ТҰЖЫРЫМДАМА

Өсікбаева Сәния Өмірханқызының

диссертациясына **«Табиғи полифенолдардың қалыпты және қуық асты без ісігінің митохондриалдық метаболизміне әсер ету механизмдері»**

тақырыбындағы

6D060700 – «Биология» мамандығы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін дайындаған

Диссертациялық жұмыстың жалпы сипаттамасы. Диссертациялық жұмыс табиғи полифенолдардың қалыпты және қуық асты без ісігі клеткаларының митохондриалдық метаболизміне *in vitro* жағдайында әсер ету механизмдерін зерттеуге арналған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. Қуық асты без ісігі екінші орынды иеленетін ерлер арасында ең жиі таралған обыр түрі болып табылады. 2018 жылғы жағдай бойынша, тоғыз ер адамның біреуі өмір сүру барысында простата қатерлі ісігімен диагностикаланады. Қазақстанда сырқаттанушылық құрылымы бойынша 2018 жылы қуықасты безі обырымен сырқаттанушылық ерлер арасында 3-ші орынды алды (Қазақстан Республикасы онкологиялық қызметінің 2018 жылғы көрсеткіштері Д.Р. Қайдарованың редакциясымен).

Табиғи полифенолдардың обыр және қалыпты қуық асты без ісігінің митохондриальды метаболизміне әсер ету механизмдерін зерттеу цитотоксикалық әсерін төмендету және емдеу тиімділігін арттыру үшін оларды химиотерапиямен бірге пайдалану кезінде терапиялық тәсілдерді әзірлеуге мүмкіндік береді. Полифенолдарды пайдалану тиімділігі диеталық өнімдердегі олардың саны мен биожетімділігіне тікелей байланысты. Өз кезегінде олардың әсері химиялық құрылымға (полимеризация, этерификация, ацетилдеу, метилдеу және этерификация), тағамдық матрикс пен метаболизмге байланысты. Сонымен қатар, асқорыту жолында барлық полифенолдардың абсорбциясының тиімділігі әртүрлі, бірқалыпты емес, бұл олардың модуляциялайтын сигналдық жолдарға әсер етуіне әсер етеді.

Полифенолдар негізгі протеиндерді тарату және метастаз немесе апоптоз кезінде организмдегі жасушалардың дифференциациясымен байланысты сигналдық каскадтарда модуляциялайды. Полифенолдар жемістерде, көкөністерде, дәндерде кездесетін табиғи тағамдық қосылыстар болып табылады. Бүгінгі күні адам рационында 8000-нан астам полифенолды қосылыстар сәйкестендірілген. Полифенолдардың молекулалары бір немесе бірнеше гидроксильді (OH) топтардан тұратын, яғни полигидроксильді коньюгаттар болып табылатын өсімдіктердің қайталама метаболиттері ретінде сәйкестендіріледі. Ең көп таралған полифенолдар олардың химиялық құрылымына және бір-бірімен байланысты фенол сақиналарының санына бағдарлануына байланысты әртүрлі топтарға жіктелген. Олар төрт негізгі ішкі сыныпқа бөлінеді: фенол қышқылдары, стильбендер, куркуминоидтар және флавоноидтар, олардың фенол қышқылдары мен флавоноидтары тиісінше 30 және 60% құрайды. Жасуша сигналдық жолдарын, оның ішінде өсу факторын, ісік некрозы факторының рецепторы, ферменттер және

протеинкиназа (C и EGFR) тежей отырып, куркуминоидтардың бірі – куркумин және оның туындылары қабынуға қарсы, тотығуға қарсы және антиканцерогенді қасиеттерге ие, жасушалық сигнал жолдарын тежейді Parsai S. et. al., 2014). Куркумин қуықасты безі обырының өміршеңдігін тежейді және жасушалардың апоптозын индукциялайды. Куркумин қуықасты безі обырының жасушалық желісінде (PC3) экспрессияны, қуық асты безі обырының канцерогенезіндегі негізгі сигналдық молекуланы және метастатикалық прогрессияны басатындығы көрсетілген. Куркумин жасушадан тыс сигналды-реттелетін киназаның фосфорланған және остеопонтиннің/интегриннің сигналдық жолын модуляциялау арқылы өсудің эндотелиалдық факторы (VEGF) айтарлықтай бәсеңдетеді. Бұл сондай-ақ ангиогенезбен байланысты MMP-9 белсендіруін тудырады, VEGF секрециясын реттеу және сүйек метастазданатын простата обыры жасушаларындағы ангиостатин (PC3). Куркумин эндоплазмалық ретикулум белсенділігінің модуляторы ретінде қуықасты безі обырының метастаздарынан қорғаудың тиімді құралы болып табылады.

