi A, Moskowitz MA. (2002) PARP-1—a perpetrator of apoptotic cell death? *Science.* 297:259–263. PMID: 12114629
- [24] Vermes I, Haanen C, Reutelingsperger CPM. (1995) A novel assay for apoptosis: flow cytometric detection of phosphatidylserine detection of phosphatidylserine expression on early apoptotic cells using fluorescence labeled annexin V. *J Immunol Methods.* 184:39–51. PMID: 7622868
- [25] Isachenko E, Isachenko V, Nawroth F, Rahimi G, Weiss JM. (2009) Effect of long-term exposure at suprazero temperatures on activity and viability of human ovarian cortex. *FertilSteri.*91:1556–1559. doi:10.1016/j.fertnstert

REFERENCES

- [1] Mascarenhas M.N., Flaxman S.R., Boerma T., Vanderpoel S., Stevens G.A. (2012) National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys, *PLoS Med*, V.9. P.1-12. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001356>
- [2] Kalich-Philosoph L., Roness H., Carmely A., Fishel-Bartal M., Ligumsky H., Paglin S., Wolf I., Kanety H., Sredni B., Meirou D. (2013) Cyclophosphamide triggers follicle activation and “burnout”; AS101 prevents follicle loss and preserves fertility, *Sci. Transl. Med.*, V.5. P.62-70. doi: 10.1126/scitranslmed.3005402.
- [3] Saleh H., Omar E., Froemming G., Said R. (2015) Tocotrienol preserves ovarian function in cyclophosphamide therapy, *Hum. Exp. Toxicol.*, P.1-7. doi: 10.1177/0960327114564793.
- [4] Song G., Gao H., Yuan Z. (2013) Effect of leuprolide acetate on ovarian function after cyclophosphamide-doxorubicin-based chemotherapy in premenopausal patients with breast cancer: results from a phase II randomized trial, *Med. Oncol.*, V.30. P.667-674. doi: 10.1007/s12032-013-0667-8
- [5] Hovatta O. (2004) Cryopreservation and culture of human ovarian cortical tissue containing early follicles, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, V.113. Suppl. -S50–54.
- [6] Oktay K., Newton H., Gosden R.G. (2000) Transplantation of cryopreserved human ovarian tissue results in follicle growth initiation in SCID mice, *Fertil. Steril.*, V.73. P.599–603. DOI:[http://dx.doi.org/10.1016/S0015-0282\(99\)00548-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0015-0282(99)00548-8)
- [7] Dolmans M.-M., Jadoul P., Gilliaux S., Amorim C.A., Luyckx V., Squifflet J., Donnez J., Van Langendonck A. (2013) A review of 15 years of ovarian tissue bank activities, *J. Assist. Reprod. Genet.* V.30. P.305–314. doi: 10.1007/s10815-013-9952-x
- [8] Donnez J., Jadoul P., Pirard C., Hutchings G., Demylle D., Squifflet J., Smits J., Dolmans M.-M. (2012) Live birth after transplantation of frozen-thawed ovarian tissue after bilateral oophorectomy for benign disease, *Fertil. Steril.*, V.98. P.720–725. doi: 10.1016/j.fertnstert
- [9] Donnez J., Silber S., Andersen C.Y., Demeestere I., Piver P., Meirou D., Pellicer A., Dolmans M.-M. (2011) Children born after autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue. a review of 13 live births, *Ann. Med.*, V.43. P.437–450. doi: 10.3109/07853890.2010.546807
- [10] Isachenko V., Isachenko E., Keck G., Dittrich R., Montag M., van der Ven H., Mallmann P., Müller A., Distler W., Beckmann M.W., Rahimi G. (2012) First live birth in Germany after re-transplantation of cryopreserved ovarian tissue: original device for initiation of ice formation, *Clin. Lab.*, V.58. P.933–938. DOI: 10.7754/Clin.Lab.2013.130239
- [11] Amorim C. a, Van Langendonck A., David A., Dolmans M.-M., Donnez J. (2009) Survival of human pre-antral follicles after cryopreservation of ovarian tissue, follicular isolation and in vitro culture in a calcium alginate matrix, *Hum. Reprod.* V.24. P.92–99. DOI:<https://doi.org/10.1093/humrep/den343>

