Есжан Бану Ғазизқызының

«6D060700-Биология» мамандығы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін дайындалған диссертациясына

АҢДАТПА

«Mcf10A сүт безі клеткаларының энергетикалық метаболизміне Даназол препаратының молекулалық және физиологиялық әсерінің механизмдерін зерттеу»

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Диссертациялық жұмыс Mcf10A сүт безі клеткаларына *in vitro* жағдайында, клетка-молекулалық деңгейде даназол препараты әсерінің механизмдерін зерттеуге арналған.

Тақырыптың өзектілігі. Фиброзды-кистозды мастопатия әйелдердің 60%-ға жуығында кездесетін сүт безінің күрделі патологияларының бірі болып табылады. Фиброзды-кистозды мастопатияның киста түзілу себептері мен молекулалық механизмдері толыққанды зерттелінбеген және тиімді емдеу жолдары кеңінен енгізілмеген. Сонымен бірге фиброзды-кистозды мастопатияның қатерлі ісікке айналу қаупі жоғары деген деректер келтіріледі.

Фиброзды-кистозды мастопатияға ұшыраған науқастар санының артуына байланысты клиникалық зерттеулермен қатар әртүрлі ғылыми-зерттеу жұмыстары көптеп жүргізіле бастады және мұндай жұмыстар әлі де жалғасуда. Осындай зерттеу нәтижесінде қазіргі таңда синтетикалық және табиғи емдік заттардың түрлері көптеп ұсынылуда. Дегенмен олардың бірде біреуі осы уақытқа дейін нақты емдік нәтиже бермей отыр. Ауру сипатының күрделілігімен қатар аурудың пайда болуы да жас талғамайтын сипатқа ие екені анықталған. Фиброзды-кистозды мастопатияның туындау жиілігі 30 жастан асқан соң жоғарылайтыны туралы статистикалық мәліметтер бар.

Фиброзды-кистозды мастопатияның этиопатогенетикалық механизмдерінің көптүрлілігін және олардың метаболизм үрдістерінің дамуына да елеулі әсер ететінін ескере отырып, мастопатияны емдеу кезеңдері де бірнеше сатылы болады. Фиброзды-кистозды мастопатия ауруын емдеуде сүт безінің клетка метаболизміне жан-жақты әсері мен гормональды статусын ескере отырып табиғи факторға сәйкес келетін ем жүргізілуі ғана жақсы нәтиже беретіні ұйғарылған. Дегенмен де кейбір дерек көздерінде аталған сырқаттың жасөспірім қыздар мен бойжеткендер арасында да пайда болу қаупінің жоғары көрсеткіші анықталған. Сондықтан да сүт безінің қатерлі ісігінің алғы шарттары аталған сырқаттың асқынуларынан пайда болуы да мүмкін деген болжамдар көптеп кездеседі.

Фиброзды-кистозды мастопатия - әйелдердегі сүт безінің түйін түрінде түзілістермен ерекшеленетін қатерсіз өзгерісі. Аурудың асқыну деңгейлерін анықтау және алдын алу үшін жергілікті емдеу мекемелерінде әйел тұрғындарының жылына екі рет маммолог маманның тексерілуінен өтуін қадағалап отырады.

Сүт безіндегі пайда болған кистаның көлемі мен қатерлі ісік ауруына күдік болған жағдайда аспирациялық биопсия жасауды ұсынып, биоптат нәтижесіне қарай қатерлі ісік деңгейін сипаттайды.

Әдетте ауруды бәсеңдету үшін, көп жағдайда, ибупрофен және ацетоаминофен секілді препараттар қабылдайды. Фиброзды-кистозды мастопатия жағдайында сонымен бірге киста көлеміне қарай сұйықтықты арнайы инелермен сорып алып тастап, ауырсынуды бәсеңдету үшін гормональды препараттар тағайындалады. Солардың бірі - даназол препараты.