Карназол қышқылы обырға қарсы қасиеттерге, миға және қуық асты без ісігі обырының жасушалық желілерінде елеулі тежейтін және цитотоксикалық қасиеттерге ие, бұл 6,25 мкг/мл концентрациясы кезінде 48 сағат бойы емдегенде жасушалық желілер жасушаларының өміршеңдігін тиісінше 13 және 20% - ға дейін төмендетеді. Сонымен қатар, карназол қышқылы адам қолқасының эндотелиалды жасушаларында төмен тығыздықтағы липопротеиндердің тотығуының және жасушалардағы Caco-2 тотығу стрессінің алдын алады.

Егеуқұйрықтардың бауыр микросомаларында және бас миының фосфолипидті липосомаларында карназол қышқылының әсерінен липидтердің асқын тотығу процестері тежеледі. Карнозол қышқылы *in vitro* жағдайында антиоксиданттық белсенділігіне жан-жақты зерттеу жүргізілді. Карнозол қышқылының АФҚ және липидті радикалдарға әсер етудің түрлі тәсілдері көрсетілген, бұл дитерпеноидты тандемді ерекше және тиімді антиоксиданттық жүйе етеді.

Демек, онкологиялық аурулардың алдын алу мен емдеудің өзекті бағыты ісіктердің дамуына ағзаның тұрақтылығын арттыратын және жүргізілген сәулелік немесе химиотерапиядан кейін ісіктің қайталану мүмкіндігін төмендететін табиғи қосылыстарды іздеу, сондай-ақ олардың әсер ету механизмдерін зерттеу болып табылады. Тиімді тәсіл - әртүрлі әсер ету механизмдерімен препараттардың үйлесуі бар ісікке қарсы біріктірілген фитотерапия болып ұсынылады.

Зерттеудің мақсаты. Табиғи полифенолдардың қалыпты және қуықасты безі ісік клеткаларының митохондриальды метаболизміне әсері кезінде жасушалық механизмдерді зерттеу болып табылады.

Зерттеу міндеттері:

1) табиғи полифенолдардың: куркумин мен карназол қышқылының қалыпты және қуық асты без ісігі клеткаларына цитотоксикалық әсерін және тиімді дозасын анықтау;

2) қалыпты және қуық асты без ісігі клеткаларының пролиферациясына куркумин мен карназол қышқылының жекелеген және комбинацияда әсер ету механизмдерін зерттеу;

3) қалыпты және қуық асты без ісігі клеткаларының митохондрияларының мембраналық потенциалына және тотығу стресіне полифенолдардың әсерін талдау;

4) табиғи полифенолдардың комбинациялық әсерін қуық асты без ісігі клеткаларының тыныс алу қызметін зерттеу;

5) қуық асты без ісігі клеткаларының циклына куркумин және карназол қышқылының комбинациялық әсерінің ерекшеліктерін көрсету.

Зерттеу объектісі. Қуық асты без ісігі клеткасы - DU145 (ми бөлімдерінде таралады) және қуық асты без ісігі клеткасы - PC3 (агрессивті, сүйектерде таралады) американдық типтік коллекциясынан алынған, 70-ші өсірілімге дейін пайдаланылады (Manassas, АҚШ). Жасушалар өсімі үшін қосымша 10% фетальды бұқа сарысуы (FBS) толықтырылып Roswell Park Memorial Institute 1640 (1640 RPMI) ортасында сақталады. Эпителиальді қуық асты безі - PrEC гентамициннен басқа өндірушінің хаттамасына сәйкес барлық қажетті қоспалармен ұсынылған ортада өсіріледі және 5 пассажға дейін қолданылады. HCT116 жасушалары типтік дақылдардың американдық коллекциясынан сатып алынды және 65 пассажға дейін қолданылады (Manassas, АҚШ). 2-амино - 2-(гидроксиметил) пропан-1,3-диол (Trizma негізінде) Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI, U.S. A.) сатып алынды.

