

әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті

ӘОЖ 57:616.4(043)

Қолжазба құқығында

ЕСЕНБЕКОВА АРАЙЛЫМ ЕСЕНБЕКҚЫЗЫ

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

8D05102 – Биомедицина

Философия докторы (PhD)
дәрежесін алу үшін дайындалған диссертация

Отандық ғылыми кеңесші
б.ғ.к., профессор м.а.,
Аблайханова Н.Т.

Шетелдік ғылыми кеңесші
PhD, профессор Русанова И.
Гранада Университеті, Испания

Қазақстан Республикасы
Алматы, 2024

МАЗМҰНЫ

НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР.....	4
БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР.....	5
КІРІСПЕ.....	7
1 ӘДЕБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ.....	12
1.1 Қант диабетінің анықтамасы және оның классификациясы.....	12
1.1.1 Қант диабеті кезіндегі эндотелий функциясының бұзылуы.....	16
1.1.2 Эндотелий дисфункциясының пайда болуындағы гипергликемияның рөлі.....	17
1.1.3 Қант диабеті кезінде туындайтын микро- және макрокантамырлы асқынулар.....	19
1.2 МикроРНК-ның ашылу тарихы және жалпы мәліметтері.....	23
1.2.1 МикроРНК-ның биогенезі және биологиялық қызметтері.....	25
1.2.2 МикроРНК-ның 2-типті қант диабетінің диагностикасында және патогенезінің туындауында атқаратын рөлі.....	27
1.3 Тотығу стресі және оттегінің белсенді формалары.....	30
1.3.1 Жасушаның антиоксиданттық қорғаныс жүйелері.....	32
1.3.2 Қант диабетінің 2-типі кезінде қан тамырларда асқынулардың дамуындағы тотығу стресінің рөлі.....	35
1.4 Қант диабетінің 2-типіне цитокиндердің рөлі.....	36
2 ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАР МЕН ӘДІСТЕРІ.....	39
2.1 Зерттеу нысаны.....	39
2.2 Зерттеу материалдары.....	40
2.2.1 Қан үлгілерін жинақтау.....	40
2.2.2 Химиялық реагенттер.....	41
2.3 Зерттеу әдістері.....	42
2.3.1 Клиникалық және антропометриялық стандарт әдісі	42
2.3.2 Липидтер профилінің және көмірсулар алмасуының биохимиялық көрсеткіштерін анықтау.....	42
2.3.3 Гемоглобинцианид әдісі (Драбкин әдісі) арқылы қызыл қан жасушаларындағы гемоглобиннің мөлшерін анықтау.....	43
2.3.4 <i>Aebi</i> әдісі арқылы каталаза белсенділігін анықтау.....	43
2.3.5 Супероксиддисмутаза ферментінің белсенділігін анықтау.....	44
2.3.6 Глюкоза-6-фосфат дегидрогеназа ферментінің белсенділігін анықтау.....	46
2.3.7 Тотықсызданған және тотыққан глутатион мөлшерін анықтау.....	47
2.3.8 Қызыл қан жасушаларындағы глутатионпероксидаза белсенділігін анықтау.....	48
2.3.9 Қызыл қан жасушаларындағы глутатионредуктаза белсенділігін анықтау.....	49

2.3.10	Қан плазмасында липидтердің асқын тотығын анықтау.....	49
2.3.11	Қан плазмасында ақуыздың тотығу өнімдерінің жоғарылауын анықтау.....	50
2.3.12	Иммуноферменттік талдау арқылы цитокиндердің мөлшерін анықтау.....	51
2.3.13	Айналымдағы жалпы РНҚ бөліп алу әдісі.....	51
2.3.14	қДНҚ алу және кері транскрипциялық ПТР әдісі.....	52
2.3.15	микроРНҚ-ның экспрессия деңгейлерін анықтау үшін нақты уақыттағы сандық ПТР (RT-qPCR) әдісі.....	53
2.3.16	Нәтижелерді статистикалық өңдеу.....	54
3	ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ.....	55
3.1.	Қант диабетінің 2-типімен ауыратын науқастардың қанындағы биохимиялық көрсеткіштерді (HbA1c, глюкоза, инсулин, НОМА-IR индексі, жалпы холестерин, триглицерид) салыстырмалы талдау.....	55
3.2	Қант диабетінің 2-типімен ауыратын науқастардың қан плазмасындағы hsa-miR-21-5p және hsa-miR-126-5p салыстырмалы экспрессиясының деңгейін анықтау.....	65
3.3	Науқастардың қанындағы тотығу зақымдануының маркерлерін және эндогендік антиоксиданттық қорғаныс жүйесінің көрсеткіштерін талдау арқылы тотығу-тотықсыздану күйін бағалау.....	68
3.4	Қант диабетінің 2-типімен ауыратын науқастардың қан плазмасындағы қабыну маркерлерінің (ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-18 TNF-α) спектрін анықтап, тотығу-тотықсыздану маркерлері, қабыну көрсеткіштері мен микроРНҚ салыстырмалы экспрессиясы деңгейі арасындағы корреляцияны талдау.....	79
3.5	Зерттеу топтарындағы қант диабетінің 2-типі және оның қантамырлы асқынуларының болуымен байланысты маркерлердің диагностикалық мәнін анықтау	84
4	АЛЫНҒАН НӘТИЖЕЛЕРДІ ТАЛДАУ	89
	ҚОРЫТЫНДЫ.....	96
	ПАЙДАЛАНҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ.....	98
	ҚОСЫМША-А Зерттеуге қатысуға берілетін ақпараттық келісім.....	117
	ҚОСЫМША-Ә Хуан И. Менчаканың Жаңа азаматтық ауруханасының және Гранада университетінің этика комитеті.....	121
	ҚОСЫМША-Б Этикалық комитет отырысының хаттамасы.....	127
	ҚОСЫМША-В Диссертациялық жұмыстың нәтижелерін оқу үрдісіне ендіру актісі.....	128

НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР

Бұл диссертациялық жұмыста келесі стандарттарға сілтемелер жасалды:
МЕМСТ 7.32-2001. Ғылыми-зерттеу жұмысы туралы есеп. Құрылымы және дайындау ережелері.

ҚР ГОСО 5.04.034-2011. Қазақстан Республикасы білім берудің мемлекеттік жалпы білім беру стандарты. Жоғары оқу орнынан кейінгі білім, докторантура. Негізгі ережелер (2012 жылғы 23 тамыздағы № 1080 өзгертулер);

МЕМСТ 7.1-2003. Библиографиялық жазба. Библиографиялық сипаттама. Жалпы талаптар және құрастыру ережелері.

БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР

ADA	- Американдық қант диабеті қауымдастығы (<i>American Diabetes Association</i>)
ADIPOR1	- адипонектин 1 рецепторы
AGO	- аргонавт (<i>Argonaute</i>)
AUROC	- операциялық жұмыстың сипаттамасы астындағы аудан (<i>area under the receiver operating characteristics</i>)
DGCR8	- (DiGeorge Syndrome Critical Region 8)
EXPO-5	- экспортин-5 (<i>Exportin 5</i>)
FPG	- аш қарынға плазмадағы глюкозасының деңгейі (<i>fasting plasma glucose</i>)
GSH	- тотықсызданған глутатион (<i>glutathione</i>)
GSSG	- тотыққан глутатион (<i>Glutathione Persulfide</i>)
GSSR	- дисульфидтік байланыс арқылы ақуызбен байланысқан глутатион
HOMA-IR	- инсулинге резистенттілік үшін гомеостатикалық модельді бағалау
IDF	- Халықаралық диабет федерациясы (<i>International Diabetes Federation</i>)
IGT	- глюкозаға төзімділіктің бұзылуы
IRS	- инсулин рецепторларының субстраты
NADP	- никотинамидадениндинуклеотид
NADPH	- никотинамидадениндинуклеотидфосфат
NF-κB	- ядролық фактор каппа В (<i>Nuclear factor kappa B</i>)
NO	- азот оксиді
NOS	- азот оксид синтаза (<i>Nitric oxide synthase</i>)
OPA	- орто-фталальдегид (<i>Ortho-phthalaldehyde</i>)
NEM	- N-этилмалеймидпен (<i>N-Ethylmaleimide</i>)
PAI-1	- плазминоген активаторының тежегіштері-1
PBS	- фосфатты-тұзды буфер (<i>Phosphate Buffer Saline</i>)
PECAM-1	- эндотелий жасушаларындағы тромбоциттердің адгезия-1 молекуласы (<i>Platelet endothelial cell adhesion molecule</i>)
PKC	- протеинкиназа С
RISC	- ген өшірілуінің РНҚ-индукцияланатын кешені (<i>RNA-induced silencing complex</i>)
ROC	- қабылдағыштың жұмыс сипаттамасының қисығы (<i>receiver operating characteristic</i>)
RT-qPCR	- нақты уақыттағы сандық ПТР
Sp1	- спецификалық ақуыз 1
TNF-α	- ісік некрозының факторы-α (<i>Tumor necrosis factor α</i>)
TGF-β	трансформациялық β өсу факторы
VCAM-1	- тамыр жасушаларының адгезиясы 1 молекуласы (<i>VCAM-1 - vascular cell adhesion molecule 1</i>)

VEGF	- қан тамырларының эндотелийінің өсу факторы (<i>vascular endothelial growth factor</i>)
АБТ	- азоттың белсенді түрлері
АГ	- артериялық гипертензия
АИТВ-	- адамның иммун тапшылығы вирусы
АОРР	- ақуыздың терең тотығу өнімдерінің жоғарылауы
Г-6-ФД	- глюкоза -6- фосфатдегидрогеназа
ГПО	- глутатионпероксидаза
ГР	- глутатионредуктаза
ДАС	- диабеттік аяқ синдромы
ДДҰ	- дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымы
ДНҚ	- дезоксирибонуклеин қышқылы
ЖИА	- жүректің ишемиялық ауруы
ЖҚА	- жүрек қан тамырлар ауруы
ЖЦБ	- жедел цереброваскулярлық бұзылулар
ИЛ-10	- интерлейкин -10
ИЛ-18	- интерлейкин -18
ИЛ-6	- интерлейкин- 6
ИФА	- иммуноферменттік анализ
кДНҚ	- комплементарлы ДНҚ
ҚД	- қант диабеті
ҚД1Т	- қант диабетінің 1-типі
ҚД2Т	- қант диабетінің 2-типі
ЛАТ	- липидтің асқын тотығы
мРНҚ	- матрицалық рибонуклеин қышқылы
микроРНҚ	микро рибонуклеин қышқылы
ОБТ	- оттегінің белсенді түрлері
ПТР	- полимеразды тізбекті реакция
РНҚ	- рибонуклеин қышқылы
СЖЖ	- созылмалы жүрек жеткіліксіздігі
СОД	- супероксиддисмутаза
ЭДТҚ	- этилендиаминотетраацетат қышқылы

КІРІСПЕ

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 (HbA_{1c}, глюкоза, инсулин, HOMA-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 қабыну маркерлерінің (ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-18 және TNF- α) спектрін анықтап, тотығу-тотықсыздану маркерлері, қабыну 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 асқынуларының 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 (HbA1c, 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 қабынумен 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, қабыну 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, КЕАҚ 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.

1 ӘДЕБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ

1.1 Қант диабетінің анықтамасы және оның классификациясы

Қант диабеті (ҚД) – инсулин секрециясының бұзылуының, инсулиннің әсерінің немесе осы екі фактордың нәтижесі болып табылатын созылмалы гипергликемиямен сипатталатын метаболиттік аурулар тобы [1]. 1965 жылдан бастап Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымы (ДДҰ) қант диабетінің жіктелуін мерзімді түрде жаңартып, қайта қарап отырады. ДДҰ 1965 жылы өзінің бірінші классификациясында диагностиканың жасқа сай төрт категориясын қолдануды ұсынды: 0-ден 14 жасқа дейінгі нәресте немесе бала, 15-тен 24 жасқа дейінгі жасөспірім, 25-тен 64 жасқа дейін ересек және 65 жастан бастап, одан үлкен қарт адамдар. ҚД-нің жасқа сай жіктелуін толықтыру барысында, ҚД-нің кәмелетке толмаған, инсулинге резистентті, гестациондық, ұйқы безі, эндокриндік және ятрогендік басқа түрлері ұсынылды [2].

1999 жылы алғаш рет гипергликемияның дамуына алып келетін негізгі этиопатогенетикалық механизмдерге байланысты ҚД түрлерін бөлу принципі ұсынылды. Инсулинді тағайындау қажеттілігі қазіргі уақытта қант диабетінің түрлерін анықтамайды. 1999 жылғы жіктеу бойынша «инсулинге тәуелсіз» және «инсулинге тәуелді» ҚД ұғымдарын жойып, екі негізгі ҚД1Т және ҚД2Т түрлерін ұсынды. Сонымен қатар, инсулин терапиясы аурудың белгілі бір сатысында ҚД-нің кез-келген түрімен ауыратын науқастарға қажет болуы мүмкін екендігі айтылды. ДДҰ классификацияға ҚД-нің әртүрлі этиологиялық түрлерін ғана емес, сонымен қатар аурудың клиникалық кезеңдерін де қосуды ұсынды [3]. Клиникалық кезеңдерді енгізу ҚД бар адамдар түріне қарамастан, нормогликемиядан кетозбен ауыр гипергликемияға дейін бірнеше кезеңнен өтуі мүмкін екенін көрсетті. 1-типті қант диабеті β -жасушалардың бұзылуы, әдетте инсулиннің абсолютті жетіспеушілігіне негізделген. ҚД2Т кезінде перифериялық ұлпалардың инсулин әсеріне резистенттілігі және инсулин секрециясының бұзылуы сияқты екі патогенетикалық үрдістің үйлесуі байқалады [4].

2019 жылы ДДҰ ҚД-нің жаңартылған классификациясын жариялады. Қант диабетінің екі негізгі түрі арасындағы клиникалық айырмашылықтар аурудың басталу жасына, β -жасуша функциясының бұзылу және инсулинге резистенттілік дәрежесіне, ҚД-мен байланысты аутоантиденелердің болуы және денсаулық жағдайын сипаттайтын көрсеткіштер бойынша инсулин тағайындау қажеттілігіне негізделген.

1-типті қант диабеті және 2-типті қант диабеті - бұл аурудың клиникалық көрінісі мен ағымы айтарлықтай ерекшелететін гетерогенді аурулар.

Қант диабетінің жіктелуінің әрқайсысының өзіндік сипаттамалары бар келесі жалпы санаттарға бөлуге болады (кесте 1): *1-типті қант диабеті* - инсулиннің абсолютті тапшылығының дамуына, көмірсулардың бұзылуына, содан кейін метаболизмнің басқа түрлерінің дамуына әкелетін полигенді мультифакторлы ауру [5]. Қант диабетінің бұл түрі көбінесе балалар мен жасөспірімдерде кездеседі, бірақ ол кез-келген жаста пайда болуы мүмкін. Бұл

Кесте 1- Қант диабетінің жіктелуі (ДДҰ, 2019) [6]

ҚД түрлері	Анықтамасы
Қант диабетінің 1-типі	Әдетте абсолютті инсулин жеткіліксіздігіне әкелетін, ұйқы безінің β -жасушаларының иммуно-делдалдық бұзылуына негізделген; балалық және ерте есейген кезде басталады.
Қант диабетінің 2-типі	Әр түрлі дәрежедегі ұйқы безінің β -жасушаларының дисфункциясы және инсулинге төзімділік; әдетте артық салмақ пен семіздікпен байланысты.
<i>Гибридті түрлері</i>	
Ересектердегі баяу дамып келе жатқан иммундық-делдалдық ҚД	Ересектердегі баяу дамып келе жатқан ҚДІТ ұқсас, бірақ көбінесе метаболикалық синдромның белгілері бар, глютамин қышқылының декарбоксилазасына қарсы аутоантиденелердің бір түрі және β -жасушаларының көптеген қызметтерінің сақталуымен сипатталады.
Кетозға бейімділігі бар 2-типті ҚД	Кетоз және инсулин тапшылығы, бірақ кейінірек инсулинді қажет етпейді.
<i>ҚД-нің басқа да спецификалық түрлері</i>	
Моногенді ҚД (β -жасуша функциясының моногендік ақаулары, инсулин әсеріндегі моногендік ақаулар)	Геннің белгілі бір мутацияларынан туындаған, бірнеше клиникалық көріністері бар, әр түрлі емдеуді қажет етеді; балалық және жасөспірімдік шақта кездеседі. Арнайы гендік мутациялардан туындаған; семіздіксіз ауыр инсулинге төзімді белгілері бар. Қант диабеті β -жасушалар инсулинге төзімділікті өтей алмайтын кезде көрінеді.
Ұйқы безінің экзокринді бөлігінің аурулары нәтижесінде туындайтын ҚД	Ұйқы безінің экзокринді бөлігінің аурулары мен жарақаттарымен байланысты.
Дәрілік заттармен немесе химиялық заттармен индукцияланған ҚД	Кейбір дәрі-дәрмектерден немесе химиялық заттар туындаған (никотин қышқылы, глюкокортикоидтар, қалқанша безінің гормондары, α -адреномиметиктер, β -адреномиметиктер, тиазидтер, диазоксид, дилантин, пентамидин, вакор, α -интерферон).
ҚД-мен байланысатын басқа генетикалық синдромдар	ҚД даму қаупін арттыратын көптеген генетикалық бұзылулар.
Инфекция	Вирустық және бактериялық инфекциялардың нәтижесінде дамиды (туа біткен қызамық, цитомегаловирус т.б.).
Эндокринопатия	Бірқатар эндокринопатиялармен байланысты (акромегалия, гипертиреоз, Кушинг синдромы, т.б.).
Иммунно-делдалдық қант диабетінің ерекше арнайы түрлері	Сирек кездесетін иммундық аурулармен байланысты.
Жіктелмеген ҚД	Ауру алғаш пайда болғанда нақты диагностикалық санат болмаған кезде уақытша қолданылады.
Гестационды қант диабеті	Жүктілікке дейін айқын қант диабеті болмаған, екінші немесе үшінші триместрінде диагноз қойылған қант диабетінің түрі.