Даназолды тұрақты түрде қолданған уақыттар аралығында мастодиния кезінде де сүт безі ұлпаларының гиперплазиясының кішірейгені анықталған. Ал мастопатия түрлерін емдеу барысында андрогендер эстроген антогонисі ретінде қолданылады. Зертханалық жануарларға жасалған тәжірибелерде даназол әсерінің негізінде овариальды стероидогенез кезеңдерінде кейбір эссенциальды энзимдер мен гонодотропты гормонның синтезін төмендететін мүмкіндігі зерттелінген.

Даназол препараты науқастарға қолданылып келеді, дегенменде жанама әсерлерінің болуына қарай сырқаттар көп жағдайда қабылдаудан бас тартып жатады. Препараттың ағзадан сіңуі және шығарылу жолдары, мөлшері, сақтау мерзімі секілді басты талаптары көрсетілген. Дегенменде клиникада кеңінен қолданыс тапқанымен, клеткалық деңгейдегі әсер ету механизмдері туралы мәліметтер кездеспейді.

Осы мәселелерге орай Mcf10A сүт безі клеткаларының энергетикалық метаболизміне әсерін бақылап, зерттеу үшін даназолдың әсері қарастырылды.

Зерттеудің мақсаты мен міндеттері. Бұл жұмыстың мақсаты Mcf10A сүт безі клеткаларының энергетикалық метаболизміне даназол препаратының әсерінің механизмдерін зерттеу болып табылады.

Мақсатқа жету үшін келесідей негізгі **міндеттер** қойылды:

1 Даназолдың Mcf10A сүт безі клеткаларына цитотоксикалық әсерін анықтау.

2 Даназол препараты әсерінен Mcf10A сүт безі клеткаларында апоптоз процесі дамуының клеткалық механизмдерін айқындау.

3 Mcf10A клеткалары митохондрияларының мембраналық потенциалына және тыныс алу қызметіне даназол препаратының әсерін анықтау.

4 Mcf10A сүт безі клеткаларына даназолдың әсерінен туындаған тотығу стресін талдау.

5 Mcf10A сүт безі клеткаларының цитозолінің Ca^{2+} деңгейіне даназол препаратының әсерін зерттеу.

Зерттеу материалдары. Зерттеу материалы ретінде фиброзды-кистозды мастопатия сырқатымен ауыратын әйелдерден алынған Mcf10A сүт безі клеткалары қолданылды.

Зерттеу әдістері. Клеткаларды *in vitro* жағдайында өсіру, ағынды цитометрия (*BD Accuri C6),* жоғары дәлдікті респирометрия (*Oroboros Oxygraph-2k*), флуоресцентті спектроскопия (BioTek Synergy 4), микроскопия (*Leica MZ16F, Motic AE2000*), спектрофотометрия (*NanoDrop*), статистикалық талдау әдістері *(GraphPad Prism*) пайдаланылды.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы.

Тұңғыш рет даназол препаратының Mcf10A сүт безі клеткаларының энергетикалық алмасуына нақты әсерін бақылау үшін жүйелі зерттеулер

жүргізілді. Mcf10A сүт безі клеткаларына даназол препаратының цитотоксикалық әсері анықталды.

Алғаш рет даназол препаратының әсерінен Mcf10A сүт безі клеткаларының циклын қай фазада тоқталатыны зерттелді.

Mcf10A сүт безі клеткалары митохондриялық метаболизмінің даназол препараты концентрацияларының әсерінен туындаған өзгерістері анықталды. Яғни, даназол концентрациялары митохондрия мембранасы потенциалына, клетканың фосфорлану процесі мен тотығу стресіне әсері алғашқы рет көрсетілді.

Mcf10A сүт безі клеткалары митохондриясы метаболизміне даназолдың прогестерон гормонының рецепторлары арқылы әсер ететіні белгілі болды.

Жұмыстың теориялық маңызы. Фиброзды кистозды мастопатия сырқатымен ауыратын әйелдерден алынған Mcf10A сүт безі клеткаларының механизміне даназолдың 25,3,10 және 30мкМ концентрацияларының клетканың мембрана потенциалына, тотығу стрессіне, клетка тыныс алу мен пролиферациясына әсері анықталды. Даназолдың 10мкМ және 30 мкМ концентрацияларының Mcf10A клеткаларының клетка циклына сай пролиферативтік процессін G_0/S кезеңдерінде тоқтататыны айқындалды және 30 мкМ концентрациясы Mcf10A клеткаларының мембраналық потенциалын 77%-ға дейін төмендеуін тудырды.Сонымен қатар даназол митохондрияның метаболизміне прогестерон рецепторлары арқылы әсер ететіні анықталды.