Зерттеу әдістері. Клеткаларды in vitro жағдайында өсіру, флуоресцентті спектроскопия (Platereader, Flowcytometer), BD Accuri C6 ағын цитометриясы, респирометрия (OROBOROS Oxygraph-2K), микроскопия (Leica MZ16F), конфокальды микроскопия (Olympus FluoView), деректерді статистикалық өңдеу (GraphPad Prism).

Зерттеудің ғылыми жаңалығы

- Алғаш рет табиғи полифенолдар куркумин және карназол қышқылының қуық асты безі ісігі және қалыпты қуық асты безі жасушаларына әсерін салыстырмалы зерттеу жүргізілді.

- Алғаш рет қуық асты безі ісігі және қалыпты қуық асты безі жасушаларының митохондриальді метаболизміне куркумин мен карназол қышқылының аралас әсерінің ісікке қарсы белсенділігіне зерттеулер жүргізілді: мембраналық потенциал және тотығу стрессі.

- Куркумин мен карнозол қышқылының синергетикалық әсері анықталды және осы полифенолдардың терапевтік белсенділігі анықталды.

- Табиғи полифенолдардың комбинаторлық әсері куркуминнің 7 мкМ және карнозол қышқылының 5 мкМ комбинаторлық әсері қуық асты безі ісігі жасушаларының тыныс алуын арттырады.

- Алғаш рет табиғи полифенолдар - куркумин мен карназол қышқылының аралас әсері кезінде қуық асты безі ісігі жасушаларының жасушалық циклдерінің ерекшеліктері анықталды.

Жұмыстың теориялық маңыздылығы цитотоксикалық әсерін төмендету және қуықасты безі ісігін емдеуде тиімді әсерді арттыру үшін

оларды химиотерапиямен бірге пайдалану кезінде терапиялық тәсілдерді әзірлеу үшін куркумин мен карназол қышқылының табиғи полифенолдарының рөлін белгілеу болып табылады. Жасушалық механизмдерге: мембраналық потенциалға, тотығу стресіне, жасушалардың тыныс алуына және жасушалық циклға табиғи полифенолдардың әртүрлі концентрацияларының комбинациялық және бөлек әсері анықталды.

Карназол қышқылы мен куркуминнің цитотоксикалық және оңтайлы шоғырлануы және олардың үйлескен әсері анықталған.

Жасушалық циклге аралас әсер ету кезінде полифенол - куркумин 7 мкМ және карназол қышқылы 5 мкМ G1 фазасында простата обыр жасушаларының өсуін тежейтіні анықталды.

Полифенолдардың аралас әсері кезінде жасушалардың митохондрийінің мембраналық потенциалының төмендегені және тыныс алудың ынталануы байқалғаны анықталды.

Практикалық маңыздылығы. Зерттеудің практикалық құндылығы Қазақ онкология және радиология ғылыми–зерттеу институтында табиғи полифенолдарды пайдаланудың жаңа әдістерін енгізу және олардың қуық асты безі жасушаларына әсері болып табылады (енгізу актілері №2 - 2017ж., №3 – 2019ж., №4 – 2019ж. – А Қосымшасы). Енгізу түрі: жануарларға презентациямен және практикалық сабақтармен мастер-класс өткізілді.

Сондай–ақ алынған мәліметтер биология бағыты бойынша студенттер, магистранттар және докоранттар үшін «простата обыр жасушаларының митохондриалды метаболизміне куркуминнің әсер ету механизмі» тақырыбында оқу процесіне енгізілді (аяқталған ғылыми – зерттеу жұмысын 2018ж. оқу процесіне енгізу туралы акт-Б қосымшасы).

Қорғауға ұсынылатын негізгі ережелер: цитотоксикалық әсерлері және табиғи полифенолдар куркумин мен карназол қышқылының қалыпты және қуық асты безі ісігі жасушаларына әсер етудің оңтайлы дозасы олардың концентрациясы мен әсер ету ұзақтығына байланысты;

Куркумин және карнозол қышқылы аралас әсерде қуық асты безі ісігі (DU145) жасушаларында және эпителиалды жасушаларында (PreC) тыныс алуды арттырады, бірақ PC3 желісінің простата обыр жасушаларында тыныс алудың тежелуі байқалады.

