

## АННОТАЦИЯ

к диссертации, подготовленной для получения степени доктора философии (PhD) по образовательной программе «8D05101 – Биология»

**Естемірова Гүлфира Әбдіқайымқызы**

### **Антилейкемическая активность новых цитотоксических и дифференцирующих комбинаций биоактивных природных веществ**

**Общая характеристика работы.** Работа представляет собой исследование антилейкемической активности новых цитотоксических и дифференцирующих комбинаций биоактивных природных веществ *in vitro* и их потенциальное защитное действие против токсического воздействия паров бензина *in vivo* в экспериментах.

**Актуальность темы исследования.** Быстрый рост численности населения, увеличение количества автомобилей и автозаправочных станций (АЗС), а также увеличение числа промышленных заводов – приводят к загрязнению воздуха. Загрязнение воздуха парами бензина (ПБ) является одной из самых серьезных экологических угроз для планеты, включая здоровье человека. Бензин является известным канцерогеном, которое содержит более 150 углеводородов. Исследования показали, что у работников нефтеперерабатывающих заводов и АЗС, которые постоянно подвергаются воздействию ПБ, повышен риск развития опухолей легких, почек, мочевого пузыря и гематологических опухолей, включая лейкемию. Лейкемия, или лейкоз – является злокачественным заболеванием системы кроветворных органов. По данным ВОЗ, в 2022 году лейкоз составлял 2,4% всех онкологических заболеваний в мире, занимая 13-е место, в то время как в Казахстане этот показатель составлял 1,8%, занимая 15-е место среди опухолевых заболеваний в стране. Поэтому разработка мер по защите от токсического воздействия ПБ и смягчению их последствий является актуальной задачей. Однако в настоящее время этому вопросу уделяется недостаточно внимания. Одним из методов профилактики онкологических заболеваний является поиск природных соединений, повышающих устойчивость организма и компенсаторно-адаптационные реакции.

В настоящее время в нескольких исследованиях продемонстрировано защитное действие некоторых природных агентов на модели лейкозных клеток на уровне *in vitro*. Например, установлено, что использование активных метаболитов витамина D обладает свойством усиливать дифференциацию в линиях лейкозных клеток. Кроме того, в аналогичных исследованиях *in vitro* показано, что полифенол куркумин, содержащийся в корне *Curcuma longa* L., значительно подавляет пролиферацию лейкозных клеток. Однако, несмотря на антилейкемические свойства вышеупомянутых агентов, их индивидуальное или комбинированное применение для защиты от вредного воздействия или смягчения последствий ПБ на животных моделях в условиях *in vivo* до настоящего времени не изучено. Данное исследование направлено на изучение профилактического действия витамина

D<sub>3</sub> и порошка корня *Curcuma Longa* L. против токсичности ПБ и смягчения его негативных последствий в опытах *in vivo*, основываясь на антилейкемической активности витамина D<sub>3</sub> и куркумина в условиях *in vitro*.

**Цель исследования:** Изучение антилейкемической активности новых цитотоксических и дифференцирующих комбинаций биоактивных природных веществ.

**Задачи исследования:**

1. Выявить дифференцирующее и антипролиферативное действие 1,25D<sub>3</sub>, куркумина и их комбинации на лейкозные клетки;
2. Определить фитохимический состав порошка корня *Curcuma longa* L.;
3. Исследовать влияние витамина D<sub>3</sub>, порошка корня *Curcuma longa* L. и их комбинации на динамику массу тела, а также макроскопические и микроскопические изменения лёгких, печени, почки, селезёнки крыс при интоксикации парами бензина в течение 30, 60 и 90 дней;
4. Изучить влияние витамина D<sub>3</sub>, порошка корня *Curcuma longa* L. и их комбинации на изменения биохимических показателей крови крыс при интоксикации парами бензина в течение 30, 60 и 90 дней;
5. Изучить влияние витамина D<sub>3</sub>, порошка корня *Curcuma longa* L. и их комбинации на изменения гематологических показателей крыс при интоксикации парами бензина в течение 30, 60 и 90 дней.

**Объекты исследования.** Клеточная линия миелобластического лейкоза HL60; порошок корня *Curcuma longa* L. (Kevala International LLC); трёхмесячные беспородные белые самцы крыс, у которых измерялась масса тела и исследовались лёгкие, печень, почки, селезёнка и кровь.

