

Досымбекова Раушан Сарсенбаевнаның
6D060700 – «Биология» мамандығы бойынша философия докторы (PhD)
дәрежесін алу үшін ұсынылған «Жасушаны жоятын индукторлардың
әсеріне резистентті, гепатоциттер мен гепатокарцинома
жасушаларының ультрақұрылымдық ұйымдасуы» тақырыбындағы
диссертациялық жұмысына
АНДАТПА

Жұмыстың жалпы сипаттамасы.

Диссертациялық жұмыс гепатоциттер мен гепатокарцинома жасушаларына *in vitro* жағдайында, литий карбонатының әсері кезіндегі ультрақұрылымдық ұйымдасу ерекшелігін зерттеуге арналған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі

Жасушаны жоятын индукторлардың әсер көрсетуіне ісік жасушалары мен қатар бағаналы жасушалардың және де қалған жасушалар популяциясының сезімталдығын арттыру.

Заманауи биология және медицина саласындағы қазіргі кездегі өзекті проблемалардың бірі қатерлі ісік жасушасының жойылуын индукциялау мәселесі болып табылады. Ісіктердің жасушалық құрамына гетерогендік тән екені белгілі (Wang K., et al., 2018).

Соңғы кездері ісік ұлпаларына қолданылатын термин - ісіктің бағаналы жасушалары, себебі осы жасушалар әртүрлі терапиялық әсерлерге төзімді болып, тіршілігін ұзақ сақтай алады және де олар дәрілік заттардың нысаны болуы тиіс (Marjanovic N.D., et al., 2013).

Гепатоцеллюлярлық карцинома-бауырдың қатерлі ісігі, ең көп таралған обырдың түрлерінің бірі және бүкіл әлемде онкологиялық аурулардан өлім-жітімге ұшыраудың екінші басты себебі болып табылады (Ladju R.B., et al., 2018).

Гепатокарциноманың дамуына бағдарлама бойынша жасушаның жойылу кезіндегі реттелуінің бұзылысы әсер көрсетеді (Degterev A., 2008). Гепатокарцинома жасушаларында некроз, апоптоз және аутофагия дамуы мүмкін деп есептеледі (Cui J., 2013). Некроз кезінде жиі жергілікті және жүйелі қабыну туындайды. Апоптоз бен аутофагия жергілікті қабыну үрдісін тудырмайды, сондықтан оларды ісік емдеу үшін терапиялық нысандар ретінде қарастырады (Zhang, C., 2016). Әдебиеттерде көрсетілгендей литий карбонаты ГСК-3 β белсенділігін бәсеңдетіп, циклин Е экспрессиясын төмендету арқылы әрекет ете отырып, жасушалық циклдың G2/M фазасында тежеп, ісік жасушаларының пролиферациясын тоқтата алады (Erdal E., et al., 2005; Tsui M. M., et al., 2012), сонымен қатар ісік жасушаларының апоптозын іске қоса алады (Li L., et al., 2015). Соңғы мәліметтерге сүйенетін болсақ, литий ісік жасушаларында аутофагияны модульдей алады (O'Donovan T. R., et al., 2015).

Қазірге дейін бауырдың қалыпты жасушалары – гепатоциттердің литий карбонатының әртүрлі мөлшерінің әсеріне сезімталдығы туралы деректер

жоқ, ал бауырдың қатерлі, өзгерген ісік жасушаларына әсер ету үшін пайдаланылады. Сонымен қатар, литий тұздары–жасушаны жоятын индукторлар ісік жасушаларына әсер еткенде, белгілі бір гепатокарцинома жасаушаларының популяциясында әрқашан тіршілікке қабілетті жасушалар тірі қалып, жаңа ісік жасушаларының пайда болуына ықпал етеді. Ісікке қарсы тиімді терапияны әзірлеу үшін гепатокарцинома жасушаларының резистенттілігінің субжасушалық механизмдерін анықтап, зақымдаушы агенттің әсері кезінде олардың тіршілігіне ықпал ету қажет және осы жағдайларда қалыпты, ісіксіз бауыр жасушаларының – гепатоциттердің құрылымдық ұйымдасуын зерттеу өзекті болып табылады.

