АННОТАЦИЯ

Диссертационной работы **Есжан Бану Газизкызы** на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности «6D060700-Биология» на тему **«Исследование молекулярных и физиологических механизмов действия препарата «Даназол» на энергетический обмен клеток молочной железы Mcf10A»**

Общая характеристика работы. Работа посвящена исследованию молекулярных и физиологичеких механизмов действия препарата «Даназол» на энергетические процессы клеток молочной железы Mcf10A **(**Michigan Cancer Foundation, клеточная линия доброкачественной опухоли) при фиброзно-кистозной мастопатии.

Актуальность темы исследования. Фиброзно-кистозная мастопатия – одна из самых серьезных и тяжелых патологий молочной железы, встречающаяся почти у 60% женщин. Причины возникновения кисты и молекулярно- физиологические механизмы фиброзно-кистозной мастопатии до настоящего времени не полностью исследованы, в связи с вышеизложенным в настоящее время актуальной проблемой является установление молекулярных механизмов фиброзно-кистозной мастопатии и не поиск новых эффективных способов их лечения.

Из-за увеличения числа пациентов с фиброзно-кистозной мастопатией проводятся многовекторные исследования с целью поиска эффективных препаратов обладающие эффективными лечебными свойствами. Известные препараты использованные в настоящее время для лечения фибрзно-кистозной мастопатии, не обладают высокой терапевтическими эффективностю.

Установлено, что данное заболевание последние годы молодеет. Имеются статистические данные говорящие о том, что фиброзно-кистозное мастопатия возникает после 30-летнего возраста, при этом существует высокий риск перехода кистозной мастопатии в злокачественного опухоль молочной железы.

Учитывая разнообразие этиопатогенетических механизмов фиброзно-кистозной мастопатии и их влияние на обменные процессы,необходимо установить клеточный обмен на определенных этапах лечение мастопатии. Следует ожидать, что положительные результаты лечения будут достигнуты только тогда, когда будут приняты во внимание вопросы всестороннего влияния клеточних метаболизмов и гормональный статус организма.

Также имеются сведения высокого риска развития данной патологии у подростков, при этом отмечено, что патологические изменения проявляется в виде узелков молочной железы.

Установлено снижение гиперплазии ткани молочной железы при мастодинии в течение продолжительного и регулярного применения Даназола. Однако из-за явного проявления побочных эффектов Даназола, женщины отказались принимать его. Тот факт, что активность и эффективность побочных явлений даназола недостаточно изучены на молекулярном уровне – отражает актуальность данного исследования.

Цель работы: Выявить молекулярные и физиологические механизмы действия препарата «Даназол» на энергетический обмен клеток молочной железы Mcf10A.

Задачи исследования:

1. Определить цитотоксичесность препарата Даназола;
2. Определение клеточных механизмов развития процесса апоптоза в клетках молочной железы Mcf10A под влиянием препарата Даназол.
3. Определение влияния препарата даназол на мембранный потенциал митохондрии клеток Mcf10A и дыхательную деятельность
4. Анализ окислительного стресса, вызванного воздействием даназола на клетки молочной железы Mcf10A
5. Исследование влияния препарата даназол на уровень цитозольного Ca^{2+} клеток молочной железы Mcf10A

Обьекты исследования. Обьектом исследования явились клетки молочной железы Mcf10A, выделенные у женщин при фиброзно-кистозной мастопатии

Методы исследования. В работе использованы культивированные клети в условиях *in vitro*, проточная цитометрия (BD Accuri C6), высокоточная респиометрия *(Oroboros Oxygraph-2k),* флуоресцентная спектроскопия (BioTek Synergy 4), микроскопия *(Leica MZ16F, Motic AE2000),* спектрофотометрия (NanoDrop), методы статистического анализа *(GraphPad Prism).*

Научная новизна исследования:

- Впервые проведены системные исследования для контроля фактического влияния препарата даназол на энергетический обмен клеток молочной железы Mcf10A. Выявлены особенности цитотоксического действие препарата даназол на клетки молочной железы Mcf10A.

- Впервые выявляли фазу остановки цикла клетки молочной железы Mcf10A под влиянием препарата даназол.
- Выявлены изменения митохондрического метаболизма клеток молочной железы Mcf10A, вызванные действием концентрации препарата даназол.
- Выявлено на метаболизм митохондрии клеток молочной железы Mcf10A действует рецепторы гормона прогестерона даназола.

Теоретическая значимость работы. Установлено влияние концентрации даназола 25,3,10 и 30мкМ на механизм клеток молочной железы Mcf10A на мембранный потенциал клетки, окислительный стресс, дыхание и пролиферацию клеток. Установлено, что концентрация даназола 10мкМ и 30 мкМ прекращает клеточный цикл клеток Mcf10A на стадиях G0/S и концентрация 30 мкМ вызвала снижение мембранного потенциала клеток Mcf10A до 77%.Также установлено, что даназол влияет на метаболизм митохондрии через рецепторы прогестерона.