ұйқы безінің инсулинді жеткіліксіз өндіруімен байланысты және әдетте

инсулинді күнделікті енгізуді қажет етеді. Аурудың белгілері тұрақты шөлдеу, зәр шығарудың, шаршаудың жоғарылауы, дене салмағының айтарлықтай төмендеуі байқалады. Науқастың жағдайы тез нашарлайды, ацетонурия дамиды. Бұл науқастардың клиникалық сипаттамасына дене салмағының төмен индексі, диагноз қойылғаннан кейін 12 ай ішінде инсулин тағайындалуы және инсулинді уақытылы енгізудің болмауынан кетоацидоздық команың дамуының жоғарылауы кіреді [7].

2-типті қант диабеті (ҚД2Т) – ұйқы безінің β жасушаларының дисфункциясының, инсулинге резистенттіліктің немесе инсулинге сезімталдықтың төмендеуінің нәтижесінде гипергликемиямен сипатталады, қандағы глюкоза деңгейінің жоғарылауын төмендету мақсатында гиперинсулинемияға әкелетін күрделі метаболикалық ауру болып табылады. Бірте-бірте ұйқы безінің аралдарының β жасушалары дисфункциясы нәтижесінде инсулиннің салыстырмалы түрде жеткіліксіз түзілуі дамиды. ҚД2Т 40 жастан асқан егде жастағы адамдарда жиі кездеседі, дегенмен балалар мен жасөспірімдерде аурудың таралуы семіздік деңгейінің жоғарылауына байланысты үнемі өсіп келеді. Симптомдарға зәр шығарудың жоғарылауы, шөлдеу, шаршау және аяқтың төменгі бөлігінің жарасы баяу жазылуы жатады [8].

Халықаралық диабет федерациясының қант диабеті атласының (IDF, 2021) 10-шы басылымында қант диабетінің таралуы, глюкозаға резистенттіліктің бұзылуын бағалау ұсынылған, қант диабетімен ауыратын адамдардың жалпы саны 2030 жылға қарай 643 миллионға (9 ересек адамның 1-і) және 2045 жылға қарай 784 миллионға (8 ересек адамның 1-і) жетеді және 20 мен 79 жас аралығындағы әлем халқының 10,2 % 2 типті қант диабетінен зардап шегеді деп болжануда [1]. Қант диабетімен ауыратын 5 адамның 4-уі (81 %) табысы төмен және орташа елдерде тұрады. Дүние жүзінде 541 миллион ересек адам немесе 10 адамның 1-уінде глюкозаға резистенттілік бұзылған, бұл оларда 2-типті қант диабетінің даму қаупін жоғарылатады [9].

Гибридті түрлері: Ересектердегі баяу дамып келе жатқан иммуноделдалдық ҚД. Ересектердегі баяу дамып келе жатқан иммуно-делдалдық ҚД өршуі ҚД2Т клиникалық көріністеріне ұқсас және аурудың бірінші жылында көмірсулар алмасуының қалыпты көрсеткішін сақтау диета мен қантты төмендететін препараттарды қолдану арқылы қол жеткізіледі, дегенмен, содан кейін инсулин терапиясын қажет ететін көмірсулар алмасуының декомпенсациясы дамиды.

Кетозға бейімділігі бар 2-типті ҚД. Бұл ауру циклдік ағыммен сипатталады: инсулинді тағайындауды талап ететін ауыр гипергликемиямен және кетоацидозбен жедел басталуы ремиссия кезеңімен ауыстырылады, соның барысында инсулинді қабылдауды тоқтатуға болады, көмірсу алмасуының көрсеткіштерін диета немесе гипогликемиялық препараттарды қабылдау арқылы қалпына келтіреді. Ремиссияның ұзақтығы, әдетте, 10 жылдан аспайды [10].

ҚД-нің басқа да спецификалық түрлері: Моногенді ҚД (β -жасуша функциясының моногендік ақаулары, инсулин әсеріндегі моногендік ақаулар).

ҚД-нің моногендік формалары барлық ҚД жағдайларының 5% аспайды. ҚД-нің моногендік түрлерін анықтау емдеудің дұрыс тактикасын анықтап қана қоймай, сонымен қатар аурудың ағымы мен оның асқынуларының сипатын болжау, кейбір жағдайларда синдромның басқа компоненттерінің болуын анықтайды, сонымен қатар жақын туыстарында осындай бұзылулардың туындауын болжауға мүмкіндік береді [11].

Ұйқы безінің экзокринді бөлігінің аурулары. Ұйқы безінің диффузды зақымдануын тудыратын кез келген үрдіс ҚД туындатуы мүмкін. Мұндай үрдістерге панкреатит, жарақат, ісік, қабыну, инфекция және панкреатэктомия жатады. Ұйқы безі ауруынан туындаған қант диабеті (100 000 адамға шаққанда 2,59 жиілікте) ҚД1Т қарағанда жиі кездеседі (100 000 адамға шаққанда 1,64 жиілікте), бірақ дәрігерлер жиі ҚД2Т деп қате жіктейді [12].

Дәрілік заттармен немесе химиялық заттармен индукцияланған ҚД. Белгілі бір дәрілік заттардың немесе химиялық заттардың ұйқы безінің қызметіне және қандағы қант деңгейіне әсер ету нәтижесінде пайда болады. Бұл жағдай тудырушы факторлардың әсер ету ұзақтығына байланысты уақытша немесе ұзақ мерзімді болуы мүмкін.

ҚД-мен байланысатын басқа генетикалық синдромдар. Көптеген генетикалық бұзылулар мен хромосомалық ауытқулар қант диабетінің даму қаупін арттырады [13].

Инфекциядан туындаған ҚД. Бұл жұқпалы аурудың ағзадағы қант деңгейін реттеудің әсері нәтижесінде дамиды қант диабетінің бір түрі болып табылады. Инфекция глюкоза метаболизмінің уақытша немесе тұрақты бұзылуына әкелуі мүмкін, нәтижесінде қандағы қант деңгейі жоғарылайды. Ағза инфекциямен күрескен кезде әртүрлі химиялық сигналдар мен цитокиндер босатылады, бұл қант деңгейін реттеуге жауапты жасушалардың жұмысына әсер етіп, ағзадағы жасушалардың глюкозаны сіңіруіне жауап беретін гормон - инсулиннің жеткіліксіз өндірілуін тудыруы мүмкін. Нәтижесінде қандағы қант деңгейі жоғарылайды [14].

Эндокринопатия. Инсулиннің антагонистері болып табылатын гормондардың шамадан тыс секрециясымен сипатталатын ауруларда пайда болады. Сонымен қатар, кортизол, өсу гормоны, қалқанша без гормоны, альдостерон, адреналин және ішек гормондары сияқты бірнеше гормондардың секрециясының жоғарылауы да қант диабетін тудыруы мүмкін [15].

Иммундық-делдалдық қант диабетінің ерекше арнайы түрлері. ҚД1Т қарағанда белгілі бір иммунологиялық аурулармен байланысты ҚД-нің кейбір түрлері патогенезге немесе этиологияға ие. Инсулин рецепторларына антиденелер инсулин рецепторларымен байланысу арқылы қант диабетін тудыруы мүмкін және инсулиннің өзінің арнайы тіндеріндегі рецепторларымен байланысуын тежейді. Алайда, кейбір жағдайларда бұл антиденелер рецептормен байланысқаннан кейін инсулин агонистері ретінде әрекет ете алады, сондықтан гипогликемияны тудыруы мүмкін [16].

Жіктелмеген ҚД - ең алғаш 2019 жылы классификация ішіне қосылды. «Жіктелмеген қант диабеті» диагнозын уақытша, аурудың алғаш пайда болғанда,

ҚД түрін анықтау қиын болған кезде клиникалық көрініске сүйене отырып, қолдануға болады және қосымша зерттеулер мен бақылауларды қажет етеді (С-пептид деңгейін анықтау, антиденелерді зерттеу, молекулалық-генетикалық зерттеу). Мамандар мұны уақытша категория деп, алдағы уақытта ҚД түрін анықтау қажеттігін ұсынады.

Гестационды қант диабеті (ГҚД). Қант диабетінің бұл түрі әйелдерде жүктілік кезінде дамиды және ана мен нәресте үшін асқынуларға әкелуі мүмкін. Әдетте ол нәресте туылғаннан кейін жоғалады, бірақ болашақта 2-типті қант диабетінің даму қаупін арттыруы мүмкін [17]. 2013 жылы ДДҰ жүктілік кезінде алғаш рет пайда болған гипергликемияның жіктелуі бойынша ұсынымдарын жаңартты. ГҚД ауыратын науқас әйелдердің келесі жүктіліктерінде ГҚД даму қаупі тобын құрайды, әрі ҚД даму қаупі жоғары науқастар эндокринологтың бақылауында болуы қажет. ГҚД жағдайларының көпшілігінде глюкозаның реттелуі босанғаннан кейін қалыпқа келеді. ГҚД жүкті әйелдердің шамамен 7% - да байқалады (әр түрлі популяцияларда 1-ден 14% - ға дейін), бұл жыл сайын 200000-нан астам жағдайды құрайды [18].

Болашақта тұрақты гипергликемияның дамуын тудыратын этиопатогенетикалық механизмдер туралы жаңа білімдердің пайда болуы қант диабетінің жіктелуін қайта қарауға алып келетіні сөзсіз.

1.1.1 Қант диабеті кезіндегі эндотелий функциясының бұзылуы

Эндотелий - тамыр түтіктерінің ішіндегі кеңістік бетін қаптайтын және қан мен тамыр қабырғасы арасындағы тосқауыл рөлін атқаратын бір жасушалы қабат [19]. Эндотелий жасушалары жасушалардың адгезиясын, тіндердің өсуі мен метаболизмін, ангиогенезді, қабыну реакциясын реттеуді, қан тамырларының тұтастығы мен өткізгіштігін, гемостазды, тамырда тегіс бұлшықет жасушаларының көбеюін, фибринолиз, тромб түзілуі мен оның белсенуі, сонымен қатар қан ағымын сақтауды қоса алғанда, көптеген функцияларды орындайды. Бұл реттелетін тепе-теңдіктің бұзылуы эндотелий дисфункциясын тудырады [20]. Эндотелий жасушалары метаболиттік белсенді және физиологиялық жағдайларда қан тамырларының гомеостазын сақтау үшін қажетті паракриндік, эндокриндік және аутокриндік қызметтерге ие [21]. Қазіргі уақытта эндотелий дисфункциясының вазомоторлы, гемостатикалық, адгезиялық, ангиогендік сияқты 4 типтік түрі бар. Дегенмен, оқшауланған эндотелий дисфункциясы жағдайлары сирек кездеседі, әдетте, көптеген ауруларда эндотелийдің біріктірілген дисфункциясы байқалады [22]. Жануарларға жасалынған зерттеу үлгілерінде, сондай-ақ адамдарда ұзақ, өтпелі және жедел гипергликемия салдарынан болатын макро- және микротамырлық асқынуларда эндотелий функциясының бұзылуын көрсетеді [23, 24]. Қант диабетімен ауыратын науқастарда азот оксиді (NO) және простаглицлин сияқты негізгі тамыр тонусын реттейтін вазодилататорлар синтезінің төмендеуі, сонымен қатар ең алдымен, эндотелийдің вазомоторлы қызметін көрсететін эндотелин-1 мен тромбоксан A2 вазоконстрикторлардың деңгейінің жоғарылауы байқалады [25]. Қант диабетінде селективті тұқымдасының адгезия молекулалары

мен иммуноглобулиндер, сондай-ақ эндотелий жасушаларындағы тромбоциттердің адгезия-1 молекуласы (PЕСАМ-1), плазминоген активаторының тежегіштері-1 (РАI-1) экспрессиясының жоғарылауы байқалады. Гипергликемия тамыр қабырғасының тосқауылдық функциясының бұзылуымен бірге жүретін, эндотелий жасушаларының жасуша бетіндегі қосымша қорғаныс қабатын өзгертетін факторлардың бірі болып табылады және оның адгезиялық қасиеттерінің артуы, атап айтқанда, тамыр жасушаларының адгезиясы 1 молекулаларының (VСАМ-1) эндотелий жасушаларының бетінде шамадан тыс экспрессиясына байланысты [26].

Қант диабеті кезіндегі ангиогенді эндотелий дисфункциясының пайда болуы мен дамуындағы қан тамырларының эндотелийінің өсу факторы (VEGF) сигналдық белогының ролін атап өткен жөн, өйткені ол әртүрлі тіндегі тамырлардың эндотелий жасушаларының көбеюін реттеуге қатысады. VEGF синтезінің жоғарылауының жағымсыз әсерлері басқа өсу факторларымен, соның ішінде инсулин тәрізді, трансформациялық β өсу факторы (TGF- β), тромбоциттер және т.б. реттеуші кешенде жүзеге асырылады. Қант диабеті кезіндегі ангиогендік функцияның бұзылуы жөніндегі соңғы зерттеулерде гипергликемия эндотелий жасушаларының көбеюі мен дифференциациясын тікелей тудыратынын көрсетеді [27].

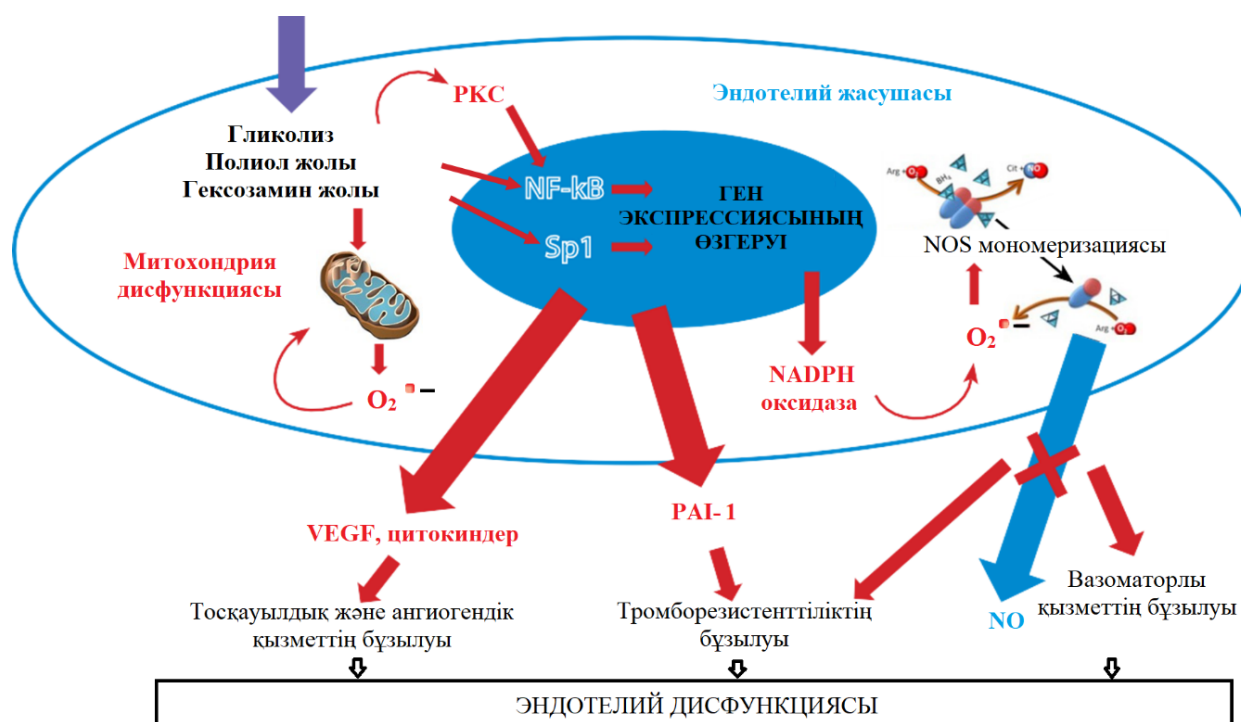
1.1.2 Эндотелий дисфункциясының пайда болуындағы гипергликемияның рөлі

Гипергликемия жағдайында глюкозаның тотығуының полиол жолы белсендіріліп, альдозаредуктаза ферментінің көмегімен глюкоза осмотикалық белсенді сорбитол мен фруктозаға айналады. Бұл жағдайда NO синтезі (азот оксиді, NOS) және глутатион мен E витаминінің антиоксиданттық жүйелерінің жұмысында үлкен маңызға ие жасушалық мембранамен байланысқан мультимолекулалық ферменттік кешен никотинамидадениндинуклеотид фосфаты (NADPH) жұмсалады [28]. NADPH тапшылығы бос радикалдардың тотығуын белсендіріп және NO синтезін төмендетіп, антиоксиданттық қорғау жүйесінің бұзылуы жүреді [29]. Гипергликемия жағдайында негізгі тегіс бұлшықет жасушаларында NO-ның диффузия жылдамдығы баяулап, NO прекурсоры болып табылатын L-аргининнің қолжетімділігі төмендейді, NO-ның бос радикалды ыдырауы және басқа вазодилататорлардың инактивациясы жоғарылайды [30].

