

## АННОТАЦИЯ

6D060700 – Биология мамандығы бойынша PhD докторы ғылыми дәрежесін алу үшін диссертация бойынша

Нұркенов Төленді Төлешұлы

### **Өсімдік полифенолдары мен мезенхимальды бағаналы жасушалардың ишемиялық мидың жарақатына бірлескен әсерлеін зерттеу.**

Отандық ғылыми жетекші: биология ғылымдарының докторы, профессор Шалахметова Т.М. (әл-Фараби атындағы ҚазҰУ)

Шетелдік ғылыми жетекші: PhD докторы, профессор Ли Джеймс С-М. (Чикагодағы Иллинойс университеті, АҚШ)

Бұл дипломдық жұмыс *Limonium Gmelinii (L.gmelinii)* тамырынан оқшауланған өсімдік полифенолдарының сығындысы мен бағаналы жасушаларының терапиясын біріктіріп қолдану негізінде мидың ишемиялық зақымдануының салдарын емдеудің жаңа стратегиясының тиімділігін клиникаға дейінгі зерттеуге арналған кешенді зерттеу болып табылады.

**Зерттеудің өзектілігі.** Ишемиялық инсульт жүрек ауруы мен қатерлі ісіктен кейінгі өлімнің үшінші себебі болып табылады және көптеген елдерде қартайған ересектердегі ұзақ мерзімді мүгедектіктің басты себебі болып табылады. Қазақстанда жыл сайын халықтың 1000 адамға шаққанда 2,5-3,7 инсульт жағдайы тіркеледі, өлім көрсеткіші 1-1,8 жағдайды құрайды. Қазіргі уақытта бұл ауыр жағдайдың жалғыз мақұлданған терапиясы - «тромб түзетін» рекомбинантты тіннің плазмогендік активаторын (tPA) қолдану арқылы бітеліп қалған тамырлардың жергілікті немесе жүйелі тромболизі, оның тиімділігі 3-4 сағат уақыттық тереземен шектеледі. Осылайша, альтернативті, икемді және клиникалық маңызды терапияны әзірлеуге үлкен қажеттілік бар. Инсульттан кейінгі оңалтудың перспективті бағыттарының бірі мезенхимальды бағаналы жасушалары терапиясын қолдану болып табылады. Екінші жағынан, табиғи антиоксиданттардың, атап айтқанда өсімдік полифенолдарының, айқын антиоксиданттық және нейропротекторлық әсерлер көрсетуге қабілетті екенін көрсететін бірқатар деректер бар. Осыған байланысты, ишемиялық церебральды инсульттің салдарын емдеуде өсімдік полифенолдарының нейропротекторлық қасиеттерін және мезенхималық бағаналы жасушаларының (МБЖ) регенеративті потенциалын зерттеуге негізделген кешенді тәсіл перспективалы болып табылады.

**Зерттеу объектілері.** Зерттеу объектілері адамның бастапқы астроциттері, нейрондары және тышқанның церебральды эндотелий жасушаларының желісі (CECs, bEnd3), *L.gmelinii* тамырынан алынған полифенолдар

сығындысы, Wistar егеуқұйрықтары және егеуқұйрықтардың мезенхималық бағаналы жасушаларының болды.

**Зерттеу пәні:** *L.gmelinii* тамырынан бөлінген полифенол сығындысының антиоксиданттық, қабынуға қарсы және нейропротекторлық қасиеттерін *in vitro* және *in vivo* бағалау; мидың ишемиялық зақымдануының жануар үлгісінде өсімдік полифенолдары мен мезенхималық бағаналы жасушаларын трансплантациялауды біріктірілген қолданудың терапевтік потенциалын *in vivo* бағалау.

**Диссертациялық зерттеудің мақсаты** – бағаналы жасушаларының терапиясы мен өсімдік полифенолдарын біріктіріп қолдану негізінде мидың ишемиялық зақымдануын емдеудің жаңа стратегиясын әзірлеу және клиникаға дейінгі сынақтан өткізу.