Практическая значимость работы. Практическая ценность исследовании связана в использовании полифенолов природного происхождения куркумина и карназоловой кислоты и лечении раковых клеток простаты. Полученные результаты были проиллюстрированы в Казахском научно–исследовательском институте онкологии и радиологии (акты внедрения №27 2018 г. – Приложение А). Форма внедрения: проведен мастер класс с презентацией и практические занятия на животных.

Полученные результаты внедрены в учебный процесс и используются при преподовании курса «Основы физиологии животных» (акт внедрения завершенной научно–исследовательской работы в учебный процесс №3 2018 г. – Приложение Б).

Основные положения, выносимые на защиту:

1.Цитотоксические действие препарата даназол на клетки молочной железы Mcf10A связано с его концентрациями.

2.Концентрации препарата Даназол вызывают процесс апоптоза в клетках молочной железы Mcf10A.

3.Установлено, что препарат Даназол ингибирует пролиферацию клеток молочной железы Mcf10A.

4.В процессе окислительно-фосфорилирования клеток молочной железы Mcf10A показано, что на дыхательную цепь клетки влияет даназол.

5.Установлено, что Даназол влияет на метаболизм митохондрии через рецепторы прогестерона.

6.Для лечения фиброзно-кистозной мастопатии даназол рекомендован в качестве препарата, который можно использовать в лечебных целях, дающих местное действие.

Выводы.

1. Доказано, что фиброзно-кистозная мастопатия клеток молочной железы Mcf10A способствует кисте развиваться в процессе роста клетки является важной особенностью самих клеток.

2. Установлены особенности действия различных концентрации препарата «Даназол» на клеточный состав молочной железы Mcf10A, так в ходе экспериментов были определены концентрации препарата в 25 нм, 1 мкм, 3 мкм, 10 мкм и 30 мкм при его мониторинге цитотоксического действия на жизненную активности клеток. В результате наблюдалось после 24, 48 и 72 часа клеточной активности мониторинг апоптоза клетки. При концентрации 25 нм препарата «Даназол», его цитотоксическое действия на клеточную активность не был выявлен, хотя было обнаружено, что при концентрации 30 мкм, Даназол оказывал существенное влияние на жизнедеятельность клеток.

3. Установлены особенности действия препарата даназола на фиброзно-кистозную мастопатию в зависимости от ее концентрации и экспозиции. Так, как эффект получен при из концентрации 30 мкм.

4. Исследования влияния Даназола на механизм окислительного фосфорилирования клеток Mcf10A, так в экспериментах наблюдалось, что на потенциал митохондриальной мембраны после 72 часов, Даназол проявлял свои цитотоксические свойства при концентрации 30 мкм.

5. Определено, что концентрации Даназола в 10 и 30 мкм оказывали свои действия на дыхательную цепь клетки при контроле дыхательной способности клеточной линии Mcf10A.

Личный вклад автора. Все результаты диссертационной работы были получены в присутствии и личном участием автора. Автор самостоятельно провел анализ литературных данных по теме исследования, экспериментальные исследования, обработку и анализ результатов исследования, написание и оформление рукописи диссертации.

Связь с планом основных научных работ. Диссертационная работа является частью крупномасштабных исследований и поддерживалась Фондами «Cornelius Beukenkamp»(2013-2016) для изучения рака молочной и предстательной железы (руководитель проекта профессор университета Дрексель З.С. Орынбаева), направленных на установление молекулярных и

физиологических механизмов действия препарата «Даназол» на энергетический метаболизм клеток молочной железы Mcf10A. Диссертационная работа выполнена в рамке научной программы кафедры Биофизики и Биомедицины: «Актуальные проблемы современной биофизики и биомедицины (2015-2018гг)».

Апробация работы. Материалы диссертационной работы обсуждены и доложены на международных и республиканских конференциях:

- Международная научная конференция студентов и молодых ученых «Фараби әлемі» (2017, Алматы, Казахстан);
- Международная научная конференция «Актуальные проблемы экологической генетики и экспериментальной биологии» (2018, Алматы, Қазақстан);
- Международная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы медицины» (2018, Баку, Азербайджан);
- XVIII Международная научно-практическая телеконференция «Advances in Science and Technology» (2019, Россия, Москва);
- Международная научная интернет-конференция «Тенденции и перспективы развития науки и образования в условиях глобализации» (2019 г. Киев,Украина).

Публикации. Основное содержание изложено в 13 печатных работах, в том числе 1 статья в международном журнале с иммпакфактором цитируемых Thomson Reuters и Scopus, 4 статьи в республиканских научных журналов рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК, 8 тезиса в материалах конференции республиканского и международного уровня.

Структура диссертации. Диссертация изложена на 122 страниц и состоит введения, обзора литераткуры, материалов и методов исследования, результатов и обсуждения,, заключения,списка использованных источников. Количество использованной литературы 156. Работа содержит 21 рисунков, 5 таблиц.