Гипергликемия әсерінен глюкоза метаболизмінің гексозаминдік жолын белсендіру нәтижесі спецификалық ақуыз 1 (Sp1) және ядролық фактор каппа-белсендірілген B жасушаларының жеңіл тізбегін күшейткіш (NF-kB) сияқты транскрипция факторларының белсенділігінің өзгеруі болып табылады [31]. Эндотелий жасушаларында Sp1 ақуызы РАI-1 транскрипциясын индукциялайды, бұл тамыр қабырғасының тромборезистенттілігін төмендетеді, ал NF-kB қабынуға дейінгі цитокиндердің түзілуіне ықпал етеді [32].

Гипергликемияның балама әсерінің маңызды механизмі диациглицерин-протеинкиназа C сигналдық жолын белсендіру болып табылады. Гипергликемия

кезінде гликолиздің аралық өнімі дигидроксиацетонфосфаттың жасушалардағы концентрациясы жоғарылап, глицерин-3-фосфатқа дейін тотықсызданып, протеинкиназа С белсендіретін диацилглицерол синтезін арттырады [33]. Протеинкиназа С микроциркуляторлық арна құрылымының қайта құрылуына алып келіп, эндотелиоциттердің ангиогендік белсенділігінің жоғарылауын тудырады. Сонымен қатар VEGF, эпидермиялық өсу факторы және TGF- β өндірісінің ұлғаюын ынталандырады. NF- κ B белсендіру арқылы тегіс бұлшықет жасушаларында протеинкиназа С белсендірілуі ген экспрессиясын тежеп гуанилатциклаза ферментінің белсенділігін басады, оның көмегімен NO өзінің әсерін, атап айтқанда вазодилатация жүзеге асырады [34]. Соңғы жылдардағы әдеби деректерде қант диабетімен ауыратын науқастарда гликемиялық бақылау қан тамырлары қабырғасының өзгеруін төмендететіні азайтатынын және ангиопатияның клиникалық белгілерінің дамуын болдыртпайтыны туралы мәліметтер кездеседі. [35]. Сондықтан, гипергликемия қант диабетінде эндотелий дисфункциясын тудыратын бірнеше механизмдерді, соның ішінде протеинкиназа С (PKC) және гексозамин жолының шамадан тыс белсендірілуін қамтитын бірнеше жасушалық механизмдер арқылы қан тамырларына зақым келтіреді.



Сурет 1. Қант диабетіндегі эндотелий дисфункциясының патогенезінің схемасы [36]

Эндотелий функциясы ағзаның гомеостазын сақтауда маңызды рөл атқарады және эндотелий дисфункциясы көптеген аурулардың, соның ішінде қант диабетінің патогенезіндегі орталық буын болып табылатын тұжырымдар жасалған. Осылайша, ұсынылған деректер эндотелий жасушаларының

зақымдануын тудыратын негізгі факторлардың арасында гипергликемияны және гликерленудің соңғы өнімдерінің жинақталуын анықтауға мүмкіндік беретін бірнеше маңызды аспектілерді қамтиды (сурет 1). Полиол және гексозамин жолдарының белсенуін тудыратын гипергликемия, гликация өнімдерінің рецепторлық және рецепторлық емес әсерімен бірге С протеинкиназасының, эндотелий NOS белсенділігінің өзгеруі арқылы бірқатар гендердің экспрессиясының өзгеруіне, соның ішінде NADPH-оксидаза, PAI-1, VEGF, қабынуға дейінгі цитокиндер гендерінің экспрессиясы арқылы да эндотелиоциттердің сигналдық жүйелерінің метаболизмі мен жұмысын бұзады.

Қант диабетіндегі эндотелий жасушаларының дисметаболизмінің ең маңызды көріністері тотығу стресі және азот оксиді циклінің бұзылуына алып келеді. Қант диабетіндегі эндотелиоциттердің тотығу стресі митохондриялық дисфункцияны және эндотелий NOS мономерленуі антиоксиданттық жүйелердің функционалдық жеткіліксіздігі, эндотелийдің үдемелі зақымдануы мен дисфункциясын қамтамасыз ететін оттегінің белсенді түрлерінің тұрақты гипербөлінуін тудырады. Сондықтан қант диабетіндегі эндотелий дисфункциясының патогенетикалық коррекциясы адекватты гликемиялық бақылауды қамтамасыз етуге ғана емес, сонымен қатар тотығу стресінің құбылыстарын жоюға бағытталуы керек. Эндотелий жасушаларындағы тотығу стресінің нәтижесі эндотелийдің NOS тежелуі болып табылады. NO бөлінуі мен биожетімділігінің төмендеуі вазомоторлық функцияның бұзылуын тудырып, оның тегіс бұлшықет жасушаларына паракринді кеңейту әсерін тиімді қамтамасыз ету қабілетінің төмендеуіне алып келеді. Сонымен қатар, NO биожетімділігінің төмендеуі, оның ішінде тромбоциттермен, лейкоциттермен паракриндік өзара әрекеттесулердің өзгеруі, сондай-ақ PAI-1 шамадан тыс экспрессиясы эндотелиальды тромборезистенттілікті бұзады. Соның нәтижесінде гипоксия туындап, эндотелиальді функцияны одан әрі нашарлататын тамыршілік микроциркуляцияның бұзылуын тудыруы мүмкін. VEGF және қабынуға қарсы цитокиндердің шамадан тыс экспрессиясымен біріктірілген NO-ның аутокриндік реттеуші әсерінің бұзылуы ангиопатияның дамуын тудырады. Нәтижесінде қан тамырлар арнасының құрылымын қайта құратын, эндотелий жасушаларының тосқауылдық және ангиогендік функцияларының өзгеруін тудырады [36]. Демек, қант диабетіндегі эндотелий дисфункциясы эндотелийдің барлық негізгі функцияларының, соның ішінде тосқауылдық, вазомоторлық, ангиогендік және тромборезистенттіліктің бұзылуымен көрінеді.

1.1.3 Қант диабеті кезінде туындайтын микро- және макроваскулярлық асқынулар

ҚД2Т пайда болуы клиникада диагноз қойылғанға дейін 4-7 жыл бұрын пайда болады, ал эндотелий жасушаларына созылмалы гипергликемияның ұзақ әсер етуі эндотелий дисфункциясын тудырып, кейіннен гликемиялық бақылауға қарамастан, ҚД2Т асқынуларының жетекші себептерінің бірі болып саналады [37, 38].

Қант диабетінің созылмалы асқынуларының келесі топтары ажыратылады:

1. Диабеттік ангиопатия
 - Микроваскулярлық асқынулар (микроангиопатиялар);
 - Макроваскулярлық асқынулар (макроангиопатиялар);
2. Диабеттік нейроостеоартропатия;
3. Диабеттік аяқ синдромы.

2-типті қант диабеті бар науқастарда ретинопатия, нейропатия, нефропатия сияқты микротамырлық асқынулардың даму қаупі жоғары. Клиникалық зерттеулер қан тамырларының асқынуын төмендетуде тек гликемиялық бақылауға бағытталған емдеудің тиімсіз екенін көрсетеді. Қан тамырларының зақымдануын төмендету үшін жаңа терапиялық мақсаттарды іздеу қажет.

Диабеттік ангиопатия - қант диабетіндегі қан тамырларының (негізінен капиллярлардың) жалпыланған зақымдануы, тамыр қабырғаларының зақымдануынан тұратын және гемостаздың бұзылуымен біріктірілген. Қант диабетіне тән гормоналды-метаболическі бұзылулар диабеттік ангиопатияның дамуында жетекші рөл атқарады деп саналады [39].

Қант диабетінің созылмалы асқынуларының патогенезінде келесі факторлардың: полигендік тұқым қуалаушылық, глюкоза уыттылығы (гликацияның соңғы өнімдерінің түзілуімен ақуыздардың ферментативті гликациясы, өсу факторларының экспрессиясы, цитокиндердің активтенуі, протеинкиназа С белсенділігінің жоғарылауы, тотығу стресі және т.б.), дислипидемия, гемодинамикалық бұзылулардың маңызы зор [40].

Диабеттік нейропатия. Диабеттік нейропатия - қант диабетіндегі дисметаболикалық процестерден туындаған перифериялық жүйке жүйесінің ерекше зақымдалуы. Ол сенсорлық бұзылулармен (парестезия, аяқ-қолдардың ұюы), вегетативті дисфункциямен (тахикардия, гипотензия, дисфагия, диарея, ангідроз), несеп-жыныс жүйесінің бұзылуымен және басқа белгілермен көрінеді. ДДҰ мәліметтері бойынша, диабеттік полиневропатия - жүйке талшықтарының үдемелі өлуімен сипатталатын ауру. Диабеттік полиневропатияның әртүрлі формаларының даму жиілігі 65-80% жетеді. Бұл асқыну аяқтың төменгі бөліктерінің ампутацияларының 50-75% құрайды [41, 42].

Диабеттік ретинопатия. Диабеттік ретинопатия - көру қабілетінің толық жоғалуына әкелетін терминалдық сатыдағы микротамырлы бұзылулар мен көз тордың өзгерістері. Диабеттік ретинопатия 2-типті қант диабеті бар науқастарда соқырлықтың ең көп таралуы, 2-типті қант диабеті басталған кездегі жағдайлардың 7-20%-дан астамы және аурудың ұзақтығы 20 жылдан астам болса 70-80% жетеді. Диабеттік ретинопатия дамуының ерекшелігі көздің торлы қабығының тамырларының зақымдануы ұзақ уақыт бойы байқалмайды, аурудың алғашқы кезеңдерінде көру өткірлігінің төмендеуі болмайды. Тек болашақта үрдістің торлы қабықтың макулярлық аймағына ауысуы кезінде бұлыңғыр көру, заттардың бұрмалануы, көру өткірлігінің өзгеруі туралы шағымдар пайда болады [43-45].

Диабеттік нефропатия. Диабеттік нефропатия және созылмалы бүйрек ауруы - қант диабеті кезіндегі бүйректің ерекше зақымдалуы, бүйрек алмастыру терапиясын (диализ, трансплантация) жүргізуді талап ететін терминалдық бүйрек жеткіліксіздігінің дамуын тудыратын түйіндік гломерулосклероздың қалыптасуымен қатар жүреді [46]. Диабеттік нефропатия жиілігі қант диабетінің ұзақтығына байланысты: қант диабетінің ұзақтығы 5 жыл болса - 7-10%, ұзақтығы 20-35 жыл болса - 20-35% және аурудың 35 жылдан ұзаққа созылуы 50-57% құрайды. Диабеттік нефропатия үшін негізгі қауіп факторларына: созылмалы гипергликемия, дислипидемия, гипертония, семіздік, генетикалық бейімділік, темекі шегу, ақуызды шамадан тыс тұтыну және т.б. жатады. Диабеттік нефропатия баяу дамиды, ұзақ уақыт бойы симптомсыз жүреді, мақсатты зерттеулер арқылы диагноз қойылады. Диабеттік нефропатия қант диабетімен ауыратын науқастардағы ең ауыр және жиі кездесетін асқынулардың бірі болып табылады, ол аурушаңдық пен өлім-жітім деңгейі жоғары бүйрек жеткіліксіздігінің терминалдық сатысына тудырады. Ауру үрдісін жақсырақ бақылау үшін диабеттік нефропатия дамуына сезімтал науқастарды анықтау өте маңызды [47].

Диабеттік макроангиопатиялар - қант диабетінің ұзаққа созылуына байланысты артерияларда жалпыланған атеросклеротикалық өзгерістер дами бастайтын ауру.

Диабеттік макроангиопатияларға төмендегілер жатады:

- Жүректің ишемиялық ауруы;
- Аяқ тамырларының диабеттік макроангиопатиясы;
- Цереброваскулярлық аурулар.

Макроваскулярлық асқынулар, негізінен жүрек-қан тамырлары және цереброваскулярлық ауруларды қоса алғанда, әлі де ең көп таралған асқынуларға жатады. Сонымен қатар, ҚД2Т бар науқастарда өлім мен сырқаттанушылықтың негізгі себебі болып табылады. Бұл науқастардың шамамен 75% жүрек-қан тамырлар аурулары, соның ішінде жүректің ишемиялық ауруы, инсульт және перифериялық артерия аурулардың салдарынан қайтыс болады [1].

Көптеген зерттеулердің нәтижелері бойынша ҚД2Т жүйелі кардиометаболикалық ауру, 45 жастан кейін ер адамдарда және 55 жастан кейін әйелдерде жүрек ауруы мен инсульттан болатын өлім-жітімнің жоғарылауымен сипатталатын, қант диабетінің барлық жағдайларының шамамен 90% құрайды [48, 49]. ҚД бар науқастардың 1/4 бөлігінде миокард инфарктісі асимптоматикалық болып табылады. ҚД өршуінен жүрек-қан тамырлары бойынша ерлерде 2 есе және әйелдерде 4 есе өлім қаупі артқан. Жүрек-қан тамырлары асқынуларының барлық түрлерінде, миокард инфарктісі, инсульт, стенокардия, аритмия, созылмалы жүрек жеткіліксіздігі, өлімнің жоғары жиілігі байқалады. Еуропалық кардиология қоғамы мен Еуропалық ҚД зерттеу қауымдастығының жоғары дәлелді бірлескен ұсыныстарында келесі ұстанымдар анықталған. Гипергликемия мен жүрек қан тамырлар ауруы (ЖҚА) арасында нақты байланыс бар. Әрбір 1% гликирленген гемоглобин (HbA1c) үшін ЖҚА қаупі қандай да бір жолмен артады. ҚД жоқ адамдарға қарағанда, ҚД-мен

ауыратын ерлерде ЖҚА қаупі 2-3 есе, ал әйелдерде 3-5 есе жоғары. Постпрандиальды гликемия (тамақтан кейінгі гликемия) аш қарындағы гликемияға қарағанда ЖҚА үшін үлкен қауіп факторы болып табылады [50].

Жүректің ишемиялық ауруы (ЖИА). 2-типті қант диабеті жүрек-қан тамырлары ауруларының тәуелсіз қауіп факторы болып табылады. ҚД болуы ЖИА даму қаупін 2-4 есе арттырады. Қант диабетімен ауыратын науқастардың өлім-жітімнің құрылымында науқастардың 52% өлімнің себебі болып табылатын жүрек-қан тамырлар аурулары негізгі орынды алады [51]. Миокард инфарктісінің жедел сатысында да, ұзақ мерзімді бақылау кезінде де өлім-жітім ҚД-мен ауыратын науқастарда 1,5-2 есе жоғары. 2-типті қант диабеті диагнозын тексеру кезінде науқастардың жартысынан көбі ЖИА ауырады. ЖИА ағымы ҚД ұзақтығына байланысты. ЖИА тұрақты формалар ретінде - стенокардия, симптомсыз миокард ишемиясы, миокард инфарктісі, созылмалы жүрек жеткіліксіздігі, аритмия, ST сегментінің көтерілуі немесе көтерілмеуіне байланысты жедел коронарлық синдром ұсынылған [52].

Жедел (жіті) коронарлық синдром. Жедел коронарлық синдром - жүректің ишемиялық ауруының жиі кездесетін көріністерінің бірі және миокард инфарктісіне немесе тұрақсыз стенокардия тудыратын клиникалық белгілері бар топ болып табылады. Патогенетикалық тұрғыдан жедел коронарлық синдромның дамуы коронарлық қан ағымының бұзылуы нәтижесіндегі жедел миокард ишемиясына негізделген. 2-типті қант диабеті мен жедел коронарлық синдром арасындағы байланыс атеросклероз және қабыну факторларға байланысты. Қант диабетімен ауыратын науқастарда тамырларда «бляшкалардың» пайда болуымен сипатталатын атеросклероз ауруының даму қаупі жоғары. Бұл «бляшкалар» қан тамырларының бітелуіне және өткір коронарлық аурудың дамуына ықпал етеді. Қант диабетімен ауыратын науқастарда жедел коронарлық синдромның дамуындағы өлім 2-3 есе жоғары [53].

Созылмалы жүрек жеткіліксіздігі (СЖЖ). СЖЖ – систолалық, диастолалық немесе аралас миокард дисфункциясымен сипатталатын клиникалық синдром. Қант диабеті диабеттік кардиомиопатияның дамуына байланысты коронарлық артерия ауруларының бар немесе жоқтығына қарамастан жүрек жеткіліксіздігінің дамуын тудырады. ҚД-мен ауыратын адамдарда жүрек жеткіліксіздігінің таралуы қант диабеті жоқ адамдарға қарағанда 2-4 есе жоғары. Жалпы популяцияда СЖЖ таралуы 1-4%, ал 0,3-0,5% жүрек жеткіліксіздігімен қатар 2-типті қант диабетін құрайды. СЖЖ бар популяцияларды зерттеу 2-типті қант диабетінің 12-30% таралуын көрсетеді. ҚД және оның асқынулары бар науқастарды сәтті емдеу СЖЖ даму қаупін айтарлықтай төмендетуі мүмкін [54].

Диабеттік аяқ синдромы (ДАС) - қант диабеттің асқынуы, шеткі жүйкелердің, тамырлардың, тері мен жұмсақ тіндердің, сүйектер мен буындардың өзгерістерімен қатар дамиды аяқтың төменгі бөлігінің іріңді-некрозды үдерістері, ойық жаралар мен сүйек-буынның зақымдануы түріндегі

патологиялық ахуал. ДАС барлық ҚД ауыратын науқастарының 4-10% диагноз қойылады, жыл сайын диабеттік популяцияның 2,2-5,9% жоғарылайды, науқастардың 30-35% жоғары қауіп тобына жатады. Патогенездің негізі дистальды нейропатия, микроангиопатия, артропатия, остеопороз және төменгі аяқ бөліктерінің тамырларындағы негізгі қан ағымының бұзылуында жатыр. Қант диабетімен ауыратын науқастардың аяғын ампутациялау қант диабетімен ауырмайтын науқастарға қарағанда 17-45 есе жиі жасалады [55].