Зерттеу жұмысының мақсаты: литий карбонатының әсері кезіндегі гепатоциттер мен гепатокарцинома жасушаларының ультрақұрылымдық ұйымдасу ерекшелігін анықтау.

Зерттеу жұмысының міндеттері:

1. Стандартты қоректік ортадағы және литий карбонаты қосылған кездегі окшауланған гепатоциттердің өсу динамикасы барысындағы ядро-цитоплазмалық арақатынасын және гепатоциттердегі ядро көлемін жарық микроскопы мен морфометриялық әдіс арқылы анықтау.

2. Стандартты культуралық ортада және литий карбонатын қосу кезінде өсірілген гепатоциттердің жасушалық цикл фазалары бойынша таралуын ағынды цитофлуориметрияны қолдану арқылы бағалау.

3. Стандартты культуралық ортада және литий карбонатын қосқаннан кейінгі гепатоциттердің өсу динамикасы кезіндегі ультрақұрылымдық ұйымдасуын зерттеу.

4. МТТ-тест қолданып гепатоциттер мен гепатокарцинома-29 жасушаларына литий карбонатының цитоуыттылығын анықтау.

5. Стандартты қоректік ортада және литий карбонатын қосқан кездегі гепатокарцинома-29 жасушаларының өсу динамикасындағы ядроларының көлемін, ядро-цитоплазмалық арақатынасын жарық микроскопын және морфометрия әдісін қолдану арқылы анықтау.

6. Ағынды цитофлуориметрияны пайдаланып стандартты қоректік ортада және литий карбонатын қосқан кезде өсірілген гепатокарцинома-29 жасушаларының жасушалық цикл фазалары бойынша таралуын бағалау.

7. Стандартты қоректік ортада және литий карбонатын қосқаннан кейінгі гепатокарцинома-29 жасушаларының өсу динамикасы кезіндегі ультрақұрылымдық ұйымдасуын зерттеу.

Зерттеу нысандары

In vitro тәжірибелерінде тышқанның өсірілген гепатоциттері және тышқанның гепатоцеллюлярлық карцинома-29 (ГК-29) жасушалар саласы қолданылды.

Зерттеу әдістері. Жасушаларды *in vitro* жағдайында өсіру, МТТ-тест, ағынды цитофлуориметрия CytoFlexS (Beckman Coulter, АҚШ), жарық микроскоп «LEICA DME» (Германия), трансмиссиялық электронды микроскоп (JEM 1010, Жапония), морфометриялық талдау ImageJ (Wayne

Rasband, АҚШ) және статистикалық мәліметтерді өңдеу, талдау (Statistica 6.0 (StatSoft, АҚШ) пайдаланылды.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы

Алғаш рет оқшауланған гепатоциттердің ультрақұрылымдық ұйымдасуы зерттеліп, оларды өсіру динамикасындағы жасуша ішілік өзгерістерінің сипаты анықталды.

Алғаш рет *in vitro* жағдайында салыстырмалы аспектіде литий карбонатының әсер ету кезінде гепатоциттер мен ГК-29 жасушаларының ультрақұрылымдық ұйымдасуы зерттелді.

ГК-29 жасушаларының популяциясы құрамы бойынша гетерогенді, оларды қоректік ортада оларды өсіру динамикасында алғаш рет мөлшері мен ядро-цитоплазмалық арақатынасы бойынша типтерге бөлу жүргізілді. Жасушалардың ультрақұрылымдық ерекшеліктері, олардың жіктелу үрдісінде анықталды.

Жұмыстың ғылыми маңыздылығы ісік жасушаларының тіршілік ету тәсілі болып табылатын IV және V жіктелу сатысында гепатокарцинома жасушаларында базальды аутофагияның дамуы туралы бұрын белгісіз болған фактілер алынды.

Алғаш рет зерттелген жасушалардағы апоптоз және аутофагия үрдістері анықталды, бұл ГК-29 жасушаларының тіршілік етудегі осы үрдістердің рөлін анықтауға және литий карбонатымен резистентті жасушаларға әсері арқылы гепатокарцинома жасушалары популяциясының жасушалық жойылуын арттыруға мүмкіндік береді.