- [12] Dolmans M.-M., Martinez-Madrid B., Gadisseux E., Guiot Y., Yuan W.Y., Torre A., Camboni A., Van Langendonck A., Donnez J. (2007) Short-term transplantation of isolated human ovarian follicles and cortical tissue into nude mice, *Reproduction*, V.134. P.253–262. DOI:10.1530/REP-07-0131
- [13] Bertoldo M.J., Duffard N., Bernard J., Frapsauce C., Calais L., Rico C., Mermillod P., Locatelli Y. (2014) Effects of bone morphogenetic protein 4 (BMP4) supplementation during culture of the sheep ovarian cortex, *Anim. Reprod. Sci.*, V.149. P.124–134. doi: 10.1016/j.anireprosci.2014.07.010.
- [14] Isachenko V., Mallmann P., Petrunina A.M., Rahimi G., Nawroth F., Hancke K., Felberbaum R., Genze F., Damjanoski I., Isachenko E. (2012) Comparison of in vitro and chorioallantoic membrane (CAM)-culture systems for cryopreserved medulla-contained human ovarian tissue, *PLoS One.*, V.7. P.1-9. doi: 10.1371/journal.pone.0032549
- [15] Chin Siang Kue, Kae Yi Tan, May Lynn Lam, and Hong Boon Lee (2015). Chick embryo chorioallantoic membrane (CAM): an alternative predictive model in acute toxicological studies for anti-cancer drugs. *Exp. Anim.* 64(2), 129–138
- [16] Isachenko V., Orth I., Isachenko E., Mallmann P., Peters D., Schmidt T., Morgenstern B., Foth D., Hanstein B., Rahimi G. (2013) Viability of human ovarian tissue confirmed 5 years after freezing with spontaneous ice-formation by autografting and chorio-allantoic membrane culture, *Cryobiology*, V.66. P.233–238. doi: 10.1016/j.cryobiol.
- [17] Telfer E.E., Zelinski M.B. (2013) Ovarian follicle culture: advances and challenges for human and nonhuman primates, *Fertil. Steril.* V.99. P.1523–1533. doi:10.1016/j.fertnstert.
- [18] Xu M., Kreeger P.K., Shea L.D., Woodruff T.K. (2006a) Tissue-engineered follicles produce live, fertile offspring, *Tissue Eng.*, V.12. P.2739–2746. DOI:10.1089/ten.2006.12.2739
- [19] Xu M., West E., Shea L.D., Woodruff T.K. (2006b) Identification of a stage-specific permissive in vitro culture environment for follicle growth and oocyte development, *Biol. Reprod.*, V.75. P.916–923. DOI:10.1095/biolreprod.106.054833
- [20] Samaneh Sadeghina and et al. (2016) Development of sheep primordial follicles encapsulated in alginate or in ovarian tissue in fresh and vitrified samples. *Cryobiology*. 72(2):100-5. doi: 10.1016/j.cryobiol.2016.03.001
- [21] Soleimani R, Heytens E, Oktay K. (2011) Enhancement of neoangiogenesis and follicle survival by sphingosine-1-phosphate in human ovarian tissue xenotransplants. *PLoS One.* 6:e19475. doi:10.1371/journal.pone.0019475
- [22] Mattson MP, Chan SL. (2003) Calcium orchestrates apoptosis. *Nature Cell Biol.* 5:1041–1043. PMID: 14647298
- [23] Chiarugi A, Moskowitz MA. (2002) PARP-1—a perpetrator of apoptotic cell death? *Science.* 297:259–263. PMID: 12114629
- [24] Vermes I, Haanen C, Reutelingsperger CPM. (1995) A novel assay for apoptosis: flow cytometric detection of phosphatidylserine detection of phosphatidylserine expression on early apoptotic cells using fluorescence labeled annexin V. *J Immunol Methods.* 184:39–51. PMID: 7622868
- [25] Isachenko E, Isachenko V, Nawroth F, Rahimi G, Weiss JM. (2009) Effect of long-term exposure at suprazero temperatures on activity and viability of human ovarian cortex. *FertilSteri.* 91:1556–1559. doi:10.1016/j.fertnstert

А. С. Сейсенбаевна^{1,2}, В. В. Исаченко², Е. М. Тойшибеков¹

¹Институт экспериментальной биологии, Алматы, Казахстан,

²Кёльнский университет, Клиника акушерства и гинекологии, Лаборатория IVF/ Cryo-Lab, Кёльн, Германия,

³Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан

ИЗУЧЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ЗАМОРОЖЕННО-ОТТАЯННОЙ ОВАРИАЛЬНОЙ ТКАНИ С ПОМОЩЬЮ КСЕНОТРАНСПЛАНТАЦИИ SCID МЫШАМ

Аннотация. Целью наших исследований являлось изучение жизнеспособности овариальной ткани женщин после предварительного охлаждения ткани перед замораживанием с помощью методов ксенотрансплантации и проточной цитометрии. Овариальные фрагменты от девяти пациентов были разделены на маленькие кусочки и поделены на две группы: 1) группа, овариальную ткань сразу замораживали после операции без предварительного охлаждения, затем их оттаивали и пересадили SCID мышам, после 45 дневного культивирования проанализировали их качества; 2) группа, овариальную ткань замораживали после предварительного охлаждения при 5°C температуре в течение 24 ч, затем их оттаивали и пересадили SCID мышам, после 45 дневного культивирования проанализировали их качества. Эффективность предварительного охлаждения оценивали с использованием гистологического исследования и FACS-анализа (проверка транслокации фосфатидилсерина с FITC-аннексином V и йодидом пропидия). Процент морфологически нормальных преантральных фолликулов составил 86% и 89% для 1 и 2 группы соответственно ($P > 0,1$). Результаты FACS-анализа показали значительное уменьшение интенсивности транслокации фосфатидилсерина после предварительного охлаждения замороженной ткани (33,9%) в отличие от ткани, замороженной без предварительного (57,7%) охлаждения ($P < 0,5$). Было выявлено, что предварительное охлаждение овариальной ткани при 5°C температуре в течение 24 ч перед замораживанием положительно влияет на жизнеспособность фолликулов после размораживания.

Ключевые слова: овариальная ткань, фолликулы, криоконсервация, ксенотрансплантация, SCID мыши, жизнеспособность.

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.