Қант диабеті және артериялық гипертензия (АГ). ҚД және АГ үнемі қатар жүреді. АГ диабеттік микро және макроангиопатиялардың дамуы мен өршуінің ең қауіпті факторларының бірі болып табылады. Эпидемиологиялық зерттеулерге сәйкес, ҚД мен АГ үйлескен кезде өлімге әкелетін ЖИА даму қаупі 3-5 есе, инсульт - 3-4 есе, көру қабілетінің толық жоғалуы – 10-20 есе, уремия – 20-25 есе, төменгі аяқтың гангрена - 20 есе артады [56]. ҚД-мен ауыратын науқастарда АГ жиілігі жалпы популяциядағы АГ жиілігінен 2 есе көп, ҚД1Т-мен ауыратын науқастарда 10-30%, ҚД2Т-де - 60-80% құрайды. Көбінесе гипертония көмірсу алмасуының бұзылуынан алдын жүреді. Гипертония 2- типті қант диабеті бар науқастардың 50% қант диабеті басталған кезден анықталады [57]. Созылмалы қант диабеті микроваскулярлық және макроваскулярлық зақымданудан туындаған, бірқатар басқа аурулардың қаупін арттырады және ми, бүйрек, жүрек, көру жүйесіне теріс әсер етеді.

1.2 МикроРНК-ның ашылу тарихы және жалпы мәліметтері

Соңғы жылдары молекулалық биологиялық әдістердің арқасында рибонуклеин қышқылының (РНК) – «микроРНК» немесе «miRNA» деп аталатын өте қысқа кодталмаған РНК-ны қамтитын РНК тұқымдасының жаңа формалары (тРНК, мРНК, рРНК) ашылды. МикроРНК – бұл қысқа, өлшемі 18-22 нуклеотидтен тұратын, РНК-ның біртүзбекті молекулалары. МикроРНК, кішігірім кодталмаған рибонуклеин қышқылдары гендердің 3' транскрипцияланбайтын аймағымен (3'UTR) өзара әрекеттесу арқылы геннің экспрессия деңгейлерін модуляциялайды, бұл ең соңында РНК деградациясына алып келеді [58, 59].

МикроРНК-ны сипаттайтын алғашқы жұмыстар 1993 жылы *Caenorhabditis elegans* нематодының дамуының реттелу механизмдерін зерттеген *V. Ambrose* және *G. Ruvkun* бастаған ұжымның жұмыстарында жарияланды, алайда оларды қарқынды түрде зерттеу 2000 жылдардың басында ғана, *let-7* микроРНК табылғанда, микроРНК экспрессиясының артуы және жасушалардың қатерлі трансформациясы арасында байланыстың болатындығы анықталғаннан кейін басталды [60, 61]. МикроРНК-дар әртүрлі биологиялық сұйықтықтардан, соның ішінде тұтас қаннан, сарысудан және плазмадан табылып, бөлініп алынды, олар өте тұрақты молекулалар және қан ағымында оңай анықталады. МикроРНК - ның он екі түрлі биологиялық сұйықтықта анықталуының арқасында оларды биомаркер ретінде пайдалану мүмкіндігі артты [62].

Бұл молекулалардың мРНК транскрипциясы, трансляциясы, деградация сатысында ген экспрессиясын басу үрдісі кезінде РНК интерференциясы деп аталатын құбылысқа қатысатыны анықталды.

2006 жылы Эндрю Файр мен Крейг Мелло 1998 жылы жарияланған *Caenorhabditis elegans* нематодының РНК интерференциясын зерттеудегі жұмысы үшін физиология және медицина саласында Нобель сыйлығын алды. Одан кейінгі жылдары микроРНК қасиеттері мен құрылымын сипаттайтын мақалалар жарияланып, көптеген жаңа микроРНК ашылды. Қазіргі уақытта адамдарда 2693 жетілген микроРНК анықталды [63].

Бүгінгі күні микроРНК және олардың өкілдерін (предшественник) атау үшін келесі ережелер қабылданған:

1. Ең алдымен микроРНК қай ағза түрінің геномына тиесілі, сол ағзаның үш әріптік белгісі жазылады. Мысалы «*hsa*» - *Homo sapiens*, «*rno*» - *Rattus norvegicus*, «*mtm*» - *Mus musculus*.

2. Барлық микроРНК ретімен аталып, түбір алды «*miR*» қосымшасы (приставкасы) бар. Алғаш ашылған микроРНК тобы «*let*» префиксімен (приставка) аталған.

3. микроРНК (pre-miRNA) алғышарты префиксте «*R*» бас әріпсіз – «*miR*» сияқты ұқсас жолмен белгіленеді.

4. Перфектистен (приставкадан) кейін микроРНК-ның реттік нөмірі жүреді.

5. Әрі қарай келесідей қосымша белгілеулер жүреді: егер жетілген микроРНК-дар ұқсас реттілікте болып, бірақ бір немесе екі нуклеотидпен ерекшеленетін болса, онда атаудың жалпы сандық бөлігінен кейін әріппен аяқталады. Мысалы – *hsa-miR-30a-5p* и *hsa-miR-30e-5p* (*uguaaacaauccucgacuggaag* и *uguaaacaauccuugacuggaag*)

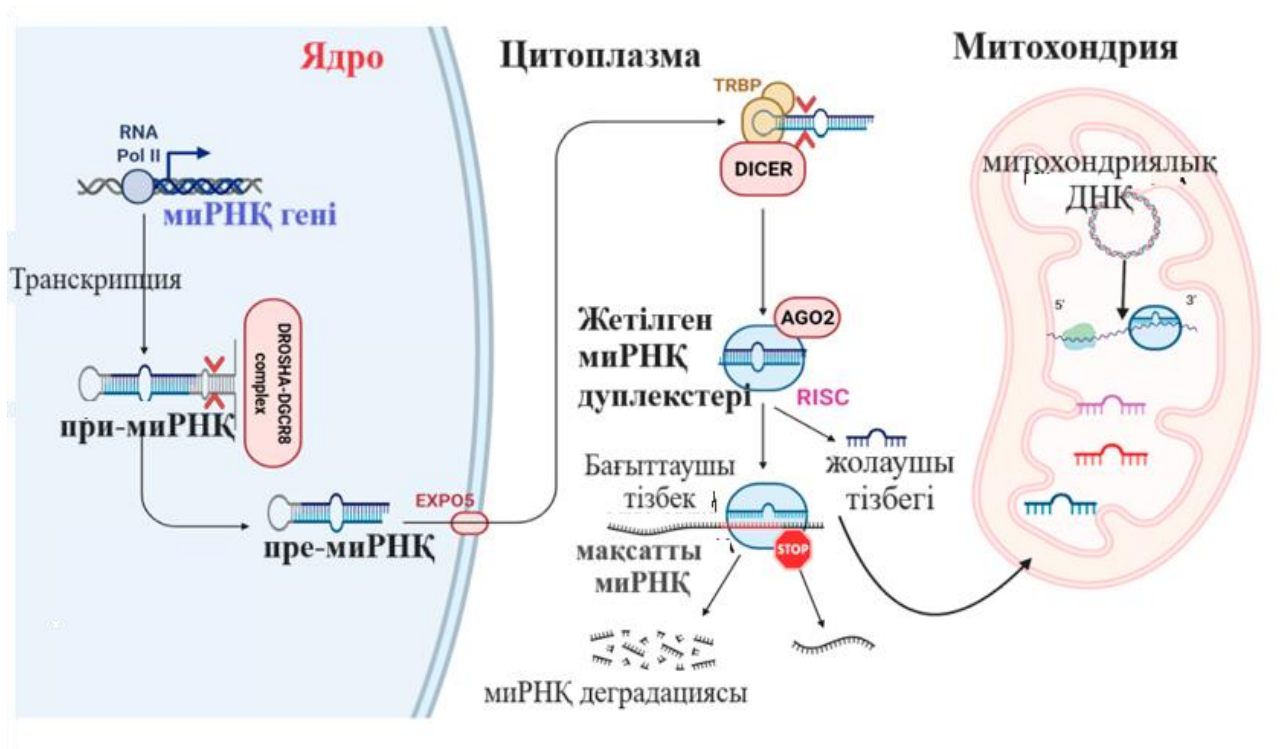
6. «-5p» немесе «-3p» жұрнағы пре-микроРНК-дың қай тізбегінен жетілген молекуланың транскрипцияланғанын көрсетеді. Бұрын жұрнақтың орнына «*» таңбасы әлдеқайда аз мөлшерде экспрессияланатын және ген өшірілуінің РНК-индукцияланатын кешеніне (RISC) сирек қосылатын «жолаушы» микроРНК тізбегін (3' соңы тізбегін) белгілеу үшін қолданылған, ал «бағыттаушы» микроРНК тізбегіне (5' соңы тізбегінде) жұрнақ жалғанбаған. Мысалы – *hsa-miR-30e* – бұл *hsa-miR-30e-5p*, ал *hsa-miR-30e** - бұл *hsa-miR-30e-3p*.

7. Бірдей жетілген микроРНК-дарды өңдейтін, бірақ геномның әртүрлі бөліктерінде орналасқан пре-микроРНК-дардың атауларында қосымша сандық жұрнақ болады. Мысалы - *hsa-miR-194-1* және *hsa-miR-194-2* [64].

Қазіргі уақытта адам геномының шамамен үштен бірін реттеуге қатысатын 2000-нан астам микроРНК анықталды. Бұл, бір жағынан, экспрессияның жоғарылауымен немесе төмендеуімен сипатталатын көптеген патологияларда байқалатын микроРНК жасушалық экспрессиясының реттелмеуіне, ал екінші жағынан, жасушаның кейбір микроРНК-дарды жасушадан тыс ортаға шығару немесе босату қабілетіне байланысты [65]. Бұл олардың биологиялық сұйықтықтарда жүретінін көрсетеді және айналымдағы микроРНК инвазивті емес биомаркерлер ретінде қызығушылық тудырады.

1.2.1 МикроРНК-ның биогенезі және биологиялық қызметтері

Көптеген микроРНК ақуыз-кодтаушы гендердің интрондарында орналасқан гендер көмегімен кодталады. МикроРНК гендері сондай-ақ экзондарда, 5'соңы - және 3'соңы - трансляцияланбайтын ген аймақтарында және генаралық аймақтарда орналасқан болуы мүмкін [66].



Сурет 2 - МикроРНК биогенезі (сурет www.BioRender.com сайтынан алынды, 2021 жылдың 26 қазанындағы ақпарат бойынша *Gurjit Singh and Kenneth B. Storey*) [67]

МикроРНК биогенезі бірнеше сатыдан тұрады. Зерттеу нәтижелерінен көптеген микроРНК транскрипциясы ақуыз-кодтаушы гендер қағидасы бойынша реттелетіні анықталған.

Қазіргі таңда микроРНК түзілуінің екі жолы анықталған. МикроРНК гендері не гендер арасындағы аймақтарда, не болмаса ақуыздарды кодтаушы гендердің интрондарында болады. Біріншісі, микроРНК молекуласы - алғышартының (пре-микроРНК) түзілуі арқылы орындалатыны – дәстүрлі болып саналады (канондық жол). Мұндай молекуланың өзіне тән морфологиясы бар: екі бір тізбекті «құйрықтары» бар «ілемектер» және орталық бөлігінде бірнеше жұпталмаған нуклеотидтері болады. МикроРНК гендері ядрода біріншілік микроРНК (при-микроРНК) – ұзын транскрипт түрінде, негізінде II РНК - полимеразалар [68], сирек III РНК - полимеразалар көмегімен транскрипцияланады [69]. Микропроцессорлық кешен ішіндегі РНКзаза III белсенділікті *Drosha* ферменті және *DGCR8* (*DiGeorge Syndrome Critical Region 8*) ақуызын танытын при-микроРНК бастапқы микроРНК-ға (пре-микроРНК) дейін ыдырайды [70]. Содан кейін пре-микроРНК ядродан цитоплазмаға экспортин-5 көмегімен

тасымалданады [71], сол жерде РНҚаза *Dicer* ферменті арқылы үзіледі. *Dicer* ферментінің қатысуы – барлық микроРНҚ биогенезінің міндетті шарты болып табылады. Бұл эндорибонуклеаза ілмектің 3'-соңымен өзара әрекеттеседі және ілмектің 5'- және 3'-жалғауларын байланыстырып тұрған ілмекті үзеді. Нәтижесінде ілмектің 5'- және 3'-жалғауларынан (miRNA-5p және miRNA-3p) шығатын, әрқайсысының ұзындығы 22 нуклеотид болатын екі микроРНҚ тізбегінен тұратын дуплекс түзіледі. Бірінші жолаушы тізбек негізінен, деградацияланады, ал екінші бағыттаушы тізбек ақуыз Аргонавтпен (AGO-2) байланысып, RISC кешені құрамына енеді. RISC кешені мақсатты РНҚ нысанын анықтау үшін цитозолды мРНҚ-ны сканерлейді. Егер нысаналы микроРНҚ немесе мРНҚ тізбегі толығымен байланысса, ол жойылады (транскрипция үнсіздігі), ал егер сәйкессіздіктер табылса, трансляция блокталады (сурет 2) [72, 73].

МикроРНҚ-ның ұзындығы 6-8 нуклеотид болатын ген аймағы мен мРНҚ-нысанның 3' трансляцияланбайтын аймағы арасындағы комплементарлық дәрежесі көбінесе гендер экспрессиясының реттелу механизмімен анықталады. МикроРНҚ-дың ген аймағының мРНҚ-мен толық экзосомалар, өз кезегінде, жасуша-реципиенттер (соның ішінде басқа типті жасушалар) арқылы басып алынуы мүмкін, олардың цитоплазмасында пре-микроРНҚ жетілген микроРНҚ-ға айналады. МикроРНҚ-дар апоптоз кезінде жасушадан босап шығады [74]. Айналымдағы микроРНҚ ағзаның физиологиялық жағдайына байланысты экспрессиясын өзгертеді және метаболиттік ауруларды, соның ішінде қант диабетін болжауға, диагностикалауға және бақылауға көмектеседі [62, 76, 77].

МикроРНҚ қызметі шектен тыс және плейотроптылығымен сипатталады. Бұл бір мРНҚ экспрессиясы көптеген микроРНҚ арқылы реттелуі мүмкін, ал бір микроРНҚ көптеген мРНҚ-нысандармен байланысып күрделі реттелу жүйесін қалыптастырады. Осының салдарынан, бір микроРНҚ экспрессиясының өзгеруі көптеген мРНҚ-нысандарының экспрессиясының комплементарлы байланысуына тәуелді соңғысының үзілуімен мен деградациясына алып келеді.

2007 жылы микроРНҚ түзілуінің тағы бір жолы ашылған. Бұл жағдайда пре-микроРНҚ митрондар деген атауға ие болған (*mirtrons*) қысқа ілмекті интрондардан алынған. МикроРНҚ түзілуінің әртүрлі тәсілдерінің маңыздылығы әлі зерттеуді қажет етеді. МикроРНҚ тек қана жеке жасушалар ішінде қызмет етіп қоймайды, сонымен бірге қан айналымына еніп, жануарлар ағзасының басқа да жасушаларына әсер ете алады. Жасушадан тыс жетілген микроРНҚ-ның басым бөлігі (90-99%) қанда АГО (*Argonaute*, RISC-дің каталитикалық компоненттері болып табылады) тобына жататын ақуыздармен кешен түрінде кездеседі. МикроРНҚ гендерінің экспрессиясы, ақуыз-кодтаушы гендер сияқты эпигенетикалық деңгейде, транскрипция үрдісінде, процессинг және ядролық экспортта реттеледі, сондай-ақ микроРНҚ деградациялану дәрежесімен бақыланады. МикроРНҚ экспрессиясы ұлпалық маманданған үрдіс болып табылады және ағзаның қолданатын микроРНҚ спектрі тікелей ағзаның құрылымының күрделілігіне байланысты болады [78].

1.2.2 МикроРНК-ның 2-типті қант диабетінің диагностикасында және патогенезінің туындауында атқаратын рөлі

Көптеген зерттеулерде бір тізбекті РНК-ның кейбір шағын молекулалары қант диабеті және ЖҚА сияқты бірқатар аурулармен байланыстығын көрсетеді. Соңғы зерттеулерде қант диабетімен байланысты бірнеше микроРНК-дың ҚД2Т-індегі негізгі метаболиттік жолдарды реттеудегі рөлін анықталған. Глюкозаның жоғары концентрациясының әсері айналымдағы miRNA-126 деңгейін төмендететіні нақты көрсетілген. Тамырдың эндотелий жасушаларында miRNA-126 кеңінен таралған және церебральды қан тамыр ауруларының және диабеттік нефропатияның диабеттік асқынуларының патогенезінде маңызды рөл атқарады [79].

Сондай-ақ, қант диабетімен ауыратын науқастарда miRNA-146a жоғарылағаны көрсетілген [80, 81]. Клиникалық тұрғыдан алғанда, айналымдағы miRNA-26a және miRNA-146a деңгейлерінің ауытқуы ҚД2Т әртүрлі кезеңдерінің болжаушысы болуы мүмкін [82]. МикроРНК-дың әртүрлі биологиялық үрдістерде, соның ішінде адипоциттердің дифференциациясы, метаболиттік интеграция, инсулинге резистенттілік және тәбетті реттеуде маңызды рөл ойнайды [83], семіз жануарлар мен адамдардың метаболиттік ұлпаларда көптеген микроРНК реттелуінің бұзылуы сипатталған [84-86]. miRNA-221 семіз адамдарда май тінінде жоғары экспрессияланатынын (көбейтетінін) және жасушалық метаболизммен, әсіресе инсулинге сезімталдыққа әсер ететін адипонектиндік рецепторға (ADIPOR1 - Adiponectin рецепторы 1) байланысты ақуыз желісін реттейтінін көрсетті [85, 87]. МикроРНК сонымен қатар нефропатия [88, 89] және ҚД2Т-нің жүрек-қан тамырлары сияқты асқынуларына функционалды түрде қатысады [90, 91]. МикроРНК биологиялық сұйықтықтарда, әсіресе плазма мен қан сарысуда айтарлықтай тұрақты [92, 93]. Олардың профильдерін және осы профильдердегі өзгерістерді зерттеу ауруларды диагностикалау, олардың ағымын бағалау үшін маңызды ақпарат бере алады [94, 95].