Жұмыстың практикалық құндылығы. Mcf10A сүт безі клеткаларының энергетикалық алмасуына әсер ететін даназол препаратының ерекше механизмдері, практикалық медицинаның маммалогия саласындағы сүт безінің функцияларының бұзылысында емдік мақсатта рөл атқарады. Тәжірибелік зерттеу барысында Mcf10A сүт безі клеткаларының фиброзды-кистозды мастопатия сырқаты барысындағы патологиялық өзгерістерінде клеткалық деңгейде толыққанды зерттелініп, жақпай май ретінде қолдануға болады деген тұжырым жасалынды. ҚР Денсаулық сақтау Министрлігінің Қазақ онкология және радиология ғылыми зерттеу институтында даназолдың әртүрлі концентрацияларының тиімділігін байқау үшін *in vitro* жағдайында цитотоксикалық зерттеу әдістерін қолдану практикалық маңызды жаңа әдістемелер ретінде ұсынылды (2018 жылдың 8 қарашадағы № 27 енгізу актісі - Қосымша А).

Зерттеу нәтижелері әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, биология және биотехнология факультетіндегі «Биология» мамандығы, 2 курс студенттері үшін «Жануарлар физиологиясы негіздері» оқу курсының бағдарламасына дәріс ретінде енгізілді (Оқу процесіне аяқталған ғылыми-зерттеу жұмысын енгізу туралы актісі, 2018 жылдың 24 қазанындағы №3 хаттамасы - Қосымша Ә).

Қорғауға ұсынылатын негізгі қағидалар:

1. Mcf10A сүт безі клеткаларына даназол препаратының цитотоксикалық әсері оның концентрацияларымен байланыстылығы көрсетіледі.

2. Даназол препараты концентрациялары Mcf10A сүт безі клеткаларында апоптоз процесін тудырады .

3. Даназол препаратының Mcf10A сүт безі клеткалары пролиферациясын тежегені анықталды.

4. Mcf10A сүт безі клеткалары тотығу-фосфорлану процесінде, клетканың тыныс тізбегіне даназолдың әсері бар екені көрсетілді.

5. Даназол митохондриялардың метаболизміне прогестерон рецепторлары арқылы әсер ететіндігі анықталды.

Фиброзды-кистозды мастопатияны емдеу үшін даназолды жергілікті әсер беретін емдік мақсатта қолдануға болатын препарат ретінде ұсынылды

Қорғауға ұсынылатын ғылыми жұмыс нәтижелерінің жинақталуына диссертанттың жеке үлесі. Диссертациялық жұмыстың барлық нәтижелері автордың жеке қатысуымен орындалды. Жұмыстың авторы зерттеу нысанын және концепциясын таңдауда, жұмыстың мақсатын анықтап, зерттеудің міндетін қоюда, сонымен қатар, тәжірибелердің орындалуын жоспарлауда, алынған мәліметтерді жинақтап, өңдеп-талдауға өз үлесін қосты

Зерттеудің негізгі нәтижелері мен тұжырымдары.

1. Mcf10A сүт безі клеткаларына даназолдың әртүрлі концентрацияларының цитотоксикалық әсері анықталды. Даназол препаратының жоғарғы мөлшерлі 30 мкМ концентрациясының уақыт айырмашылығына қарай клетка тіршілігін 77%- ға дейін төмендеткені дәлелденді.

2. Даназол препаратының Mcf10A сүт безі клеткаларында апоптоз процесін тудыратыны анықталды. Даназолдың 30 мкМ концентрациясының әсерінен уақытқа байланысты апоптозға ұшыраған клеткалар санының көбейгені анықталды.

3. Даназолдың 10мкМ және 30 мкМ концентрацияларының Mcf10A клеткаларының клетка циклына сай пролиферативтік процессін G_0/S кезеңдерінде тоқтататыны айқындалды.