Литий карбонатының 5мМ концентрациясын пайдаланғанда қалыпты бауыр жасушалары-гепатоциттер жағдайына әсер көрсететіні және гепатокарцинома жасушаларында деструктивті өзгерістер тудыратыны алғаш рет анықталды.

Зерттеудің теориялық маңыздылығы: Алынған нәтижелер аутофагия индукторларының әсері кезінде гепатоцеллюлярлы карцинома жасушаларының жасушалық жойылуын және тіршілікке қабілеттілігін қамтамасыз етуде белгілі механизмдерін толықтыруға мүмкіндік берді. Гепатокарцинома жасушаларында және оқшауланған гепатоциттерде анықталған аутофагия үрдістері, сүтқоректілер жасушаларында макроаутофагия механизмдер туралы түсініктерді кеңейтті.

Литийдің гепатоциттер мен гепатокарцинома жасушаларының ультрақұрылымдық ұйымдасуына әсері, литийдің биологиялық әсерлерінің жаңа механизмдерін анықтауға мүмкіндік берді.

Литий карбонатының әсері мен қалыпты жағдайында гепатокарцинома жасушаларындағы аутофагияның дамуы туралы алынған деректер, аутофагия индукторларының тиімділігін салыстыру үшін қолданылуы мүмкін.

Алынған деректер аутофагияның гепатоциттердің бастапқы өсіндісінің тіршілік ету үдерісіне қосқан үлесін куәландырады және өсіру жағдайларының негізгі көрсеткіші ретінде пайдаланылуы мүмкін.

Зерттеудің практикалық маңыздылығы: литий карбонаты әсер еткен кездегі гепатокарцинома жасушаларында анықталған ультра құрылымдық

өзгерістерге сүйене отырып, қатерлі ісіктің осы түріне таргеттік емдеу тәсілдерін жасауға болатыны.

Гепатокарцинома жасушаларын олардың мөлшеріне және ядро-цитоплазмалық арақатынасына байланысты типтерге бөлу үшін құрастырылған морфологиялық белгілері ісікке қарсы терапия үшін әзірленетін нысан-жасушаларды және әртүрлі дәрілік заттардың тиімділігін анықтау үшін пайдалана алады.

Гепатоциттердің цитоплазмасында және гепатокарцинома жасушаларында аутофагиялық құрылымдардың ультрақұрылымдық ерекшеліктері жасушалық биология, цитология, гистология бойынша дәрістер курстарында қолданылады.

Қорғауға ұсынылатын негізгі мәліметтер: алынған нәтижелер РФА СБ Цитология және генетика институтының филиалы Клиникалық эксперименталдық лимфология ғылыми зерттеу институтының физиологиялық проектік жүйесінің зертханасы (Новосібір, Ресей) ғылыми-зерттеу жұмыстарының тәжірибесінде, Абай атындағы Қазақ ұлттық педагогикалық университетінің, Жаратылыстану және география институтының «5В060700-Биология» мамандығы бойынша оқитын студенттердің оқу жоспарындағы «Жасушалық биология» мен «Жасуша және ұлпалар биологиясы» пәндері бойынша дәріс және тәжірибелік сабақтарына енгізілген, ҚР БҒМ ҒК «Адам және жануарлар физиологиясының ғылыми зерттеу институты» (Алматы, Қазақстан) ғылыми-зерттеу жұмыстарында қолданылуда.

«Оқшаулап өсірілген гепатоциттерге литий карбонатын қосу тәсілі» тақырыбында №2020/0105.2 пайдалы модельге патент алынды (19.06.2020ж.).

Қорғауға ұсынылатын негізгі қағидалар:

1. Оқшауланған гепатоциттерді стандартты ортада өсіру кезінде жасушалар көлемі кішірейеді, ядро-цитоплазмалық арақатынасы жоғарылайды, жасушалық цикл G0/G1 сатысында тоқтайды және гликофагия мен митофагия басым болатын базальды аутофагияның дамуы орын алады.

2. Өсірілген гепатоциттерге концентрациясы 5 мМ литий карбонатын енгізгенде бастапқы өсірілген гепатоциттерге уытты әсер көрсетпеді, жасушалық циклдағы G0/G1 сатысын бұғаттамайды, гепатоциттердің апоптозын ынталандырмайды, аутофагияның дамуына және гепатоциттердің пролиферативті белсенділігін сақтауға ықпал етеді.