МикроРНК-дарды анықтау үшін адамның қан плазмасы, сарысуы үлгілерін пайдалану әртүрлі аурулардың ерте басталуын анықтауға көмектеседі. Осы уақытқа дейін көптеген зерттеулер микроРНК-дың жиынтықтарын сипаттады. Бұл нәтижелер ҚД2Т және асқынулардың биомаркерлері ретінде микроРНК-ның ықтимал клиникалық қолданылуын одан әрі зерттеуге ықпал етеді.

МикроРНК - гендер экспрессиясының эндокриндік және экзокриндік реттеушілері болып табылады. Осы айналымдағы микроРНК-лардың кейбірі глюкоза метаболизмі алмасуымен байланысты, ал miRNA-144, miRNA-146a, miRNA-150, miRNA-182, miRNA-192, miRNA-29a, miRNA-30d, miRNA-320 сияқты микроРНК-лар инсулин сигналын реттеуге қатысатыны зерттелді [96, 97]. miRNA-375, miRNA-96, miRNA-124a, miRNA-124a сияқты ҚД2Т дамуымен байланысты және оның прогрессиясына қатысуы мүмкін басқада түрлері бар [98-100]. Алдыңғы бір зерттеулер микроРНК жиынтығының, соның ішінде miRNA-15a, miRNA-29b, miRNA-126, miRNA-223 және miRNA-28-3p қоса алғанда, ҚД2Т дамығанға дейін реттелмегенін көрсетті. Сонымен қатар, айналымдағы

микроРНК профилін глюкоза гомеостазының шарттарымен модуляциялауға болатынын басқа зерттеулерде дәлелденген, яғни плазмадағы микроРНК деңгейін инсулинге резистенттілік дәрежесімен байланыстырады [101].

Тұтастай алғанда, белгілі бір айналымдағы микроРНК профилі ҚД2Т даму қаупі жоғары нормагликемиялық және диабет алды тұлғаларды анықтау үшін құнды биомаркер болуы мүмкін екендігін көрсететін дәлелдер бар. Дегенмен, бұл гипотезаны тексеру үшін ҚД2Т даму қаупі жоғары үлкен популяцияда әлі зерттеулер жүргізілмеген.

Zampetaki және т.б. ғалымдар ҚД2Т ауыратын 800 адамға зерттеу жүргізгенде айналымдағы микроРНК-дардың экспрессиясының өзгеретінін бірінші болып анықтады. Кейбір микроРНК (miRNA-21, miRNA-24, miRNA-15a, miRNA-20b, miRNA-126, miRNA-191, miRNA-197, miR-223, miRNA-320, miRNA-486) төмен экспрессияға ие болды, ал бақылау тобымен салыстырғанда ҚД2Т бар науқастардың плазмасында miRNA-28-3p шамадан тыс экспрессияланған. Сонымен қатар, miRNA-15a, miRNA-320, miRNA-126, miRNA-223 және miRNA-28-3p сияқты бес микроРНК арқылы ҚД2Т науқастарының шамамен 70% анықтауға болады [102].

Бірнеше зерттеулер ҚД2Т биомаркерлеріне үміткер ретінде микроРНК-дың көпшілігі (miRNA-144, miRNA-146a, miRNA-150, miR-182NA, miRNA-192, miRNA-29a, miRNA-30d және miRNA-320) инсулин секрециясын, инсулинге резистенттілікті, глюкоза гомеостазын немесе патологияға қатысатын липидтердің метаболизмін реттеуге қатысатынын көрсетеді [109,110]. ҚД2Т дамуы miRNA-375, miRNA-96, miRNA-124a экспрессиясына байланысты [111-113]. Бұл микроРНК-ның көпшілігі ұлпаларда зерттелгенімен, аталған биомаркерлерді қан айналым деңгейінен де жан-жақты талдау қажет.

Глюкозаның жоғары концентрациясы эндотелий жасушаларында miRNA-126 экспрессиясының төмендеуімен [102, 114], miRNA-221 және miRNA-146a экспрессиясының жоғарылауымен байланысты екені анықталды [115]. Қалыпты жағдайда miRNA-126 эндотелий жасушаларында жоғары дәрежеде экспрессияланады және қан тамырларының тұтастығы мен ангиогенездің сақталуына ықпал етеді [116]. Сонымен қатар, miRNA-126 инсулин рецепторының қызметін атқаруымен қатар, май тінінде болатын инсулинге жауапты инсулин рецепторларының субстратын (IRS) тежейтіні зерттелді [117].

Бірнеше зерттеулер miRNA-126 экспрессия деңгейінің төмендеуі ҚД2Т-мен байланысты екенін көрсетеді [118]. ҚД2Т және ЖҚА аурулары бар қант диабетімен ауыратын науқастардың плазмасындағы miRNA-126 экспрессия деңгейі сау адамдармен салыстырғанда науқастардың екі тобында да оның төмен экспрессиясы анықталды [119].

Сонымен қатар, қант диабетімен ауыратын науқастарда күнделікті жаттығу жасау және диета сақтап, 6 айлық емдеуден кейін miRNA-126 экспрессиясының жоғарылағаны байқалды [118].

Осы уақытқа дейін әртүрлі популяцияларда бірнеше зерттеулер жүргізілді, олардың кейбір қорытындылары төмендегі 2 кестеде көрсетілген.

Кесте 2- Өртүрлі популяциялардағы микроРНК экспрессиясы

Айналымдағы микроРНК-дар	Үлгі	Бақылдау тобымен салыстырғанда ҚД2Т микроРНК экспрессиясы	n1- наукастар саны, n2- бақылау тобындағы еріктілердің саны.	Әдіс	Пайдаланылған әдебиеттер
miR-126, miR-423-5p, miR-192, miR-195, miR-130b, miR-532-5p, miR-125b	плазма	артқан	n1=35, n2=6	сандық полимераздық тізбектік реакция (qPCR)	<i>Ortega et al.</i> , 2014 [103]
miR-140-5p, miR-142-3p, miR-222		артқан			
miR-126-3p	плазма	төмендеген	n1=193, n2=107	Кері транскрипцияланған сандық ПТР (RT-qPCR)	<i>Olivieri et al.</i> , 2015 [104]
miR-21-5p		артқан			
miR-126-3p, miR-146a	плазма	артқан	n1=31, n2=12	сандық полимераздық тізбектік реакция (qPCR)	<i>Seyhan et al.</i> , 2016 [105]
miR-146a	Қан сарысуы	төмендеген	n1=56, n2=40	сандық полимераздық тізбектік реакция (qPCR)	<i>Baldeón et al.</i> , 2016 [106]
miR-103, miR-28-3p, miR-29a, miR-9, miR-30a-5p, miR-150.	плазма	төмендеген	n1=102, n2=360	Кері транскрипцияланған сандық ПТР (RT-qPCR)	<i>Jiménez-Lucena et al.</i> , 2018 [107]
miR-30a-5p miR-150		артқан			
has-miR-455-5p, has-miR-454-3p, hsa-miR-144-3p, hsa-miR-96-5p.	плазма	артқан	n1=10 n2=5	микрочиптер	<i>Yang et al.</i> , 2017 [108]
hsa-miR-409-3p, hsa-miR-665, hsa-miR766-3p.		төмендеген			

Басқа жағынан, жүргізілген зерттеулерге сәйкес, мезенхимальды кіндік жасушаларынан бөлінген және miRNA-126-мен трансфекцияланған экзосомалар

in vivo және *in vitro* жағдайында өсірілген диабеттік егеуқұйрықтарда торлы жасушалардың қабыну күйін жақсартуы мүмкін екені анықталды [120].

miRNA-126-3p қан тамырларының регенерациясын модуляциялауға және гемопозтикалық бағаналы жасушалар мен прогениторлық жасушалардың сүйек кемігінен босап шығып, қан ағымына енуге (мобилизациясына) қатысады, сол себептен ол «ангиомикроРНК» ретінде жіктеледі. miRNA-126-3p ҚД2Т науқастарында айналымдағы экспрессиясының төмендеуі табылған алғашқы микроРНК-ның бірі. Оның экспрессиясының төмендеуі қант диабеті тудырған тышқандардың эндотелий тіндерінде және перифериялық артерия ауруында анықталды [121-123, 114].

miRNA-21 әртүрлі механизмдер арқылы болса да, апоптозға қарсы әсерге ие [124, 125]. Қант диабетіне қатысты кейбір зерттеулер miRNA-21 плазмада шамадан тыс экспрессияланғанын көрсетеді, плазмалық гипергликемиялық зақымдануды бақылау үшін болжамды қызмет атқара алуы мүмкін деген гипотезаны туындатты [126, 127]. Оның плазмадағы көбеюі тотығу зақымдалуына және қандағы глюкоза деңгейінің жоғарылауынан туындаған асқынулардың үдеуіне сәйкес келеді. Қант диабетімен ауыратын науқастардың плазмасындағы miRNA-146a-5p, miRNA-16-2-3p, miRNA-126-5p және miRNA-30d экспрессиясының өзгеруі аурумен бірге жүретін микроваскулярлық асқынулардың көрсеткіші бола алатынын көрсетеді.

1.3 Тотығу стресі және оттегінің белсенді формалары

Оттегінің белсенді түрлері (ОБТ) және азоттың белсенді түрлері (АБТ) – бос радикалдарды және тотықтырғыштар деп аталатын басқа радикалды емес реактивті туындыларды сипаттау үшін ортақ терминдер. Оларда липидтер, ақуыздар және дезоксирибонуклеин қышқылы (ДНК) сияқты әртүрлі органикалық субстраттармен әрекеттесетін электрондар бар. Бос радикалдар зиянды және пайдалы түрлердің қосарлы рөлін атқаратыны белгілі, өйткені олар тірі жүйелер үшін зиянды да, пайдалы да болуы мүмкін [128]. Төмен немесе орташа деңгейде бос радикалдар (ОБТ және АБТ) жұқпалы агенттерден қорғау, митогендік реакцияны индукциялау және жасушалық құрылымдардың жетілу үрдісі сияқты пайдалы әсерге ие. ОБТ бос радикалдарды (супероксид анионы O_2^- және гидроксил радикалы OH^-) және басқа радикалды емес ОБТ (сутегі асқын тотығы H_2O_2) қамтуы мүмкін [129].

Сонымен қатар, АБТ молекулалық оттегінің туындылары болып табылады, иондық (пероксинитрит $ONOO^-$) және иондық емес (азот оксиді NO^-) ОБТ ретінде жіктелуі мүмкін. Бос радикалдар – сыртқы электрон қабатында бір немесе бірнеше жұпталмаған электрондары бар, реактивтілігі жоғары бөлшектер. Басқа молекулалардан қосымша немесе екінші электрон алу үшін бос радикалдар жасуша мембраналарының құрылымының бұзылуына немесе зақымдалуына әсер етеді. Радикалды емес сипаттағы ОБТ басқа формаларында бос электрондар болмайды, сондықтан олар тотықтырғыштың әлсіз қасиеттерін көрсетеді. Мысалы, H_2O_2 -де бос валенттілік электрондары жоқ, бірақ молекулада оттегі мен сутегі атомдары арасында бөлінбеген электрон жұптары бар,

сондықтан O_2 -ден әлсіз болса да тотықтырғыштың қасиеттерін көрсете алады [130].

Мембраналардың липидті қос қабатының бұзылуына, жоғары реактивті өнімдердің фосфолипидтердің амин топтарымен әрекеттесуіне, мембраналардың тасымалдау функциясының бұзылуына және мембранамен байланысқан ферменттердің белсенділігіне алып келетін асқын тотық реакцияларының басталуында негізгі рөлді супероксид ($*O_2^-$), сутегі асқын тотығы (H_2O_2), гидропероксил ($*HRO_2^-$), гидроксил радикалы ($*OH$), пероксид радикалы ($*RO_2$) сияқты ОБТ атқарады [131, 132].

Бос радикалдардың түзілуіне әкелетін химиялық реакция түрлері:

- $O_2 + 1e^- \rightarrow *O_2^-$;
- $O_2 + 2e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$;
- $O_2 + 3e^- + 3H^+ \rightarrow *OH + H_2O_2$;
- $O_2 + 4e^- + 4H^+ \rightarrow 2H_2O_2$.

Қанықпаған май қышқылдарының асқын тотығуының бастапқы сатысында түзілетін заттарға диен конъюгаттары жатады, олардың құрамының жоғарылауы ҚД ауыратын, микроангиопатиясы бар науқастарды микроангиопатиясы жоқ науқастармен салыстырғанда анықталды. Қаныққан және қанықпаған май қышқылдарының жоғары белсенді және тұрақсыз гидропероксидтерінің түзілуі асқын тотығудың ортаңғы кезеңі болып саналады. Липидті гидропероксидтердің жоғары концентрациясы созылмалы инфекциялық емес аурулары бар науқастарда, соның ішінде қант диабетімен ауыратын науқастарда жиі кездеседі [49].

Қант диабетіндегі ақуыздардың тотығу күйі.

Ақуыздар ағзаның маңызды объектілері болып табылады. Бос оттегі радикалдарының ақуыздармен әрекеттесуі - ақуыздардың фрагментациялануы, ақуыз молекуласының құрылымының және олардың функционалдық белсенділігінің өзгеруі сияқты әртүрлі бұзылыстарға алып келеді. Тотыққан ақуыздарға тотыққан альбуминнен, сондай-ақ фибриноген мен липопротеидтерден алынған ақуыздың терең тотығу өнімдерінің жоғарылауы (АОРР) кіреді. АОРР деңгейінің жоғарылауы тотығу стресін және қабыну жағдайын көрсетеді. Көптеген зерттеулер АОРР деңгейінің жоғарылауы мен қартаюға байланысты аурулар арасындағы байланысты көрсетті [133].

Көптеген аурулардың патогенезіне, сондай-ақ олардың биохимиялық бұзылыстары мен клиникалық асқынуларының дамуына АОРР қатысы бар екендігі туралы ақпараттар жеткілікті. Бұл ауруларда АОРР концентрациясын төмендету, олардың түзілуін болдырмау немесе тежеу арқылы емдеу мүмкіндіктері талқыланады.

ҚД, АГ және атеросклерозбен ауыратын науқастардың қан плазмасында тотығу стресі кезінде туындайтын құрамында дитирозин бар, тотыққан ақуыз қосылыстарының тобында АОРР жоғарылауы анықталды [134].

Қант диабетіндегі липидтердің асқын тотығуы.

ҚД2Т кезінде ОБТ индукциялаған липидтердің асқын тотығуын және антиоксиданттық күйін бағалау үшін бірнеше зерттеулер жүргізілді, бірақ

нәтижелер қарама-қайшы болды. Белгілі болғандай, бос радикалды липидтердің тотығуы өмірлік маңызды үрдістердің құрамдас бөлігі болып табылады, соның ішінде: флавин элементтері арқылы электрондардың тасымалдануы, биомембраналық липидтер құрамының жаңаруы, митохондриядағы тотығу фосфорлануы, митогенез, жүйке импульсінің берілуі және т.б. Барлық липидке тәуелді мембранамен байланысқан ферменттердің тиісті белсенділігі кезінде тұрақты жүретін пероксидация реакциялары жасуша мембраналарының липидтік құрамының жаңаруымен тығыз байланысты. Бос радикалдардың әсерінен липидтердің тотыға ыдырауы, соның ішінде тотығу тізбектерінің басталуы, ұзаруы, тармақталуы және үзілуі жүреді [135].

Малондиальдегид - жоғары белсенді қосылыс, оның жинақталуы ағзадағы тотығу стресінің ауырлығын көрсетеді. Плазмадағы немесе қан сарысуындағы малондиальдегидінің деңгейін анықтау кейбір аурулар мен патологиялық жағдайлардың патогенезін зерттеуде маңызды рөл атқарады және оны антиоксиданттық терапияның тиімділігінің белгісі ретінде де қолдануға болады [136].

Сонымен, липидтердің асқын тотығуы нәтижесінде пероксидті қосылыстар немесе липидтердің тотығу өнімдері (ЛПО) түзіледі. Оларға липидті гидропероксидтер (LOOH) және малональдегид (МДА) және 4-гидроксиноненаль (4-ГНЕ) сияқты альдегидтер кіреді. Липидтердің асқын тотығуының негізгі өнімдері липидті гидропероксидтер (LOOH).

1.3.1 Жасушаның антиоксиданттық қорғаныс жүйелері

Қалыпты және патологиялық жағдайларда ағзадағы тотығу - тотықсыздану потенциалының тепе-теңдігі антиоксиданттық ферменттердің және антиоксиданттық қасиеттері бар химиялық заттардың көп компонентті жүйесінің жұмысымен қамтамасыз етіледі. Антиоксидантты ферменттер дегидрогеназаларға немесе оксидоредуктазаларға жатады. Оксидоредуктазалардың барлық өкілдері көбінесе күрделі, кеңістіктік-уақыттық молекула, супрамолекулалық комплекстер түзетін ақуыз молекулалары болып табылады. Алайда, бұл құрылымдарды ұйымдастырудың күрделілігіне қарамастан, олардың барлығы бір молекуладан екіншісіне электронның ауысуымен жалпы реакцияның катализаторы ретінде әрекет етеді. Бұл жағдайда бірінші молекула электрондарды (донорды) береді және тотықсызданады, ал екіншісі электрондарды (акцепторды) қабылдайды және тотығады. Оксидоредуктазалардың әсер ету ерекшелігі, ең алдымен, ферменттің каталитикалық орталығының табиғатын анықтайтын донормен анықталады. Белгілі болғандай, антиоксиданттық қорғаныстың төмендеуі тотығу стресінің дамуының маңызды құрамдас бөлігі болып табылады [137].