**Методы исследования:** Культивирование клеток *in vitro*, метод проточной цитометрии (CytoFLEX S, Kaluza 2.1., Beckman Coulter, Калифорния, США), метод подсчета и определение жизнеспособности клеток с помощью окрашивания трипановым синим (Vi-Cell<sup>®</sup> XR Cell Viability Analyzer, Beckman Coulter, Калифорния, АКШ), метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (Shimadzu LC-40, Shimadzu Corporation, Киото, Япония), взвешивание массы тела (CAS SW-5, CAS Corporation, Сеул, Южная Корея), макроскопические, гистологические (MicroOptix MX 300 T, Micro-Optix, Винер-Нойдорф, Австрия), биохимические (HumaStar 100, Human Diagnostics Worldwide, Висбаден, Германия), гематологические (Advia-2120i, Siemens, Мюнхен, Германия), статистическая обработка данных (GraphPad Prism 6.0, GraphPad, Сан-Диего, Калифорния, США).

**Научная новизна исследования:**

1. Впервые исследовано защитное действие витамина D<sub>3</sub> и порошка корня куркумы по отдельности каждый, и их комбинированный эффект на массу тела, легкие, печень, почки и селезенка крыс на фоне интоксикации парами бензина в течение 30, 60 и 90 дней в эксперименте.
2. Впервые изучено защитное действие витамина D<sub>3</sub> и порошка корня куркумы по отдельности каждый, и их комбинированный эффект на биохимические и гематологические параметры крови крыс на фоне

интоксикации парами бензина в течение 30, 60 и 90 дней в эксперименте.

3. Впервые установлено, что пероральное использование витамина D<sub>3</sub> способствовало уменьшению токсичности, вызванной парами бензина у экспериментальных крыс.

4. Впервые было выявлено, что между витамином D<sub>3</sub> и порошком корня *Curcuma longa* L. существует антагонизм, который проявляется в виде отсутствия взаимодействия между ними или в том, что защитный эффект их комбинации слабее, чем индивидуальные эффекты каждого агента.

**Научная и практическая значимость работы.** Полученные в ходе доклинических *in vitro* и *in vivo* исследований результаты показывают, что выявленные антагонистические взаимодействия между витамином D<sub>3</sub> и куркумином/порошком корня *Curcuma longa* L. требуют тщательного рассмотрения при разработке комбинированной терапии для предотвращения или смягчения токсического воздействия паров бензина. Кроме того, эти результаты могут быть использованы для разработки профилактических мер и терапевтических подходов, направленных на снижение вредного влияния бензиновых паров. Полученные экспериментальные данные особенно важны для людей с высоким риском воздействия паров бензина, таких как работники нефтеперерабатывающих заводов и автозаправочных станций.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Исследования влияния 1,25D<sub>3</sub> и куркумина на клетки HL60 было установлено, что при индивидуальном приёме витамина 1,25D<sub>3</sub> наблюдается более выраженное ( $p < 0,0001$ ) дифференцирующее действие по сравнению с комбинированным лечением двумя агентами.

2. Фитохимические исследования показали, что в составе порошка корня *Curcuma longa* L. содержатся основные куркуминоиды: куркумин, деметоксикуркумин и бисдеметоксикуркумин в высокой концентрации. Кроме того, были выявлены флавоноиды, танины, алкалоиды и сапонины.

3. Прием витамина D<sub>3</sub> в течение 90 дней значительно защищал крыс от снижения массы тела, вызванного токсичностью паров бензин, а также от макроскопических и микроскопических повреждений легких, печени, почек и селезенки.

4. Порошок корня *Curcuma longa* L. и его комбинация с витамином D<sub>3</sub> оказали схожее воздействие на токсичность паров бензина у крыс, однако обеспечили менее эффективную защиту по сравнению с монотерапией витамином D<sub>3</sub>.

5. Выявлено антагонистическое взаимодействие между витамином D<sub>3</sub> и порошком корня *Curcuma longa* L., что указывает на отсутствие синергетических эффектов или даже на то, что защитная эффективность их комбинации ниже по сравнению с индивидуальными эффектами каждого агента.

#### **Основные результаты и выводы исследования:**

1. Установлено, что применение 1,25D<sub>3</sub> в концентрации 0,5 нМ вызывает дифференциацию лейкозных клеток HL60 на 1,68%, а в концентрации 1 нМ –

на 6,80%. Концентрация куркумина 2,5 мкМ снижала жизнеспособность клеток HL60 на 77,12%, а 5 мкМ – на 62,87%. Кроме того, установлено, что витамин 1,25D<sub>3</sub> в одиночном применении обладает значительно более высокой ( $p < 0,0001$ ) дифференцирующей способностью для клеток HL60 по сравнению с комбинированной терапией с куркумином.

2. Изучен фитохимический состав порошка корня *Curcuma longa* L. В результате было определено, что основные куркуминоиды, а именно куркумин (69,8 мг/г), деметоксикуркумин (31,6 мг/г) и бисдеметоксикуркумин (20,9 мг/г), присутствуют в высоких концентрациях. Кроме того, было установлено содержание флавоноидов (2,8 мг/г), танинов (27,0 мг/г), алкалоидов (15,8 мг/г) и сапонинов (41,8 мг/г).