3. Гепатокарцинома-29 жасушаларын өсіру барысында жасушалар мен олардың ядроларының көлемінің өсуі, ядро-цитоплазмалық арақатынасының төмендеуі және ісік жасушаларының гомеостазасын сақтауға бағытталған базальды аутофагияның дамуының байқалуы.

4. Концентрациясы 5мМ литий карбонатын өсірілген гепатокарцинома-29 жасушаларына енгізген кезінде, жасушалық циклдің G2/M кезеңінде тоқтауына, ультрақұрылымды ұйымдасуының бұзылуына, ГК-29 жасушаларында апоптоз және аутофагияның туындауына әкелгені, бұл

көрініс литийдің ГЦК емдеуге арналған перспективті дәрілік зат болатындығын растайды.

Автордың жұмыстағы жеке үлесі: Зерттелетін мәселеге қатысты әдеби деректерді талдау, жұмыстың мақсат-міндеттерін анықтау, тәжірибелік зерттеулерді жүргізу, нәтижелерді статистикалық өңдеу және талдау, диссертацияны жазу мен қол жазбаны рәсімдеу автордың жеке қатысуымен орындалды.

Жұмыстың ғылыми зерттеу бағдарламасымен байланыстылығы.

Ғылыми жұмыс автордың жеке орындаған жұмысына жатады және қаржыландырылған ғылыми жобалармен байланысы жоқ. Ғылыми-зерттеу жұмыстары Абай атындағы Қазақ ұлттық педагогикалық университетінің 02.11.2017ж. №07-02-31/003 екі жақты келісімі бойынша РҒА СБ КЭЛҒЗИ ЦЖГИ филиалында (Новосібір, Ресей Федерациясы) орындалды.

Зерттеу нәтижелерін апробациялау. Зерттеудің негізгі қағидалары мен нәтижелері халықаралық ғылыми-практикалық конференцияларда ұсынылды және талқыланды:

- «Клеточная гетерогенность и аутофагия в популяции гепатокарциномы-29» атты XIV Евразиялық симпозиум, халықаралық ғылыми- практикалық конференция (Қырғызстан, 2018);

- «Лимфангиогенез и ангиогенез в условиях экспериментальной гепатокарциномы-2» атты XIII халықаралық ғылыми- практикалық конференция (Новосібір қ.,Ресей, 2018);

- «Структурная организация нефрона в условиях отдаленного опухолевого роста» атты III халықаралық студенттер мен жас ғалымдардың ғылыми-практикалық конференциясы (Новосібір қ., Ресей, 2018);

- «Структурно-функциональные изменения клеток гепатокарциномы-29 под влиянием лития» атты халықаралық жас ғалымдардың ғылыми-практикалық конференциясы (Алматы қ.,Қазақстан, 2019);

- «Базальная аутофагия в цитоплазме изолированных гепатоцитов в динамике культивирования» атты Жоғары оқу орындары арасындағы Халықаралық конгресс Жоғары мектебі: ғылыми зерттеулер (Москва қ., Ресей, 2021);

- «Ультраструктурное изменение при опухолевом росте и развитие аутофагии в почках и печени мышей линии СВА» атты XV Евразиялық симпозиум, халықаралық ғылыми-практикалық конференция (Қырғызстан, 2021).

Зерттеу нәтижелері бойынша жарияланымдар: диссертациялық жұмыстың мазмұны бойынша жарияланған мақалалардың жалпы саны - 11. Оның ҚР Білім және Ғылым министрлігі Білім және ғылым саласында сапаны қамтамасыз ету комитеті ұсынған басылымдарда - 3, Scopus мәліметтер қорына кіретін басылымда - 2, халықаралық ғылыми - практикалық конференция материалдарында – 6.

Жұмыстың көлемі мен құрылымы: диссертациялық жұмыс кіріспе, төрт бөлім, қорытынды, пайдаланылған әдебиеттер тізімі және қосымшадан

тұрады. Диссертацияның жалпы көлемі -123 бет. Пайдаланылған әдебиеттер тізімі – 348, 9 кесте, 49 сурет және 4 қосымша келтірілген.