Ферментативті және ферментативті емес антиоксиданттық қорғаныс жүйелері ОБТ-нің түзілуін реттейді және ОБТ тудырған тотығу зақымдануынан биологиялық жүйелерді қорғайды.

Антиоксидантты қорғауды қамтамасыз етуге ферменттер мен антиоксиданттар қатысады, олар жаңа ОБТ-нің түзілуіне жол бермейді және

жасуша мембраналарының, нуклеин қышқылдарының және басқа биологиялық құрылымдарда ОБТ тотығу зақымдануын болдыртпайды. Айқын антиоксиданттық белсенділігі бар, ішінде ең көп зерттелгендері супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, каталаза т.б. ферменттер. Антиоксиданттардың ферментативті емес көздеріне аскорбин қышқылы, токоферол, зәр қышқылы және тотықсызданған глутатион жатады [138].

Антиоксидантты қорғаудың негізгі ферменттерінің қатарына супероксил радикалының сутегі асқын тотығы мен оттегіге дисмутация реакциясын катализдейтін СОД жатады: $2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$. Супероксиддисмутаза – оксидоредуктаза класына жататын фермент. СОД оттегінің дисмутациясын катализдейді және супероксидті анион радикалының жоғары уыттылығы бар гидроксил радикалына айналуына жол бермейді. СОД супероксид анионының жиналуын болдыртпай, көптеген жасуша құрылымдарын супероксидтің зиянды әсерінен қорғайды.

Адам ағзасында СОД барлық ағзалар мен ұлпаларда болады, бірақ оның ең жоғары мөлшері мен белсенділігі жасушалар ішіндегі эритроциттерде анықталады. Жасушадан тыс кеңістікте фермент төмен мөлшерде болады.

Қазіргі заманғы биохимиялық әдістер СОД әртүрлі изоформаларының тотығу-тотықсыздану белсенділігі бар екенін анықтады, оның ішінде Cu/Zn-тәуелді СОД, жасуша цитоплазмасында локализацияланған және құрамында мыс пен мырыш бар, митохондрияның антиоксидантты жүйесінің жетекші ферменті- Mn-тәуелді СОД [49, б.10]. Mn-тәуелді СОД белсенділігі жеткіліксіз кезінде супероксид сутегі асқын тотығымен әрекеттесіп, гидроксил радикалын түзеді, ол липидтердің асқын тотығуын және митохондриялық мембраналардың зақымдалуын тудырады: $H_2O_2 + O_2^{\cdot-} \rightarrow OH^- + OH + O_2$ [139].

СОД әсерінен дисмутация реакциясында $O_2^{\cdot-}$ -ден аз реактивті сутегі асқын тотығы (H_2O_2) түзіледі. Әрі қарай, H_2O_2 каталаза катализдейтін реакцияда инертті оттегі (O_2) және су (H_2O) молекулаларына ыдырайды. H_2O_2 суға ыдырауының тағы бір жолы ГПО белсенділігі деңгейіне байланысты болады. Сонымен қатар, ГПО бос май қышқылдарын, нуклеотидтерді, нуклеин қышқылдары мен ақуыздарды қалпына келтіруге қатысады. ГПО көмегімен бос радикалдарды бейтараптандыру үрдісінде глутатион тотығады, содан кейін NADPH қатысуымен глутатионредуктазаның әсерінен тотықсызданады [139].

Әдетте антиоксиданттық жүйе бос радикалдарды бейтараптандыратын буфер ретінде жұмыс істейді. Патологиялық жағдайларда, ОБТ түзілуі бірнеше рет күшейген кезде, антиоксиданттық жүйе сарқылып, ағзаның тотығу-тотықсыздану тепе-теңдігінің бұзылуына әкеледі [140].

ҚД кезінде ағзаның тотығу-тотықсыздану тепе-теңдігінің бұзылуының себебі ұзақ уақыт бойы гипергликемия болуы, ал бұл глутатион қорының азаюына байланысты антиоксиданттық жүйе ресурстарының сарқылуына, антиоксиданттық ферменттердің гликозилденуіне, инактивациясына және $O_2^{\cdot-}$ гиперпродукциясына алып келеді. Осының салдарынан ағзаның бұзылған тотығу-тотықсыздану балансы тотығу стресінің белсендірілуіне және оның дамуына, сондай-ақ диабеттік асқинулардың өршуіне әкеледі. Тотығу стресі

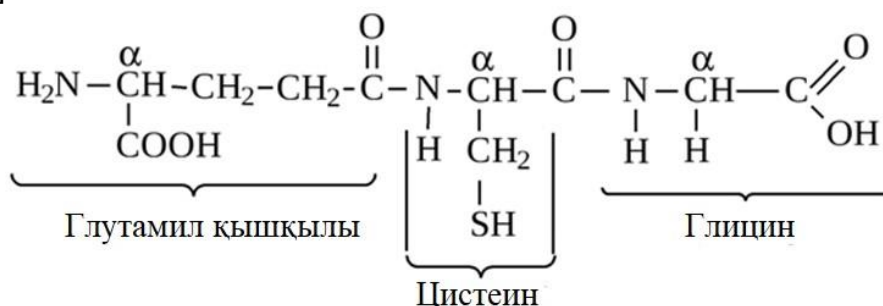
белсендірілген кезде пайда болатын ОБТ көп мөлшері ағзаның ақуыздарымен, липидтерімен, сондай-ақ ДНҚ және РНҚ-мен бақылаусыз әрекеттеседі. ОБТ ақуыздарымен гидропероксидтер түзіледі, бұл ақуыздардың үшінші құрылымын өзгерте алады, тіпті олардың агрегациясы мен денатурациясын тудыруы мүмкін. Бұл көптеген үрдістердің ферментативті және реттеуші белсенділігінің бұзылуына әкеледі. ОБТ-нің ДНҚ-ға тікелей зиянды әсері тізбектің үзілуімен, олардың модификациясымен, ДНҚ гидропероксидтерінің түзілуімен, хромосомалардың зақымдалуымен сипатталады [141].

Глутатион антиоксиданттық ферменттік жүйесі.

Глутатион (GSH) құрылымы жағынан үш аминқышқылды пептид (гамма-глутамил-цистеинилглицин) эукариоттық жасушаларда кездесетін, молекулалық салмағы 307 г/моль кең таралған антиоксидант болып табылады. Глутатионның көп бөлігі тотықсызданған түрінде (GSH) болады, онда цистеиннің сульфгидрил тобы екінші глутатионмен дисульфидті байланыс түзбейді. Глутатионның аз пайызы тотығады және екі молекулада болатын цистеиндер арасындағы дисульфидтік байланыс арқылы байланысқан екі пептидтік элементтің димері ретінде болады. Тотыққан глутатион (GSSG) жасушаның қалыпты жағдайының және тотығу стресінің көрсеткіші болып табылады. Кейбір химиялық заттар қосындылар түзу немесе GSSG деңгейін жоғарылату үшін GSH-пен әрекеттеседі, тотықсызданған глутатионға GSH/GSSG қатынасы төмендейді [142].

GSH және GSSG өлшемдері эксперименттік жүйелерде пайдалы, өйткені GSH/GSSG қатынасындағы өзгерістер аурулармен, қартаюмен және жасушалардағы сигналдық оқиғалармен байланысты [143].

Глутатион құрылымы 3-суретте көрсетілген. Бірегей пептидтік γ-байланыс трипептидті аминопептидазалардың бұзылуынан қорғайды. GSH әр түрлі формада, соның ішінде глутатион дисульфиді (GSSG), ол тотығу нәтижесінде пайда болады және глутатион-цистеинил болып табылатын GSSR глутатионының дисульфидтердің аралас түрінде болады. GSH негізгі бөлігі цитозолда (80-85%) және аз концентрацияда митохондрияларда және эукариоттық жасушалардың эндоплазмалық торында кездеседі. GSH жүйесі сүтқоректілер жасушаларындағы тиолға тәуелді негізгі антиоксиданттық жүйелердің бірі, сонымен бірге GSH сүтқоректілер жасушаларында ең көп таралған ақуызсыз тиол болып табылады. GSH және GSSG екеуі де NADPH сияқты басқа тотығу-тотықсыздандырғыш қосылыстармен бірге жұмыс істейді [144].



Сурет 3 - Глутатион құрылымы [145]

Глутатион синтезінің жылдамдығы жас ұлғайған сайын төмендейді, ал қант диабеті, муковисцидоз және әртүрлі бауыр аурулары сияқты ауруларда GSH синтезінің төмендеуі анықталды.

GSH синтезінің төмендеуі синтетикалық ферменттердің экспрессиясының төмендеуі нәтижесінде болады. Кейбір жағдайларда биосинтетикалық ферменттердің әртүрлі суббірліктерінің полиморфизмдері синтетикалық ферменттердің белсенділігін төмендету арқылы GSH синтезін төмендетуі мүмкін. GSH жасушалардан ОБТ жоюға қатысатындықтан, GSH өндірісінің төмендеуі жасушада ОБТ жинақталуына әкеледі [146].

ОБТ ДНҚ, ақуыз және мембраналарға зақым келтіруі мүмкін, осылайша GSH экспрессиясының төмендеуі атеросклерозға, АИТВ-ға, кейбір қатерлі ісіктерге және ревматоидты артритке байланысты.

1.3.2 Қант диабетінің 2-типі кезінде қан тамырларда асқынулардың дамуындағы тотығу стресінің рөлі

Ұйқы безінің β -жасушаларын, аортаның тегіс бұлшықет және эндотелий жасушаларын қолдана отырып жасушаны дақылдау арқылы зерттеу кезінде қант диабетінде ОБТ өндірісінің ұлғаюы дәлелденді [147]. β -жасушалардың линиясы және ұйқы безінен оқшауланған аралшық жасушаларына тотығу стресінің әсері промотор белсенділігін және инсулин генінің мРНҚ экспрессиясын тежейтіні көрсетілген, сондықтан инсулин генінің экспрессиясы төмендейді. Тотығу стресі созылмалы гипергликемия тудырған инсулинге төзімділікке де қатысы бар [148]. Тәжірибелік және клиникалық зерттеулер тотығу стресінің жүрек-қан тамырлары аурулары және канцерогенез секілді әртүрлі аурулардың патогенезіне қатысатынын көрсетті [149]. Созылмалы гипергликемияның ҚД2Т-де микроваскулярлық және макроваскулярлық асқынулардың дамуына ықпал ететін негізгі фактор ретінде қарастырылады. Гипергликемия ДНҚ, липидтер мен ақуыздардың зақымдалуына жауап береді, зақымдану дәрежесі ОБТ өндірудің гипергликемиядан туындаған дәрежесімен және сәйкесінше тотығу стресімен байланысты болады [150]. Тотығу стресі СОД, ГПО, каталаза және GSH секілді ақуыздардың немесе ферменттердің инактивациясын тудырады және бұл ақуыздардың төмендеуі тотығу стресіне ықпал етеді [151]. Қант диабетінде митохондриялық мембранадағы өзгерістер электронды тасымалдау тізбегіндегі кешендердің белсендірілуіне алып келеді, осылайша оттегі радикалдарының пайда болуына ықпал етеді. NADPH оксидазасы ОБТ-н шығарады және диабеттік модельдердің ұлпалары мен жасушаларында глюкозадан туындаған белсенді оттегі түрлерінің пайда болуының негізгі көзі ретінде қарастырылады. Ксантинооксидаза қант диабеті мен диабеттік асқынулардың дамуында ОБТ түзілуінде маңызды рөл атқаратынын атап өткен жөн. Глюкоза және оның метаболиттері қант диабетіндегі аутооттығу кезінде гидроксил радикалын түзу үшін темір және мыс иондарының қатысуымен сутегі асқын тотығымен әрекеттеседі, осылайша ОБТ түзілуіне және диабеттік асқынулардың дамуына ықпал етеді [152].

Адам ұлпалары мен мүшелерін патологиялық өзгерістерді тудыратын

тотығу стресі ҚД2Т кезінде микро - және макроваскулярлық асқынулардың қалыптасуы мен дамуында маңызды рөл атқарады [153].

Глюкозаға резистенттіліктің өзгеруі, инсулин секрециясының 1-ші фазасының бұзылуы, жедел және созылмалы гипергликемия, глюкозаның уыттылығы, глюкозаның аутоототығуының жоғарылауы және оның ақуыздардың гликация үрдістеріне қатысуы тотығу стресінің дамуын тудыратын және тамыр қабырғасын зақымдайтындай әсер болатын бос радикалдардың түзілуін ынталандыратын және кейіннен эндотелийдің дисфункциясына алып келетін бірқатар бұзылуларды тудырады [154].

Көптеген зерттеулердің нәтижелерінде гипергликемия, бос май қышқылдары және инсулинге резистенттілік тотығу стресінің дамуына, қан тамырларының тарылуына, қабынуға және тромбозға С протеинкиназасының және соңғы гликация өнімдерінің рецепторларының белсендірілуіне әкелетіні көрсетілген. Митохондриялардағы бірқатар ферменттік каскадтар, соның ішінде NADPH оксидазасының активтенуі, NO синтазасының ажырауы және ксантиноксидазаның стимуляциясы қандағы глюкоза деңгейінің жоғарылауымен іске асады [155].

Инсулин тапшылығы немесе инсулинге резистенттіліктің жоғарылауы жағдайында антиоксидантты қорғаныс жүйесінің прооксиданттар арасындағы тепе-теңдіктің бұзылуы, көмірсулардың тотығуы және май қышқылдарының аутоототығуы нәтижесінде реактивті тотықтырғыш өнімдерінің жоғарылауы, ГПО, каталаза, СОД және т.б. ферменттердің антиоксидантты қорғаныс жүйесі, сондай-ақ ферментативті емес антиоксиданттар (глутатион, К, Е, С дәрумендері және т.б.) жұмысының төмендеуі, митохондриядағы тотығу фосфорлануының бұзылуы, жедел және созылмалы гипергликемияның әсерінен простагландиндер мен лейкотриендердің биосинтезінің өзгеруі, митохондриялық ақуыздардың тотығуына, митохондриялық дисфункцияға және оттегінің белсенді түрлерінің түзілуін ынталандыруға әкелетін эндотелий және біріңғай бұлшықет жасушаларында NADPH оксидазасының активтенуімен гликацияның соңғы өнімдерінің түзілу механизмдері болып табылатын тотығу стресіне әкеледі [156].

Прооксиданттар мен антиоксидантты қорғаныс жүйесі арасындағы теңгерімсіздік липидтердің асқын тотығу үрдістерінің жоғарылауымен, атеросклероздың дамуына және эндотелий функциясының бұзылуына қатысатын арнайы тамырдағы өзгерістердің дамуына ықпал ететін липопротеидтердің сапалық сипаттамаларының бұзылуымен бірге жүреді.

Қазіргі уақытта АБТ түзілуі биологиялық жүйенің оларды бейтараптандыру және жою қабілетінен асып кеткен кезде гипергликемия нитрозативті стрестің дамуында тікелей рөл атқаратыны туралы дәлелдер алынды [153 б.658]. Бос радикалдардың, реактивті метаболиттердің және тотығу стрестерінің түзілуінің жоғарылауы аурудың дамуының негізгі факторы болып табылады.

1.4 Қант диабетінің 2-типіне цитокиндердің рөлі

Цитокиндер – негізінен иммундық жүйенің белсендірілген жасушаларында өндірілетін, антигендік спецификасынан айырылған және иммундық жауапта,

гемопозде, қабынуда және жүйе аралық әрекеттесулерде жасуша аралық байланыстарға делдалдық қызмет жасайтын ақуыздар.

Цитокиндер дәстүрлі түрде бірнеше топқа бөлінеді: лейкоциттер арасындағы өзара әрекеттесу факторлары болып табылатын - интерлейкиндер; вирусқа қарсы белсенділігі бар цитокиндер - интерферондар; ісік некрозының факторлары; гемопозтикалық цитокиндер; химокиндер - химотактикалық цитокиндер [157].

Басқа зерттеу нәтижелерінде қабыну бүкіл әлемде эпидемия деңгейіне жеткен аурудың дамуында шешуші фактор болуы мүмкін екендігін болжайды. Қант диабетіндегі метаболиттік өзгерістерге байланысты, алғашқы кезекте жасушалық деңгейде, жасушаның функционалдық өзгерістерін және қабыну реакциясы деңгейінде сәйкес көріністері бар тіндермен оның барлық компоненттерінің өзгерістерін күту керек [158].

Қазіргі уақытта 18 интерлейкин (ИЛ) белгілі және олардың негізгі функциялары сипатталған. Қазіргі заманғы деректерге сәйкес, инсулин тапшылығының даму механизмдерінде ИЛ-1 маңызды рөл атқарады. ИЛ-1 – негізінен макрофагтардың қалдық өнімі, басқа цитокиндердің (ИЛ-2, 3, 4, 5, 6 т.б.) өндірілуінің каскадын қоздыруға қабілетті, Т- және В-лимфоциттердің белсендірілуін тудырады. Яғни, қабынуға дейінгі цитокин, жергілікті қабыну реакциясын және қызба, гипотензия және шок сияқты көрінетін жүйелі синдромды тудыруы мүмкін [159].