Осы мақсатқа жету үшін үш тапсырма орындалды:

- *L.gmelinii*-ден оқшауланған полифенол сығындысының антиоксиданттық және қабынуға қарсы қасиеттерін адамның бастапқы нейрондары, астроциттері және тышқандар ЦЭЖ культураларында *in vitro* бағалау;
- ортаңғы ми артериясының окклюзиясы (ОМАО) және *L.gmelinii* сығындысын ішке қабылдауға ұшыраған Wistar аталық егеуқұйрықтарда *L.gmelinii*-ден бөлінген полифенол сығындысының нейропротекторлық қасиеттерін *in vivo* бағалау;
- ОМАО-ға ұшыраған Wistar аталық егеуқұйрықтарда эксперименталды индукцияланған мидың ишемиялық зақымдануының салдарын емдеу үшін *L.gmelinii* сығындысын мезенхималық бағаналы жасушаларын трансплантациялаумен біріктіріп пероральді енгізудің тиімділігін *in vivo* бағалау.

**Зерттеудің әдіснамалық негізіне** келесі цитологиялық және гистологиялық әдістер жатады: *in vitro* жасушаларды өсіру, нейрондарды, астроциттерді және МБЖ-ны оқшаулау және өсіру, криоконсервациялау және еріту, жасуша трансплантациясы, жарық және флуоресцентті микроскопия, гистология және иммуногистохимиясы, протеинді иммуноблоттау әдістері, микрохирургиялық әдістер (ОМАО), функционалдық мінез-құлық сынақтары, *in vivo* оптикалық бейнелеу.

**Зерттеудің ғылыми жаңалығы.** Диссертацияда ең маңызды ғылыми нәтиже ретінде қарастырылатын үш тармақ бар:

- *Limonium Gmelinii* тамыры мен тамырынан алынған сығындының антиоксиданттық, қабынуға қарсы және нейропротекторлық қасиеттері анықталды;
- Мидың ишемиялық зақымдануы жағдайында трансплантация кезінде мезенхималық бағаналы жасушаларының ағзада таралуы мен орналасуының жаңа ерекшеліктері табылды;
- Өсімдік полифенолдары мен МБЖ қолдануға негізделген интеграцияланған тәсіл олардың емдік әсерінің кең спектріне байланысты монотерапиямен салыстырғанда ишемиялық церебральды инсульттің салдарын емдеудің тиімді әдісі болып табылады.

**Зерттеудің практикалық маңызы.** Жүргізілген зерттеулердің нәтижелері көрсеткендей, *Limonium Gmelinii* тамырынан алынған полифенолдар сығындысы антиоксиданттық және нейропротекторлық қасиеттерге ие, ал *Limonium Gmelinii* сығындысымен және мезенхималық бағаналы жасушаларымен біріктірілген терапия монотерапиямен салыстырғанда тиімдірек әдіс болып табылады. *Limonium Gmelinii* тамырынан алынған құрғақ сығынды «Лимонидин» Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Медициналық және фармацевтикалық бақылау комитетімен гепатопротекторлық және қабынуға қарсы агент ретінде медициналық қолдануға рұқсат етілгендіктен, оны инсульттан кейін оналту терапиясы ретінде жеке немесе МБЖ-мен біріктірілген клиникалық зерттеулерге ұсынуға болады. Алынған нәтижелерді медициналық-биологиялық бейіндегі жоғары оқу орындарының бакалавриат, магистратура, докторантураға арналған дәріс курстарына енгізуге болады.