4. Даназолдың 30 мкМ концентрациясы Mcf10A клеткаларының мембраналық потенциалын 77%-ға дейін төмендеуін тудырды.

5. Даназол концентрацияларының мембраналық потенциалды төмендетумен қатар клетканың уақытқа байланысты оттегін қабылдауын да 10 % -ға дейін төмендеткені анықталды.

6. Mcf10A сүт безі клеткаларында даназолдың концентрациялары тотығу стресін тудырмайды.

7. Даназол митохондрияның метаболизміне прогестерон рецепторлары арқылы әсер ететіні анықталды.

8. Даназолдың 30мкМ және прогестеронның 10мкМ концентрацияларынан кальций иондарының тербелісі пайда болғаныменданазолдың 30мкМ концентрациясы цитозольдық кальций деңгейінің өзгерісіне әкелмейтіні анықталды.

Автордың жұмыстағы жеке үлесі. Диссертациялық жұмыстың барлық нәтижелері автордың жеке қатысуымен орындалды. Жұмыстың авторы зерттеу нысанын және концепциясын таңдауда, жұмыстың мақсатын анықтап,

зерттеудің міндетін қоюда, сонымен қатар тәжірибелердің орындалуын жоспарлауда, алынған мәліметтерді жинақтау, өңдеп-талдауға өз үлесін қосты.

Жұмыстың ғылыми зерттеу бағдарламасымен байланыстылығы. Бұл диссертациялық жұмыс сүт және қуық асты безінің қатерлі ісігі құрылымын зерттеуге бағытталған «*Cornelius Beukenkamp*» (2013-2016) және «Mary DeWitt Pettit Fellowship» (2013-2016) фондтарының қолдауымен Дрексель университеті, хирургия кафедрасының митохондриялар патофизиологиясы зертханасында жасалды (ғылыми жобаның жетекшісі Дрексель Университетінің профессоры З.С.Орынбаева). Сонымен қатар әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-нің Биофизика және биомедицина кафедрасының «Биофизика және биомедицинаның өзекті мәселелері» (ғылыми жетекшісі профессор С.Т.Төлеуханов) атты инициативтік тақырыбы бойынша орындалды

Жұмыстың апробациясы

Зерттеу нәтижелері және диссертациялық жұмыстың негізгі қағидалары төмендегідей халықаралық және республикалық конференцияларда баяндалды және талқыланды:

- «Фараби әлемі» студенттер мен жас ғалымымдардың халықаралық ғылыми конференциясы (2017, Алматы, Қазақстан);
- Халықаралық ғылыми-практикалық конференция «Экологиялық генетика мен экспериментальды биологияның өзекті проблемалары» (2017, Алматы, Қазақстан);
- Халықаралық ғылыми-практикалық конференция «Актуальные вопросы медицины» (2018, Баку, Азербайджан);
- XVIII Халықаралық ғылыми-практикалық конференция «Advances in Science and Technology» (2019, Мәскеу, Ресей);
- Халықаралық ғылыми конференция «Тенденции и перспективы развития науки и образования в условиях глобализации» (2019,Киев,Украина);
- «Фараби оқулары» студенттер мен жас ғалымымдардың халықаралық ғылыми конференциясы (2019, Алматы, Қазақстан).

Басылымдар. Зерттеу жұмысының нәтижелері 13 ғылыми еңбекте жарияланды, оның ішінде 1 мақала *Tomson Reuters* және *Scopus* базасында, 4 мақала ҚР БҒМ саласындағы бақылау Комитеті ұсынған басылымдарда; 8 тезис шет ел және халықаралық-республикалық конференция материалдары жинақтарында жарық көрді.

Диссертацияның құрылымы. Диссертациялық жұмыс 122 мәтіндік беттен тұрады және нормативтік сілтемелер, белгілеулер мен қысқартулар, кіріспе, әдебиеттерге шолу, зерттеу материалдары мен әдістері,зерттеу нәтижелері және оларды талқылау, қорытынды, 156 пайдаланылған әдебиеттер тізімінен тұрады, құрамында 21 сурет, 5 кесте және 2 қосымша бар.