Зерттеушілердің пікірінше, ағзаның иммундық күйін дұрыс бағалау үшін тек иммундық жүйенің жасушалық құрамын зерттеу жеткіліксіз, сонымен қатар осы жасушалардың цитокин өндіру қабілетін бағалау қажет. Олар қызыл сүйек кемігіндегі тін жасушаларының дифференциациясын, қан жасушаларының және жалпы иммундық жүйенің жетілуін, көбеюін және қызметін, иммундық жүйенің барлық бөліктерінің үйлестірілген өзара әрекетін реттеп, ішкі гомеостаздың тұрақтылығын қамтамасыз етеді. Антигендік спецификаға ие болмаса да, олар антигендер туралы ақпаратты тасымалдаушылар болып табылады және белгілі бір цитокиндер кешені түрінде әрекет етеді. Ағзадағы патологиялық үрдістердің дамуында цитокиндік жүйенің рөлі орасан зор. Цитокиндердің синтезін күшейтудің бастапқы факторы антигендердің ағзаға енуі және антигендік стимуляцияға жауап ретінде цитокиндер деңгейінің жоғарылауын тудыратын цитокиндік гендердің экспрессиясы болып табылады. Ағзадағы әрбір мүшелердегі бірдей цитокинді дене жасушаларының әртүрлі түрлерімен өндірілуі мүмкін [160].

Екінші жағынан, цитокиндер бір-бірімен биологиялық әрекетін өзара алмастырудың кең мүмкіндігіне ие. Басқа биологиялық белсенді молекулалардан айырмашылығы, цитокиндер әдетте жасушаларға аутокриндік, паракриндік және эндокриндік әсер етеді. Цитокиндердің эффекторлық Т- және В-лимфоциттердің түзілуіндегі және ұйқы безі тіндегі созылмалы қабыну реакцияларының реттелуіндегі рөлі қант диабеті мәселесін зерттейтін ғалымдардың назарында. Т-жасушаларының әртүрлі субпопуляциялары цитокиндердің әртүрлі жиынтығын түзетіні белгілі. Мысалы, 1 типті Т-хелпер

(Th1) популяциясы ИЛ-2, ИЛ-3, INF-g бөледі, ал 2 типінің Т-хелпер (Th2) популяциясы ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10 және ИЛ-13 бөледі [161].

Қазіргі уақытта қант диабетінің түзілуіне әртүрлі цитокиндердің қатысуы туралы ғалымдардың пікірлері жиі қарама-қайшы болып табылады, сондықтан бұл мәселе қосымша зерттеуді қажет етеді. Бұл қабынуға дейінгі және қабынуға қарсы цитокиндерге де байланысты, олардың тепе-теңдігінің бұзылуы иммундық жауаптың қорғаныш қасиетінің ауытқуын тудырады, әрі ұйқы безінің β -жасушалары арқылы инсулин секрециясына теріс әсер етеді. Мұның бәрі медицинадағы ерекше өзекті мәселе ретінде ҚД патогенезіндегі және клиникалық ерекшеліктеріндегі иммундық жүйенің рөлін, дамудың әртүрлі факторларын зерттеу бойынша ғылыми зерттеулерді жалғастыруды талап етеді [162].

Интерферон (ИФН) цитокиндерге жатады және вирусқа қарсы, иммуномодуляциялық, ісікке қарсы белсенділігі бар ақуыздар тобы. ИФН негізгі биологиялық әсерлерінің спектрі вирустық және вирустық емес сипаттағы жасушаішілік инфекциялық агенттердің көбеюін тежеп, антиденелер синтезін баяулатады немесе күшейтеді, макрофагтарды ынталандырады, фагоцитозды күшейтеді. Сонымен қатар табиғи киллер жасушаларын белсендіріп, лимфоциттердің белгілі жасушаларға цитотоксикалық әсерін күшейтіп, бірнеше жасушалық ферменттер белсенділігін арттырады немесе тежеп, жасуша мембраналарының өзгеруін қамтамасыз етеді [163].

Қатерлі ісіктердің жасушалары шығаратын қабынуға қарсы ісік некрозының факторы (TNF), макрофагтар, Т- және В-лимфоциттер, фибробласттар цитокиндерге жатады [164]. TNF иммундық үрдістерді және апоптозды реттеуге қатысады. TNF жергілікті әсері жасуша миграциясының күшеюіне, фагоцитоздың белсендірілуіне, қабынуға дейінгі цитокиндердің өндірілуінің жоғарылауына және Т-хелперлік байланысқа қарай ығысуын тудырады [165].

Семіздік ҚД2Т дамуының негізгі қауіп факторы болып табылады. Семіздіктен туындаған созылмалы қабыну ҚД2Т туындататын инсулинге резистенттіліктің патогенезінде шешуші рөл атқарады [166]. Көптеген қабыну үрдістері метаболиттік дисфункцияға ықпал етеді [167].

ИЛ-1, ИЛ-6 және TNF- α сияқты қабыну цитокиндері инсулинге резистенттіліктің дамуына қатысатыны расталды. Сондай-ақ, ИЛ-8 ҚД2Т бар емделушілерде жоғарылайтыны және семіздікке қатысты көрсеткіштермен байланысты екені анықталды [168]. Қабынуға қарсы жүйе инсулинге резистенттілікті, ҚД2Т-не сезімталдықты төмендете алады. Қабыну цитокиндерін тежеу арқылы ҚД2Т -нен қорғайтын әсерге ие екендігі көрсетілген [169,170].

Қабыну цитокиндеріне бағытталған моноклональды антиденелер коронарлық артерия ауруын, ревматоидты артритті және басқа жүйелі аутоиммунды ауруларды емдеу үшін қолданылады.

2 ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ

2.1 Зерттеу нысаны

Зерттеу нысаны ретінде науқасты іріктеу, олардан биоматериал үлгілерін жинақтап алу Гвадалахара қаласының доктор Хуан И. Менчака атындағы азаматтық ауруханасында жүзеге асырылды (Гвадалахара қ., Халиско штаты, Мексика).

Зерттеуге қатысу үшін алынған биологиялық материал үлгілері тек зерттеуге қатысуға берілетін ақпараттық келісімімен және ерікті ақпараттандырылған келісімге қол қойылғаннан кейін ғана жинақталды (*қосымша А*).

Биологиялық материалдарды зерттеуге пайдалану Хельсинки декларациясына сәйкес жүргізілді. Хуан И. Менчаканың Жаңа азаматтық ауруханасының этика комитеті (сілтеме нөмірі: 17 CI 14 039 116 *COFEPRIS* - санитарлық қауіптерден қорғауға арналған Федералдық комиссия) мен Гранада университетінің этика комитеттерінде (сілтеме нөмірі: 940/CEIN - Денсаулық сақтау саласындағы үздіктер және инновациялар жөніндегі комиссия/2019) (Гранада қ., Испания) мақұлданып, сонымен қатар халықаралық этика талаптарына сай орындалды (*қосымша Ә*). Бұл жұмыста зерттеуге 47 ер, 35 әйел, жалпы саны 82 қатысушы қатысып, келесідей үш топқа бөлінді:

1-ші бақылау тобы: бақылау тобындағы адамдарда глюкоза мен инсулинге қалыпты реакциясы бар, қант диабетінің 2-типімен ауыратын әулеттік тарихы жоқ, дәрі-дәрмектер қабылдамаған дені сау 30 ерікті қатысушы іріктелді;

2-ші тәжірибелік топ: қант диабетінің 2-типімен ауыратын, бірақ асқынулары жоқ 26 науқас алынды;

3-ші тәжірибелік топ: қант диабетінің 2-типімен ауыратын, ауру тарихында микро - (диабеттік ретинопатия, нефропатия және нейропатия) және макроваскулярлық асқынулары (гипертония, жүректің ишемиялық ауруы, перифериялық артериялық жеткіліксіздік, инсульт, қан тамырларының церебральды құбылыстары секілді асқынулар) бар 26 науқас алынды. Барлық қан тамырлары аурулары туралы мәлімет клиникалық жазбада құжатталған.

Зерттеушілер тобын іріктеуде негізге алынған талаптар: 40-тан 65 жасқа дейінгі ер және әйел адамдар, кемінде 5 жыл бойы қант диабетінің 2-типі диагнозы қойылған науқастар алынды.

Зерттеушілер тобын іріктеуде шеттетілетін талаптар: ауыр диабеттік асқынулары бар науқастар, ампутациялар, бүйректің созылмалы аурулары және диализ, қабыну, жүктілік, инфекциялық немесе аутоиммундық аурулар, бауыр аурулары, эпилепсия сияқты басқа да аурулары бар науқастар қант диабетінің 2-типті диагнозын қойғанға дейін осы зерттеуден алынып тасталынды және дене массасының индексі (ДМИ) 40 кг/м^2 -тен асқан емделушілер шеттетілді.

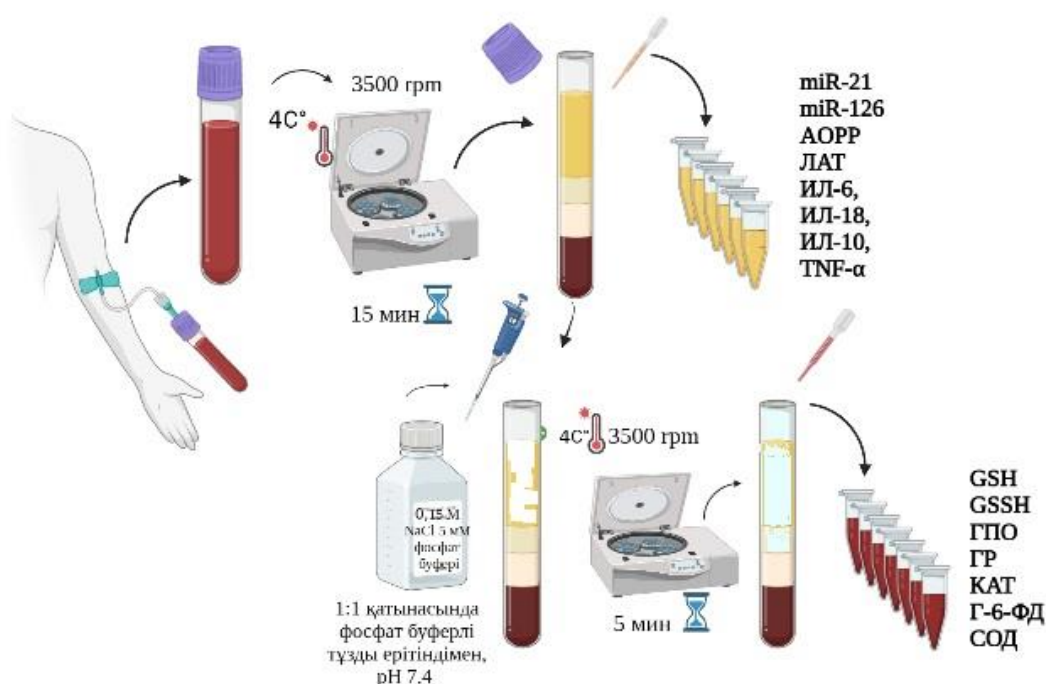
Қант диабетінің 2-типін диагностикалау үшін Американдық қант диабеті қауымдастығы (ADA) ұсынған критерийлері қолданылды. 2-типті қант диабеті бар науқастарға ADA критерийлері негізінде: аш қарындағы плазмалық глюкоза (FPG) $\geq 126 \text{ мг/дл}$ (7,0 ммоль/л), глюкозаға резистенттіліктің (IGT) бұзылуы 75 г

глюкозаны 250-300 мл суға ерітіп, ерітіндіні қабылдағаннан соң (2hPG) 2 сағаттан кейін қандағы қант деңгейі $140 \text{ мг/дл} \leq 2\text{hPG} < 200 \text{ мг/дл}$ өзгеруі ретінде (немесе $7,7 \text{ ммоль/л} \leq 2\text{hPG} < 11,1 \text{ ммоль/л}$), немесе гликозилденген гемоглобин A1c ($\text{HbA1c} \geq 6,5\% / 48 \text{ ммоль/л}$) анықтайтын қолданыстағы биомаркерлер арқылы диагноз қойылды [171].

2.2 Зерттеу материалдары

2.2.1 Қан үлгілерін жинақтау

Барлық субъектілерге қан сынамаларын алу алдында таңертең дәрі қабылдамауға кеңес берілді. Түнгі ашығудан кейін (10-12 сағат) аш қарынға веноздық қан үлгілері (5 мл) этилендиаминтетрасірке қышқылы (ЭДТҚ) түтікшелерінде жиналды.



Created in BioRender.com

Сурет 4 - Перифериялық қан үлгісінен плазма және қан жасушаларын бөліп алу *BioRender.com* сайтында жасалған (2023 жылдың 04 маусымы)

Қан үлгілеріндегі плазманы эритроциттерден бөліп алу үшін, 3500 айн/мин 4°C температурада 15 минут бойы центрифугаланды, содан кейін рибонуклеазасыз *RNase* стерильденген түтікшелерге плазмалар мен қанның қызыл жасушалары бөліп алынды. Түтікшеде қалған эритроциттерді 1:1 қатынасында фосфат буферлі тұзды ерітіндімен, рН 7,4 (құрамында 0,15 М NaCl бар 5 мМ фосфат буфері) суспензияланып, 3500 айн/мин 25°C температурада 5 мин центрифугаланды. Содан кейін стерильденген пипеткамен супернатантты

үстіңгі жағында орналасқан лейкоциттер фракциясымен қоса алынып тасталды, жуылған эритроцит жасушалары түтікшелерге бөлініп, құйылды. Дайын болған супернатанттар тиісті ішкі кодпен таңбаланып, – 80°C мұздатқышта сақталды (сурет 4). Биоматериалды одан әрі өңдеу Гранада университеті, Биомедициналық зерттеу орталығының «Жасушааралық байланыс CTS-102» зертханасының базасында жүргізілді (Гранада қ., Испания).

2.2.2 Химиялық реагенттер

Химиялық талдауда тәжірибе шарттарына сәйкес ерітіндіні сұйылтқанда немесе оған басқа реагенттерді қосқанда өзгермейтін нақты рН мәнін сақтай отырып, химиялық реакция жүруі керек жағдайларда және сульфидтер, гидроксидтер, карбонаттар, хроматтар, фосфаттар т.б. тұндыру барысында кеңінен қолданылатын буферлік ерітінділер: калий фосфатты буфері (50 ммоль/л potassium phosphate buffer рН 7.0, KH_2PO_4); каталаза үлгілері үшін жұмыс буфері (working solution working buffer 15 ммоль/л H_2O_2), фосфат-ЭДТҚ 10 ммоль/л, рН=6,25, Na_2 ЭДТҚ 1 ммоль/л, А буфері немесе гемолиз буфері ЭДТҚ 10 ммоль/л, рН=6,25, Na_2 ЭДТҚ 1 ммоль/л; В буфері: фосфат- ЭДТҚ, 100 ммоль/л, рН=8,0, Na_2 ЭДТҚ 5 ммоль/л. $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (PM=156,01 г/моль), Na_2HPO_4 (PM=142,0 г/моль), Na_2 ЭДТҚ (PM=372,2 г/моль); фосфат буфері 100 ммоль/л, рН=7,5 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ PM=156,01 г/моль, Na_2HPO_4 PM=142,0 г/моль); В буфері: фосфат-ЭДТҚ, 100 ммоль/л, рН=7,5, Na_2 ЭДТҚ 1 ммоль/л; 50 ммоль/л калий фосфатты буфері рН 7,0 (KH_2PO_4) 6,8 г, сутегі асқын тотығы ерітіндісі 15 ммоль/л H_2O_2 ; этилендиаминтетрасірке қышқылы динатрий тұзы (Na_2 ЭДТҚ PM=372.2 г/моль);

Фосфат буфері 100 ммоль/л, рН=7,5 ($\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na} \times 2\text{H}_2\text{O}$ PM=156,01 г/моль, PO_4HNa_2 PM=142,0 г/моль); Тотықсызданған глутатион GSH (PM=307,3 г/моль); никотинамид адениндинуклеотид фосфаты NADPH (PM=833,3 г/моль); глутатион редуктаза ферменті (GSSG reductase); натрий азиді (N_3Na , PM = 65,01 г/моль); кумола гидроксиді MW= 90,12 г/моль, = 0,83 г/мл);

Глутатионредуктаза буфері (10X); 10X еріткіш буфері (*GR Sample Buffer*); Глутатион ГР (аммоний сульфаты суспензиясы, 100-300 Бірл/мг ақуыз (биурет); үшхлорсірке қышқылы 10% (TCA 10%); тотықсызданған глутатион (GSH, PM=307,3 г/моль); орто-Фталальдегид (OPT, PM=134,1 г/моль); Стандартты қисық үшін тотыққан глутатион (GSSG, PM=612,6 г/моль); NaOH 0,1 N; N-этилмалеймид (NEM, PM=125,1 г/моль).

Бикарбонат буфері 50 ммоль/л, Na_2 ЭДТҚ 0,1 ммоль/л, рН=10,2 (NaHCO_3 100 ммоль/л, Na_2CO_3 100 ммоль/л); тұз қышқылы ерітіндісі (1 M HCl); Этанол (PM = 46,07); Хлороформ (PM= 119,38);

Липидтің асқын тотығы еріткіші (ацетонитрил, метанол); ЛАТ реагент А (N-метил-2-фенилиндол); ЛАТ реагент В (метансульфон қышқылы (MsOH)); ЛАТ стандарт (1,1,3,3-триметоксипропан);

Фосфат-буферлі тұзды ерітінді рН=7,4 (PBS phosphate-buffered saline); хлорамина-Т (10 ммоль/л) ерітіндісі; калий йодиді (KI, 1,16 моль/л); сірке қышқылы (96%);

Human Cytokine/Chemokine/Growth Factor Panel A Standard, Human Cytokine/Chemokine/Growth Factor Panel A Quality Controls 1 and 2, Human Cytokine Panel A Serum Matrix, Assay Buffer, 10X жуғыш буфері, Human Cytokine/Chemokine/Growth Factor Panel A Detection Antibodies, Стрептавидин-фикоэритрин.

