

Естемірова Гүлфира Әбдіқайымқызы

«8D05101 – Биология» білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін дайындалған диссертациясына

АНДАТПА

Биоактивті табиғи заттардың жаңа цитотоксикалық және дифференциялаушы қосындыларының антилейкемиялық белсенділігі

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

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

Қазіргі таңда, бірнеше зерттеулерде лейкоздық клетка модельдеріне кейбір табиғи агенттердің қорғаныштық әсері *in vitro* деңгейінде көрсетілген. Мысалы, D дәруменінің белсенді метаболиттерін қолдану лейкоздық клетка линияларында дифференцияны күшейтетін қасиетке ие екені анықталған. Сонымен қатар, ұқсас *in vitro* зерттеулерде *Curcuma longa* L. тамырында болатын полифенол — куркуминнің лейкоздық клеткалардың пролиферациясын айтарлықтай тежейтіні көрсетілген. Алайда, жоғарыда аталған агенттердің антилейкемиялық қасиеттеріне қарамастан, олардың жеке немесе комбинациясы жануарлар модельдерінде ББ-ның зиянды әсерінен қорғау немесе оның салдарын жұмсарту әсері *in vivo* жағдайда бүгінгі күнге дейін зерттелмеген. Бұл зерттеу жұмысы D₃ дәрумені мен куркуминнің *in vitro* жағдайдағы антилейкемиялық белсенділігін негізге ала отырып, D₃ дәрумені мен *Curcuma Longa* L. тамыр ұнтағының ББ-ның

уыттылығына қарсы профилактикалық әсерін және оның теріс салдарын жеңілдетуді *in vivo* тәжірибеде зерттеуге бағытталған.

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

Зерттеу жұмысының міндеттері:

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

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

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

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

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

Зерттеу нысандары. HL60 миелобластикалық лейкоз клеткалық линиясы; *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы (Kevala International LLC); үш айлық тұқымсыз ақ аталық егеуқұйрықтардың дене салмағы өлшеніп, өкпе, бауыр, бүйрек, көкбауыр және қаны зерттелді.

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

Зерттеудің ғылыми жаңалықтары:

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

2. Алғашқы рет бензин буымен интоксикация аясында D₃ дәрумені

мен *Curcuma longa* L. тамыр ұнтағының жеке және олардың комбинациясының егеуқұйрықтардың қан биохимиясына және гематологиялық параметрлеріне әсері 30, 60 және 90 күн бойында зерттелді.

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

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

Жұмыстың ғылыми және практикалық маңызы. Осы, клиникаға дейінгі *in vitro* және *in vivo* зерттеулерден алынған нәтижелер, D₃ дәрумені мен куркумин/*Curcuma longa* L. тамыр ұнтағы арасындағы антагонистік әрекеттестіктердің ашылуы бензин буының уытты әсерлерін болдырмау немесе оларды жұмсарту үшін, екі агенттің комбинацияланған терапиясын әзірлеу кезінде мұқият қарауды қажет ететінін көрсетеді. Сонымен қатар, бензин буының зиянды әсерін азайтуға бағытталған профилактикалық шаралар мен терапиялық тәсілдерді дайындау үшін пайдаланылуы мүмкін. Алынған эксперименттік нәтижелер, әсіресе, бензин буының әсеріне ұшырау қаупі жоғары адамдарға, мысалы, мұнай өңдеу зауыттары мен жанармай құю станцияларының қызметкерлері үшін маңызды.

Қорғауға шығарылған негізгі қағидалар.

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

2. Фитохимиялық зерттеулер *Curcuma longa* L. тамыры ұнтағының құрамында негізгі куркуминоидтар: куркумин, деметоксикуркумин және бисдеметоксикуркуминнің жоғары концентрациясы анықталды. Сонымен қатар, флавоноидтар, таниндер, алкалоидтар және сапониндер анықталды.

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

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

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

Зерттеу жұмысының негізгі нәтижелері және қорытындылары

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

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

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

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

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

Автордың жұмыстағы жеке үлесі.

Зерттеліп отырған мәселе бойынша әдеби деректерді талдау, жұмыстың мақсаты мен міндеттерін анықтау, эксперименттер жүргізу, зерттеу нәтижелерін өңдеу, алынған мәліметтерді статистикалық талдау,

мақалаларды жариялауға дайындалу, алынған нәтижелерді интерпретациялау және рәсімдеу, негізгі нәтижелерді диссертацияда баяндау — осының бәрі бірлескен авторлардың қатысуымен жүзеге асырылды.

Жұмыстың ғылыми зерттеу бағдарламасымен байланыстылығы.

Диссертациялық жұмыс диссертанттың және ғылыми жетекшілердің жеке орындаған жұмысы болып табылады. *in vitro* эксперименттер Бен-Гурион атындағы университетінің Денсаулық жайлы ғылым факультеті, клиникалық биохимия және фармакология кафедрасының зертханасында жүргізілді (Негев, Беэр-Шева, Израиль). Фитохимиялық зерттеулер әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің Дәрілік өсімдіктерді зерттеу орталығында (Алматы, Қазақстан) жүргізілді. *in vivo* эксперименттер әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің виварий орталығында, РГП «Адам және жануарлар физиологиясы институты» (Алматы, Қазақстан) КҒМ Жергілікті этикалық комиссиясымен бекітілген протоколға сәйкес (№ 12-28, 2023 жылғы 3 ақпан) жүргізілді.

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

1. Халықаралық студенттер мен жас ғалымдар конференциясы «Фараби әлемі», 2020 ж. 6-9 сәуір, Алматы, Қазақстан;
2. Жас ғалымдар, магистранттар, студенттер мен оқушыларының халықаралық ғылыми конференциясы «ХХ Сәтбаев оқу оқулары», 2020 ж. 10 сәуір, Павлодар, Қазақстан;
3. Халықаралық студенттер мен жас ғалымдар конференциясы «Фараби әлемі», 2021 ж. 6-8 сәуір, Алматы, Қазақстан.
4. Диссертацияның негізгі нәтижелері әр жарты жылдық сайын әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің Биология және биотехнология факультетінің, биоалуантүрлілік және биоресурстар кафедрасының мәжілістерінде тыңдалды.

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

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