Полифенолдар - куркумин мен карназол қышқылының аралас әсері кезінде митохондрийдің мембраналық потенциалы - уақыт пен концентрациясына байланысты төмендейді;

Полифенолдардың қуық асты безі және эпителиалды жасушаларына аралас әсері уақыт бойынша тотығу стрессіне әкеледі;

Куркумин мен карназол қышқылының қуық асты безі жасушаларының жасушалық циклына біріктірілген әсері полифенолдардың концентрациясына байланысты.

Тұжырымдар.

1. Куркумин мен карназол қышқылының цитотоксикалық концентрациялары анықталды және 7 мкМ куркуминнің және 5 мкМ карназол қышқылының оңтайлы дозалары анықталды.

2. Табиғи полифенолдар куркумин және карназол қышқылы қуықасты безі ісігі жасушаларының пролиферативті қабілетінің тежелуіне әсер ететіні анықталды.

3. Полифенолдардың біріктірілген әсері қуықасты безі ісігі жасушаларында мембрананың митохондриясының потенциалын төмендетеді.

4. Куркумин және карназол қышқылының комбинациясы тотығу стрессіне әкеледі.

5. Куркумин мен карназол қышқылының комбинациясы қуықасты безі ісігі жасушаларында тыныс алу процесін ынталандыруға әкеледі.

6. Полифенолдар комбинацияда қуықасты безі ісігі жасушаларының жасушалық циклін тежейтіні анықталды.

Негізгі ғылыми жұмыстар жоспарымен байланыс.

Жұмыс қуықасты безінің обырын зерттеу үшін (жоба жетекшісі Дрексель университетінің профессоры З.С. Орынбаевамен) және «Cornelius Beukenkamp» (2014-2015г.ж.), «Louise» және «Bessie Stein Fellowship» (2014-2015ж.) қорларымен, сонымен қатар биофизика және биомедицина кафедрасында «биофизика және биомедицинаның заманауи мәселелері» (2013-2018г.ж. ж.) тақырыбы бойынша тақырып жетекшісі профессор С.Т. Тулеухановпен жүргізілді.

Зерттеу нәтижелері және диссертациялық жұмыстың негізгі ережелері халықаралық конференцияларда ұсынылды және баяндалды:

1. Frontiers in basic cancer research – October 23-26. Pennsylvania Convention Center, Philadelphia, USA. 2015;

2. XXIII Халықаралық ғылыми-практикалық конференция «XXI ғасыр зерттеулеріндегі әлемдік ғылыми ойдың өршу процестері» (М-23) №24, Section 7, Қазан. – 2015ж.;

3. First annual International Research Showcase, Philadelphia. USA. May 26., 2016;

4. European Bioenergetics Conference. Riva del Garda, Италия. - July 2-7, 2016.;

5. «Фараби әлемі» студенттер мен жас ғалымдардың ғылыми конференциясы, Алматы, Қазақстан 2017 ж.;

6. VI - Қазақстанның онкологтары мен радиологтарының съезі – халықаралық қатысумен. Алматы 2017ж.;

7. . «Медицинаның өзекті мәселелері» халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференциясы. Баку, Әзірбайжан, 2-3 мамыр 2018ж.;

8. ТМД және Еуразия елдерінің онкологтары мен радиологтарының X съезі. Ресей, Сочи, 23-25 сәуір 2018ж.;

9. Экологиялық генетика және эксперименттік биологияның өзекті мәселелері» атты халықаралық ғылыми - практикалық конференция. – Алматы.- 2018 ж.;

10. Халықаралық қатысумен Қазақстан онкологтары мен радиологтарының VII съезі. Қазақстан, Нұр-Сұлтан, 17-18 қазан, 2019 ж.

Жарияланымдар. Зерттеу нәтижелері 16 ғылыми еңбектерде жарияланды, оның ішінде: 1 мақала Web of Science және Scopus базасында

индекстелетін, 3 мақала Қазақстан Республикасы Білім және ғылым саласындағы бақылау комитетінің тізіміндегі басылымдарда; 12 тезис халықаралық конференциялардың еңбектерінде.

Диссертацияның құрылымы. Диссертациялық жұмыс 120 беттен тұрады: кіріспе, әдеби шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері және оларды талқылау, қорытынды, пайдаланылған әдебиеттер тізімі. Пайдаланылған әдебиеттер саны-304. Эксперимент барысында алынған нәтижелер мен деректер 26 суретте және 1 кестеде, 4 қолданбада көрсетілген.