

Есенбекова Арайлым Есенбекқызының
«8D05102-Биомедицина» мамандығы бойынша философия докторы (PhD)
дәрежесін алу үшін дайындалған диссертациясына

АНДАТПА

«Қант диабетінің 2-типімен ауыратын науқастардың жүрек-қан тамырлары асқынуларының биомаркері ретінде микроРНК экспрессиясын және тотығу стресінің статусын зерттеу»

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Диссертациялық жұмыс микроРНК экспрессиясын, тотығу стресінің күйін және қабыну процесін жан-жақты зерттеуге, сондай-ақ олардың қант диабетінің 2-типімен ауыратын науқастардағы жүрек-қан тамырлары асқынуларының биомаркерлері ретіндегі рөлін анықтауға арналған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. Қант диабетінің 2-типі (ҚД2Т) бүкіл әлемде ең көп таралған, ұлпалардың инсулинге резистенттілігі нәтижесінде пайда болатын және гипергликемиялық күймен сипатталатын күрделі метаболиттік ауру болып табылады. Науқастарда қандағы глюкозаның жоғары деңгейі туындаған жағдайдың өзінде, ауру барысы симптомсыз түрде жүреді, бұл өз кезегінде диагноз қоюды қиындатады. Диагностикалау үшін қолданылатын клиникалық көрсеткіштер спецификалық емес болғандықтан, ауруды диагностикалау мен болжау үшін айналымдағы маркерлерді іздеу қажеттілігі туындайды. Өйткені, асқыну түрлеріне көз (ретинопатия), бүйрек (нефропатия), жүйке (нейропатия) және коронарлық тамырлар (жүрек-қан тамырлары ауруы) сияқты өмірлік маңызды мүшелердің зақымдануы мен дисфункциясы жатады.

ҚД2Т патогенезі өте күрделі, әртүрлі патофизиологиялық, созылмалы қабыну үрдістері мен тотығу стресін қамтиды. Глюкоза алмасуының бұзылуымен байланысты науқастардың иммундық статусының өзгеруі тамырлардың эндотелий дисфункциясын тудырады. МикроРНК экспрессиясы жүрек-қан тамырлары асқынуларының биомаркерлері болып табылатын тотығу-тотықсыздану күйіне және қабыну үрдістеріне әсер етеді. Қант диабеті кезіндегі микроРНК экспрессиясына арналған көптеген еңбектер бар, бірақ оның қан тамыр асқынуларындағы рөлін қосымша зерттеуді қажет етеді.

Соңғы жылдары жасушалық функциялардың маңызды реттегіші болып табылатын шамамен 18-22 нуклеотидтен тұратын кіші кодталмаған РНК - микроРНК қарқынды түрде зерттелуде. МикроРНК көптеген биологиялық сұйықтықтардан, соның ішінде жалпы қаннан, сарысудан және плазмадан бөлініп алынады, олар өте тұрақты молекулалар және қан ағымында оңай анықталады. МикроРНК әртүрлі патологиялық үрдістерге қатысады. Айналымдағы микроРНК ағзаның физиологиялық күйіне байланысты экспрессиясын өзгертеді және метаболиттік ауруларды, соның ішінде қант диабетін болжауға, диагностикалауға және бақылауға көмектесе алады. Қан

ағымында жоғары тұрақтылық пен қайталану қабілетін көрсететін айналымдағы микроРНК-дары табылды. Айналымдағы микроРНК қант диабетінің ерте диагностикасының патогенезіндегі маңыздылығын көрсететін физиологиялық жағдайлармен байланысты клиникалық ақпараттарды қамтамасыз етуде тиімді. Аурудың патологиялық прогрессиясына қатысатын биомаркерлерді зерттеу және пайдалану, асқыну үрдістерін дәлірек анықтауға мүмкіндік береді. Сонымен қатар, бұл зерттеу ҚД2Т кезінде қан тамырлық асқынулардың алдын алуға бағытталған бағалаудың жаңа әдістерін іздеуге мүмкіндік береді.

Қазіргі уақытта тотығу стресі қант диабеті кезіндегі метаболиттік бұзылулардың құрамдас бөлігі, әрі 2-типті қант диабетінде микро- және макроангиопатиялардың дамуында шешуші рөл атқаратындығы зерттеліп жатыр.