**Зерттеудің негізгі нәтижелері.** Мақсаттары мен міндеттеріне сәйкес келесі зерттеу міндеттері орындалды:

- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> және TNF- $\alpha$  индукцияланған тотығу және қабыну модельдері *in vitro* адамның бастапқы нейрондары мен астроциттерінде, сондай-ақ тышқанның церебральды эндотелий жасушасында (CEC) қолданылды. ROS генерациясының деңгейлері, NADPH оксидазасының активтенуі, P-селектин экспрессиясы және ERK1/2 белсенділігі сандық иммунофлуоресценция талдауы, конфокальды микроскопия және MAPK талдауы арқылы бағаланды.
- Уақытша ОМАО-ның *in vivo* моделі силикон ұшы 4/0 (Docol Corp, АҚШ) бар нейлон моножіпті енгізу, одан кейін реперфузия арқылы әзірленді.
- ОМАО-ға ұшыраған зертханалық жануарлардың тірек-қозғалыс қызметін талдау «Beam walk» тепетендік сынағы арқылы жүргізілді.
- Зертханалық жануарлардың (егеуқұйрықтардың) жинақы сүйектерінен мезенхималық бағаналы жасушалары бөлініп алынды; алынған МБЖ популяциясының тазалығы CD90, CD105, CD34 және CD19 маркерлерімен иммунофлуоресцентті бояумен расталды.
- Лентивирустық вектормен МБЖ трансфекция әдісі оңтайландырылды; зертханалық жануарларға МБЖ көктамыршілік енгізу әдісі мен дозалары және егеуқұйрық ағзасының ішіндегі трансфекцияланған МБЖ-ның интравитальді бейнесі әзірленді.
- Тәжірибелік жануарлардың бас миының ұлпаларының гистологиялық кесінділері жүргізілді және оларға талдау жасалды.

Осылайша, жүргізілген зерттеулер мен олардың негізінде алынған ғылыми нәтижелер келесі **қорытынды** жасауға мүмкіндік береді:

1. *L. Gmelinii* сығындысы 0,001-0,1 мг/мл дозада нейрондарға, астроциттерге және ми эндотелиоциттеріне уытты әсер етпейтіні көрсетілген.
2. Нейрондарда H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ROS шамадан тыс өндірілуін тудырды, астроциттерде TNF- $\alpha$  ROS генерациясын, NADPH оксидазаны белсендіруді және ERK1/2 фосфорлануын бастады. ЦЭЖ -да TNF- $\alpha$  әсері тотығу стрессін тудырды және жасушалардың бетінде P-селектиннің жиналуын тудырды. Өз кезегінде, жасушаларды *L. gmelinii* сығындысымен алдын ала өңдеу жасушалардың

барлық түрлерінде тотығу стресін және астроциттер мен ЦЭЖ-да қабынуға қарсы реакцияларды басады.

3. *In vivo*, егеуқұйрықтарды 200 мг/кг *L. Gmelinii* сығындысымен 28 күн бойы күнделікті пероральді емдеу егеуқұйрықтардың инсульттан бұзылған қозғалтқыш белсенділігін айтарлықтай жақсартады және ОМАО-дан зақымдалған мидың гистологиялық құрылымын ішінара қалыпқа келтіреді, осылайша сығындының нейротекторлық қасиеттерін растайды.

4. Ошақты ишемиялық инсультпен ауыратын жануарлардың денесінде МБЖ таралуы бұзылмаған егеуқұйрықтардағыдан ерекшеленетіні көрсетілді: сау жануарларда МБЖ негізінен дененің кеуде және құрсақ аймақтарында локализацияланған; ОМАО бар жануарларда жасушалардың көпшілігі мидың зақымдалған аймақтарында кездеседі.

5. Егеуқұйрықтарды 200 мг/кг *L.gmelinii* сығындысымен 28 күн бойы күнделікті пероральді емдеу және МБЖ ( $5 \times 10^6$  жасушалар) бір реттік трансплантациялау егеуқұйрықтарды инсульттан кейін 28-ші күні қозғалыс белсенділігін толығымен қалпына келтірді, осылайша өсімдік полифенолдары және МБЖ-мен біріктірілген терапия монотерапиямен салыстырғанда инсульт дамығаннан кейін неврологиялық функцияларды қалпына келтіруде тиімдірек тәсіл екенін растайды.

Диссертациялық зерттеудің негізгі нәтижелері 10 басылымда жарияланды, оның ішінде бір мақала Thompson Reuters және Scopus деректер базасына енгізілген халықаралық ғылыми журналда 6,313 импакт-фактормен жарияланды; ҚР БҒМ Білім және ғылым саласындағы бақылау комитеті (БҒМБК) ұсынған журналдарда 4 мақала жарияланды; Халықаралық конференциялар жинағында 5 конференция тезистері жарияланды. Сонымен қатар, Қазақстан Республикасының 2020 жылғы 11 қыркүйектегі № 34466 патенті алынды.

Дипломдық жұмыс кіріспеден, үш бөлімнен, қорытындыдан және келтірілген әдебиеттер тізімінен тұрады. Диссертацияның жалпы көлемі 98 бет.