3. Доказано, что прием витамина D<sub>3</sub> в течение 90 дней значительно защищает от потери веса и морфологических изменений легких, печени, почек и селезенки у крыс при макроскопическом и микроскопическом исследовании, вызванных токсичностью паров бензина. Порошок корня *Curcuma longa* L. и его комбинация с витамином D<sub>3</sub> обеспечивали менее эффективную защиту. При совместном применении двух агентов было обнаружено, что порошок корня *Curcuma longa* L. проявлял антагонизм к некоторым защитным эффектам витамина D<sub>3</sub>. Выявлено, что комбинированное использование этих двух агентов не обеспечивает высокой полезной активности против вредного воздействия паров бензина.

4. Доказано, что прием витамина D<sub>3</sub> в течение 90 дней защищает крыс от повышения уровней биомаркеров печени (АЛТ –  $p < 0,0001$  и АСТ –  $p < 0,0001$ ) и почек (креатинин –  $p < 0,001$  и мочевина –  $p < 0,001$ ), а также от снижения уровней белка ( $p < 0,001$ ) и глюкозы ( $p < 0,0001$ ) в крови, вызванных токсичностью бензиновых паров. При этом комбинация порошка корня *Curcuma longa* L. с витамином D<sub>3</sub>, по сравнению с витамином D<sub>3</sub>, лишь слабо нормализовала изменения указанных показателей крови.

5. Доказано, что прием витамина D<sub>3</sub> в течение 90 дней защищает крыс от снижения количества эритроцитов ( $p < 0,01$ ), гематокрита ( $p < 0,001$ ), гемоглобина ( $p < 0,05$ ), лейкоцитов, лимфоцитов ( $p < 0,01$ ), гранулоцитов ( $p < 0,05$ ) и тромбоцитов ( $p < 0,01$ ) в крови, вызванного токсичностью бензиновых паров. В то же время комбинация порошка корня *Curcuma longa* L. с витамином D<sub>3</sub>, по сравнению с витамином D<sub>3</sub>, лишь слабо нормализовала изменения концентраций этих гематологических параметров.

#### **Личный вклад автора**

Анализ литературных данных, посвященных исследуемой проблеме, определение цели и задач работы, проведение экспериментов, обработка результатов исследования, статистический анализ полученных данных, подготовка рукописей к публикации, интерпретация и оформление полученных результатов, изложение основных результатов в диссертации осуществлялись с участием совместных авторов.

#### **Связь работы с программой научных исследований**

Диссертационная работа выполнена лично диссертантом и научными руководителями *in vitro* эксперименты были проведены в лаборатории

кафедры клинической биохимии и фармакологии, факультета наук о здоровье, Университета им. Бен-Гуриона в Негеве, Беэр-Шева, Израиль. Фитохимические анализы были проведены в Центре исследования лекарственных растений Казахского национального университета им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан *in vivo* эксперименты были проведены в виверцентре Казахского национального университета им. аль-Фараби в соответствии с протоколом, утвержденным этической комиссией РГП «Институт физиологии человека и животных» КН МОН РК (№ 12-28 от 3 февраля 2023 г), Алматы, Казахстан.

#### **Апробация научной работы:**

Результаты исследования и основные положения диссертационной работы были изложены и обсуждены на следующих Международных научных конференциях:

1. Международная научная конференция студентов и молодых ученых «Фараби әлемі», 6-9 апреля 2020 года, Алматы, Казахстан;
2. Международная научная конференция молодых ученых, магистрантов, студентов и школьников «XX Сатпаевские чтения», 10 апреля 2020 года, Павлодар, Казахстан;
3. Международная научная конференция студентов и молодых ученых «Фараби әлемі», 6-8 апреля 2021 года, Алматы, Казахстан.
4. Основные результаты диссертации заслушивались каждые полгода на заседаниях кафедры биоразнообразия и биоресурсов факультета биологии и биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби.

#### **Публикации.**

Основные результаты диссертации изложены в 10 опубликованных работах: из них одна статья в международном рецензируемом журнале с импакт-фактором, входящих в базы данных Scopus и Web of Science (Q1); 6 статей в журналах из перечня изданий, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере образования и науки Республики Казахстан для публикации основных результатов научной деятельности, 3 тезисов в сборниках материалов международных конференций.

#### **Структура диссертации.**

Диссертационная работа состоит из 124 страниц компьютерного текста, знаков и аббревиатур, введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследования и их обсуждения, заключения, 220 библиографии, 3 таблиц, 41 рисунков и 1 приложений.