Жасушадағы тотығу метаболизмінің жоғарылауы тотығу-тотықсыздану потенциалының артуына, супероксид радикалының ($O_2^{\cdot-}$) түзілуіне және электрондарды тасымалдау тізбегіндегі электрондардың максималды босатылуына ықпал етеді.

Бірқатар зерттеулер ұлпалардың созылмалы қабынуы ҚД2Т-нің дамуындағы негізгі фактор болып табылатындығын нақты түрде анықтаған. Қабыну үрдісі иммундық жүйенің инфекцияға немесе ұлпалардың зақымдалуына жауап реакциясы ретінде, атеросклероз және диабеттік ангиопатия сияқты көптеген тамырлардың бұзылуының патогенезінде маңызды құрамдас бөлігі болып табылады. Соған байланысты антигендерге және иммундық жауап кезіндегі жасушааралық байланыстардың медиаторларына спецификасы жеткіліксіз болып келетін белсендірілген жасушаларынан түзілетін гормон тәрізді ақуыз заттар – цитокиндер болып табылады.

Жоғарыда көрсетілгендей 2-типті қант диабетімен ауыратын науқастарда жүрек-қан тамырлары асқынуларының биомаркерлері ретінде микроРНК экспрессиясын, сонымен қатар тотығу стресі мен қабыну үдерістерінің күйін зерттеуге негізделген кешенді және жүйелі тәсіл өзектілігімен құнды болып табылады.

Зерттеудің мақсаты. Қант диабетінің 2-типі бар науқастарда жүрек-қан тамырлары асқынуларының жаңа диагностикалық маркерлері ретінде микроРНК экспрессиясын, тотығу стресі және қабыну көрсеткіштерін зерттеу.

Мақсатқа жету үшін келесі міндеттер қойылды:

1. Қант диабетінің 2-типімен ауыратын науқастардың қанындағы биохимиялық көрсеткіштерді (HbA1c, глюкоза, инсулин, НОМА-IR индексі, жалпы холестерин, триглицерид) салыстырмалы талдау;

2. Қант диабетінің 2-типімен ауыратын науқастардың қан плазмасындағы hsa-miR-21-5p және hsa-miR-126-5p салыстырмалы экспрессиясының деңгейін анықтау;

3. Науқастардың қанындағы тотығу зақымдануының маркерлерін және эндогендік антиоксиданттық қорғаныс жүйесінің көрсеткіштерін талдау арқылы тотығу-тотықсыздану күйін бағалау;

4. Қант диабетінің 2-типімен ауыратын науқастардың қан плазмасындағы

кабыну маркерлерінің (ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-18 және TNF- α) спектрін анықтап, тотығу-тотықсыздану маркерлері, кабыну көрсеткіштері мен микроРНК салыстырмалы экспрессиясы деңгейі арасындағы корреляцияны талдау;

5. Зерттеу топтарындағы қант диабетінің 2-типі және оның қан тамырлы асқынуларының болуымен байланысты маркерлердің диагностикалық мәнін анықтау.

Зерттеу нысаны: Зерттеу нысандары ретінде бақылау тобының, қан тамырлары асқынуларынсыз және асқынулары бар 2-типті қант диабетімен ауыратын науқастардың перифериялық қан үлгілері қолданылды.

Зерттеу әдістері. Антропометриялық әдісі, липидті профиль (ферментативті әдістер), флуоресцентті спектроскопия әдісі (Bio-Tek Instruments Inc., Winooski, VT, USA), спектрофотометрия әдісі, УФ-спектрофотометрия әдісі, иммуноферменттік талдау (ИФА), нуклеин қышқылдарын бөліп алу, кері транскрипциялық ПТР және нақты уақыт режиміндегі сандық ПТР әдістерін қолдана отырып жүргізілді. Статистикалық талдау IBM SPSS Statistics for MacOS, 20.0 нұсқасы арқылы жүргізілді, GraphPad Prism бағдарламасының 6 нұсқасының көмегімен графиктер тұрғызылды.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы

Диссертацияның ең маңызды ғылыми нәтижелері:

- Алғаш рет жүрек-қан тамырлары асқынулары жоқ және асқынулары бар 2-типті қант диабеті диагнозы қойылған Мексика тұрғындарының биоматериалына мультимикстік зерттеулер жүргізілді.

- 2-типті қант диабетімен ауыратын, жүрек-қан тамырлық асқынулары бар науқастар тобында қанның биохимиялық (HbA_{1c}, глюкоза, инсулин, HOMA-IR индексі, жалпы холестерин, триглицерид) көрсеткіштері зерттелді.

- Эпигенетикалық деңгейде биомаркерлер ретінде еркін-айналмалы hsa-miR-21-5p, hsa-miR-126-5p экспрессиясының салыстырмалы деңгейі анықталды.

- Қан тамырлық асқынуларсыз және асқынулары бар ҚД2Т ауыратын науқастар тобының қанында тотығу стресімен байланысты тотығу-тотықсыздану күйі сипатталды.

- Науқастар тобының қан плазмасындағы кабынумен байланысты цитокиндер (ИЛ-6, ИЛ-18, ИЛ-10, TNF- α) концентрациясы қарастылды.

Алынған нәтижелер зерттеу топтарындағы 2-типті қант диабетінің дамуына және оның қан тамырларының асқынуына байланысты анықталған биомаркерлердің диагностикалық құндылығын көрсетеді.

Жұмыстың теориялық маңызы

Алынған зерттеу нәтижелері 2-типті қант диабетінің эпигенетикалық механизмдерін, айналымдағы hsa-miR-21-5p және hsa-miR-126-5p, кабыну және тотығу стресінің биомаркерлерін айқындауға айтарлықтай үлес қосады, өйткені микроРНК экспрессиясының өзгеруі қант диабетінің асқынуларын диагностикалауда және микро-, макроваскулярлық аурулардың дамуында маңызды рөл атқарады.

Қант диабетімен ауыратын науқастар диабеттік ретинопатия, нейропатия және атеросклероз сияқты асқынулардың қаупін азайту үшін қандағы глюкоза

деңгейін өздігінен бақылайды. Алайда, глюкозаны қалыпты бақылауда ұстауға қарамастан, кейбір науқастарда қантамырлар асқынулары дамиды. Метаболиттік жадының негізінде жатқан механизмдер толық зерттелмеген, бірақ глюкоза деңгейінің жоғарылауы қан тамырларын қоршап тұрған жасушалардың зақымдануын тудыруы мүмкін, бұл өз кезегінде олардың функцияларының одан әрі нашарлауын, әрі микроциркуляцияның төмендеуін, тромбоздың даму қаупінің жоғарылауын тудырады, нәтижесінде қан тамырларда болатын асқынуларға және оның өршуіне алып келеді.

Қазіргі кезде қант диабетінен туындайтын аурулардың пайда болуы мен оның ағымын болжау үшін молекулалық биомаркерлердің сезімталдығы жеткіліксіз болып табылады. Эпигенетикалық механизмдерді, атап айтқанда, микроРНК экспрессиясын талдау осы зерттеудің ауқымдылығын кеңейтуге, науқастарды емдеу іс шараларының жекелендірілген және диагностикалаудың жаңа әдістерін жасауға мүмкіндік береді. Сондай-ақ микроРНК экспрессиясы тотығу стресінің дамуында және диабеттік асқынулардың пайда болуымен байланысты созылмалы қабынуда маңызды рөл атқарады. Бұл жаңа деректер қант диабетінің 2-типі дамуының молекулярлық механизмдерін және оның асқынуларын түсінудегі маңызды қадам болып табылады, сондай-ақ осы ауруды диагностикалау мен алдын алудың тиімді әдістерін әзірлеуге негіз бола алады.

Жұмыстың практикалық құндылығы

Ферментативті және ферментативті емес антиоксидантты жүйенің факторларын зерттеу қан тамырларының эндотелиалды дисфункцияларының дамуындағы ағзаның антиоксиданттық қорғанысының тиімділігіне әсерін тереңірек айқындауға мүмкіндік береді. Бұл қант диабетінің 2-типі дамуындағы профилактикалық медицинаның тиімділігін, сондай-ақ асқыну қаупі бар науқастарды емдеу мен бақылаудың оңтайлы хаттамаларын әзірлеуге көмектеседі.

Зерттеу нәтижелері әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, биология және биотехнология факультеті, биофизика, биомедицина және нейроғылым кафедрасының «7М05102-Биомедицина» білім беру бағдарламасы бойынша 2 курстың «Молекулалық эндокринология» және «Молекулалық мембранология» оқу курсының бағдарламасына дәріс, семинар сабағы ретінде енгізілді (Оқу үрдісіне аяқталған ғылыми-зерттеу жұмысын енгізу туралы актісі, 2023 жылдың 24 наурыз №2 хаттамасы - Қосымша В).

Қорғауға ұсынылатын негізгі қағидалар:

- бақылау тобында, қан тамырларының асқынуларынсыз және асқынулары бар ҚД2Т ауыратын науқастар қанындағы биохимиялық көрсеткіштерін (HbA1c, глюкоза, HOMA-IR индексі) салыстырмалы талдауда айырмашылықтар көрсетті;

- қан тамырларының асқынуларынсыз және асқынулары бар ҚД2Т ауыратын науқастарда болжамды биомаркер ретінде микроРНК салыстырмалы экспрессия деңгейі талданды;

- бақылау, қан тамырларының асқынуларынсыз және асқынулары бар ҚД2Т ауыратын науқастар тобындағы тотығу-тотықсыздану жағдайы бір-бірінен

ерекшеленеді;

- қан плазмасындағы қабынумен байланысты ИЛ-6, ИЛ-18, ИЛ-10, TNF- α көрсеткіштерінде бақылау, қан тамырларының асқынуларынсыз және асқынулары бар ҚД2Т ауыратын науқастар тобында айырмашылық анықталып, алынған нәтижелерге корреляциялық талдау жасалынды;

- ҚД2Т патогенезі және қан тамырлары асқынуларының пайда болуымен байланысты hsa-miR-21-5p, СОД, ЛАТ және ИЛ-6 көрсеткіштерін болжамдық маркерлер ретінде қарастыру ұсынылды.

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

Тақырыптың зерттеу деңгейі. Диссертациядағы зерттеу жұмыстары физиологиялық, биохимиялық және эпигенетикалық деңгейде орындалды.

Жұмыстың ғылыми зерттеу бағдарламасымен байланыстылығы.

Диссертациялық жұмыс халықаралық жоба бойынша (Project of Proper Plan 25.11.2019, CIBERfes (CB16-10-00238, ISCIII, Spain)) Гранада қ., (Испания) Гранада университеті, Биомедицина зерттеу орталығының «Жасушааралық байланыс CTS-101» зертханасында жүргізілді, ғылыми жобаның жетекшісі Гранада университетінің профессоры, PhD Русанова И.

Жұмыстың апробациясы

Зерттеу нәтижелері және диссертациялық жұмыстың негізгі қағидалары халықаралық және республикалық конференцияларда, ҚЕАҚ С.Ж.Асфендияров атындағы ҚазҰМУ, ҚР ҒЖБМ ҒК «Генетика және физиология институты» ШЖҚ РМК, ҚЕАҚ «ҚазҰҚызПУ» баяндалып және талқыланды.

Басылымдар. Зерттеу жұмысының нәтижелері 20 ғылыми еңбекте жарияланды, оның ішінде Scopus және Web of science деректер базасына кіретін шетелдік Antioxidants IF-7.675, Q1; Oxidative Medicine and Cellular Longevity, IF-6.543, Q2; Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences Q3 журналында жалпы саны 4 мақала; ҚР ҒЖБМ ҒЖБСҚК ұсынған басылымдарда - 3 мақала; шет ел және халықаралық-республикалық конференция материалдары жинақтарында - 13 тезис жарық көрді.

Диссертацияның құрылымы. Диссертациялық жұмыс 131 мәтіндік беттен және нормативтік сілтемелер, белгілеулер мен қысқартулар, кіріспе, әдебиеттерге шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері және оларды талқылау, қорытынды, 236 пайдаланылған әдебиеттер тізімінен тұрады, құрамында 29 сурет, 11 кесте бар.