RNase мен ақуыз кешендері және денатурациясын жеңілдететін жуғыш заты бар (RPL) буфері, RPP буфері, изопропанол, жуғыш буфер (RWT), RPE буфері, 80% этанол, *Poly(A)* реакция қоспасы, *TaqMan miRNA* кері транскрипция жинағы, *miR-Amp Primer Mix* және *TaqMan miR-Amp Master Mix*, праймерлерден тұратын кДНК көбейту қоспасы, *miR-Amp* реакция өнімдері, *miRNA TaqMan Advanced Assays* жинағы, *TaqMan Fast Advanced Master Mix* қоспасы.

2.3 Зерттеу әдістері

2.3.1 Клиникалық және антропометриялық стандарт әдісі

Антропометриялық клиникалық көрсеткіштер (жасы, жынысы, салмағы, дене массасының индексі (ДМИ), бел шеңбері), систолалық және диастолалық қысым, аурудың созылу ұзақтығы ауруханаға түсу немесе дәрігерге бару кезінде антропометриялық стандарт әдісі арқылы анықталды. Дене салмағы стандартты таразы арқылы өлшенді. ДМИ жынысы мен жасына тәуелсіз, адамның дене салмағының (кг) бойына (м²) шаққандағы шама ретінде анықталды.

$$\text{ДМИ} = \frac{m \text{ (кг)}}{h \text{ (м}^2\text{)}} \quad (1)$$

мұндағы, m -дене салмағы, кг;

h - бойы, м²;

ДМИ -дене массасының индексі, кг/м².

Бел шеңбері (WC) стандартты өлшеуіш таспамен өлшенді. Өлшеу 0,1 см дәлдікпен сан сүйегінің ұшы мен төменгі қабырға арасында жүргізілді [172]. Артериялық қысым 5 минуттық тынығудан кейін сәйкес өлшемді манжетпен сфигмоманометрмен өлшенді. Систолалық және диастолалық қан қысымының мәндері үшін 1 минут аралықтағы екі өлшеудің орташа мәні қолданылды.

2.3.2 Липидтер профилінің және көмірсулар алмасуының биохимиялық көрсеткіштерін анықтау

Жалпы холестерин және триглицеридтер (ТГ) деңгейлерін өлшеу колориметриялық ферментативті әдіспен жүргізілді. Аш қарынға плазмадағы глюкоза (FPG) *Siemens* анализаторында (*Siemens Healthcare, Erlangen, Germany*) *Spain* әдісімен анықталды. Гликозирленген гемоглобин (HbA1c) автоматты анализаторда (*Tosoh, Japan*) анықталды. Инсулин деңгейі автоматты биохимиялық анализатор *CetaurusXP* (*Siemens, Siemens Healthcare, Erlangen, Germany*) көмегімен анықталды. Содан кейін инсулинге резистенттілік үшін гомеостатикалық модельді бағалау (НОМА-IR) төмендегі формула бойынша есептелді:

$$\text{НОМА} - \text{IR} = \frac{\text{аш қарынға плазмадағы глюкоза} \left(\frac{\text{мг}}{\text{дл}}\right) \times \text{аш қарынға инсулин (мклБірл/мл)}}{405} \quad (2)$$

Бүйрек күйі шумақтық сүзілу жылдамдығының көрсеткіші ретінде қан сарысуындағы креатинин мөлшерін және бүйректің экскреторлық функциясының бұзылуының көрсеткіші ретінде несепнәр деңгейін өлшеу арқылы бағаланды.

2.3.3 Гемоглобинцианид әдісі арқылы қызыл қан жасушасындағы гемоглобинді анықтау (Драбкин әдісі)

Гемоглобинцианид әдісінің принципі гемоглобиннің барлық түрлерін бір гемоглобинцианидке айналдыруға негізделген. Гемоглобинді гемоглобинцианидке айналдыру құрамында калий феррицианиді, калий цианиді, калий дигидрофосфаты және иондық емес жуғыш зат бар трансформациялаушы ерітіндімен әрекеттесу арқылы жүзеге асырылды. Калий дигидрофосфаты 3-5 минут ішінде реакция жүретін рН деңгейін сақтайды. Жуғыш зат эритроциттердің гемолизін күшейтеді және плазма ақуыздарымен байланысты лайланудың алдын алады [173].

Драбкин әдісі бойынша 20 мкл қызыл қан жасушаларына 5 мл Драбкин ертіндісі қосылып, 5 мин бөлме температурасында инкубацияланды. Гемоглобин калий ферроцианидін тотықтырып, метгемоглобин түзеді, ол цианидпен бірге калий цианметгемоглобинге айналады. Планшетті спектрофотометр *BioTek Power-Wavex Microplate Scanning* аппаратында стандарт гемоглобин және үлгідегі гемоглобин мөлшері өлшенді. Нәтижелер төмендегі формула бойынша есептелді:

$$\text{Hb} \left(\frac{\text{г}}{\text{л}}\right) = \text{үлгідегі гемоглобин мөлшері} \times 37,7 \quad (3)$$

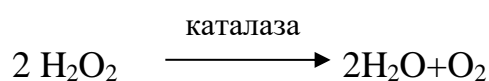
мұндағы, Hb – гемоглобин мөлшері, г/л;

37,7 – стандарт ерітіндідегі гемоглобин мөлшері, г/л.

540 нм толқын ұзындығындағы цианметгемоглобиннің түс қарқындылығы қандағы гемоглобин мөлшеріне тура пропорционал.

2.3.4 *Aebi* әдісі арқылы каталаза белсенділігін анықтау

Каталаза белсенділігін анықтау *Aebi* (1984) әдісі арқылы УФ спектрофотометрінде 3 минут аралығында 240 нм толқын ұзындығында оптикалық тығыздығы өлшенді [174]. Бұл әдіс зерттелетін үлгінің каталазасы су мен оттегіні түзу арқылы, сутегі асқын тотығының ыдырау жылдамдығын анықтауға негізделген.



Каталаза белсенділігін анықтау әдістемесінің принципі уақыт бірлігінде биологиялық сығындының құрамындағы бос каталазалармен ыдыраған сутегі

асқын тотығының мөлшерін өлшеу болып табылады. Каталазаның белсенділігі минутына ыдыраған сутегі асқын тотығының мөлшеріне қарай, меншікті белсенділікпен есептелді.

Каталаза ферменті қызыл қан жасушаларының ішінде болғандықтан 1:20 қатынасында гемолиз буферінде (фосфат - ЭДТҚ 10 ммоль/л, рН=6,25, Na₂ЭДТҚ 1 ммоль/л) сұйылтылып, әрі қарай 15 минут бойы 20000 g центрифугада суспензияланады. Содан кейін дайын болған гемолизатты 1:10 қатынасында, яғни 20 мкл супернатант экстрактын сілтілі ортада (50 ммоль/л, рН=7,0) 180 мкл фосфат буферінде инкубацияланды. Құрамында каталаза бар сұйытылған 5 мкл аликвотты құрамында фосфат буфері және сутегі асқын бар 495 мкл жұмыс буферінде қосып, ерітіндідегі сутегі асқын тотығының ыдырау жылдамдығы анықталды.

1 мг ақуызда каталаза (мкмоль) белсенділігін минутына есептеу үшін келесі формуланы пайдаланады:

$$\text{Белсенділік} = \frac{\Delta \text{Абсорбция/мин} \times 20000}{\epsilon_{240} \cdot \text{конц Нв (г/л)}} \quad (4)$$

мұндағы, ϵ_{240} – 240 нм толқын ұзындығындағы абсорбцияның молярлық жұтылу коэффициенті;

Нв (г/л) - гемоглобин көрсеткіші;

Δ Абсорбция -УФ спектрофотометрінде анықталған каталаза мәні;

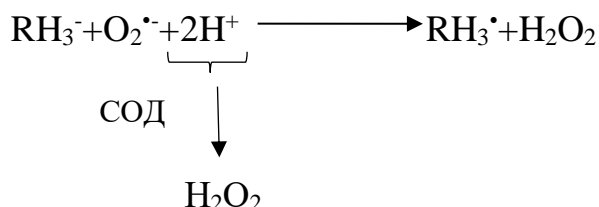
20000 - ерітінділердің сұйылтылу қатынасы

Сутегі асқын тотығының судағы және оттегідегі дисмутация жылдамдығы каталаза мөлшеріне пропорционал болғандықтан, үлгілер алдымен белгілі мөлшердегі сутегі асқын тотығымен инкубацияланады.

2.3.5 Супероксиддисмутаза ферментінің белсенділігін анықтау

Супероксиддисмутаза ферментінің (СОД) әр түрлі изоформалары супероксид анион радикалының сутегі асқын тотығы мен оттегіге айналуын катализдейді ($\text{O}_2^{\cdot-} + 2\text{H}^+ \longrightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$).

Қызыл қан жасушаларында СОД белсенділігін анықтау үшін қолданылатын әдіс эпинефриннің (адреналиннің) сілтілі ортада рН=10,2 супероксид анионын түзілуімен, адреналиннің ауототығу реакциясын тежеу қабілетіне негізделген [175].

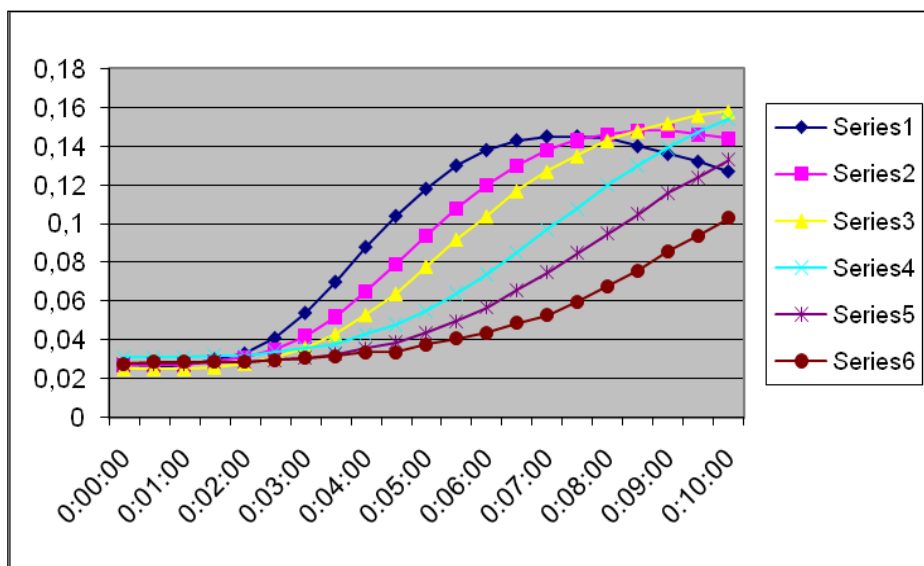


мұндағы, RN_3^- тотықпаған эпинефрин және RN_3^{\cdot} тотыққан адреналин (адренохром).

Эпинефрин қышқылдық ортада тұрақты, бірақ рН жоғарылаған сайын оның тотығуға бейімділігі бар. СОД қатысуымен адренохром өндірісі төмендейді,

өйткені бұл фермент супероксид анионының синтезін бейтараптандырады. Әдіс Cu/Zn-СОД нақты анықтауға бағытталған, сол себептен Mn-СОД және Fe-СОД инактивациялау үшін хлороформ-этанол қоспасы пайдаланылады. СОД ферментінің әсерін бағалау үшін гемолизаттың 50% ингибиторлық дозасы, яғни адренохром өндірісін 50% тежеуге қабілетті фермент мөлшері есептеледі.

СОД арнайы спектрофотометриялық әдіспен өлшенді. Фермент белсенділігін анықтау үшін эритроцит фракцияларын 1:5 қатынасында дистилденген суда (H₂O) сұйылтылып гемолизденді. Гемолизденген ерітіндіге этанол-хлороформ ерітіндісін қосып, 60 с бойы қолмен шайқалады, содан кейін оны 5 минут бойы 2200 g центрифугада айналдырып, СОД экстракты бөліп алынады. СОД алынғаннан кейін, адреналиннің өздігінен тотығуын болдырмау үшін жарықтан қорғалған 1 НСІ 6 mM адреналин дайындалады. Бөліп алынған аликвотты 1:25, 1:50, 3:50, 2:25 қатынастарында дистилденген суда (H₂O) сұйытылды. Спектрофотометр планшеттеріне үлгі супернататтың 5 рет сұйытылған түрде СОД мөлшерінің кему ретімен құйылды. Содан кейін бақылау ретінде су, эпинефрин (адреналин) және адреналинді тотықтыру үшін сілтілі ортада рН =10,2 натрий бикарбонат буфері (карбонат/бикарбонатты буфері 50 ммоль/л, Na₂ЭДТҚ 0,1 ммоль/л, рН=10,2) қолданылады. Эпинефриннің адренохромға дейін аутоотығу реакциясы талданатын үлгінің әртүрлі мөлшерлерінде СОД-ның болу және болмау жағдайында, барлық өлшемдер планшетті спектрофотометр *BioTek Power-WaveX Microplate Scanning* құралымен 10 минут бойы, 480 нм толқын ұзындығында адренохромның оптикалық тығыздығын өлшеу арқылы жүзеге асырылады. СОД белсенділігі Бірл/мг Нв ретінде көрсетілді, 1 бірлік адренохром өндірісін 50% тежеуге



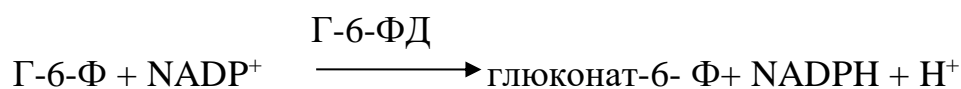
Сурет 5 - Әртүрлі СОД мөлшеріндегі эпинефрин мөлшерін тежеу мәндерінің сызықтық және логарифмдік функциялары

қабілетті ферменттің мөлшері ретінде анықталады (1 бірлік = адреналин аутоотығуының 50% тежелуі).

Есептеулер графиктің максималды көлбеу және шамамен сызықтық болатын уақыт диапазонында жұтылу мәндерін табу арқылы жасалды (сурет 5). Уақыт диапазондары арасындағы ұсынылған абсорбциялар айырмашылығының қатынасы есептеледі. Суретте әртүрлі СОД мөлшерлерінің қатысуымен эпинефрин мөлшерін тежеу мәндерінің сызықтық және логарифмдік функциялары бейнеленген. СОД белсенділігі қаншалықты көп болса, аз аденохроном түзіледі, сол себептен сызық төмендейді.

2.3.6 Глюкоза-6-фосфат-дегидрогеназа ферментінің белсенділігін анықтау

Глюкоза-6-фосфат-дегидрогеназа (Г-6-ФД) ферментінің белсенділігі УФ спектрофотометрия әдісі бойынша 340 нм толқын ұзындығында глюкоза-6-фосфаттың әсерінен (Г-6-Ф) үлгідегі тотыққан никотинамидадениндинуклеотид фосфатының (NADP⁺) тотықсыздануына байланысты жұтылу қабілетінің өзгеру жылдамдығын өлшеу арқылы анықталды және зерттеу үшін Г-6-ФД (*Spinreact, Cromakit, S.L., Granada, Spain*) реагенттері жиынтығы қолданылды.



Қызыл қан жасушалары 1:6 қатынасында биологиялық жуғыш реагентінде сұйытылып, 4°C температурада 15 минут ұстап, әрі қарай 10 минут бойы 3000 айн/мин центрифугада суспензияланды. Супернатант экстрактына 0,5 мл 0,1 М триэтанолламин буфері (triethanolamine buffer) рН=7,6, 15 мкл никотинамидадениндинуклеотид фосфатының (NADP⁺) тотыққан түріндегі ерітіндісі қосылып, 37°C температурадағы ваннада 5 мин инкубацияланды. Инкубацияланғаннан кейін глюкоза-6-фосфат субстрат ерітіндісін қосып глюкоза-6-фосфат-дегидрогеназа ферментінің белсенділігі анықталды. Реакция NADP⁺ реагентін қосқаннан кейін басталды. Глюкозо-6-фосфат глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа ферментінің қатысуымен жүреді, алдымен глюконат-6-фосфат және никотинамид аденин динуклеотид фосфатқа (NADPH) дейін тотығады. Түзілген қайта қалпына келтірілген, яғни тотықсызданған никотинамид аденин динуклеотид фосфатының (NADPH) мөлшері глюкоза-6-фосфаттың мөлшеріне, сәйкесінше глюкозаның мөлшеріне де сәйкес келеді.

Г-6-ФД белсенділігі жалпы фермент белсенділігінен фосфоглюконатдегидрогеназа (ФГД) белсенділігін алып тастау арқылы есептелді. Фермент белсенділігі мкмоль/мин/г Нв түрінде көрсетілген.

мБірл/г гемоглобиндегі Г-6-ФД белсенділігін есептеу үшін келесі теңдеу пайдаланылды:

$$\text{Г} - 6 - \text{ФД} = \frac{\text{мБірл. эритроцит мл} \times 100}{\text{Нв} \left(\frac{\text{г}}{\text{дл}} \right)} \quad (5)$$

мұндағы,

100 = мл-ді дл-ге түрлендіру коэффициенті;

Нв (г/дл) = әрбір үлгіде анықталған гемоглобин мөлшері.

Фермент белсенділігінің бірлігі минутына гемоглобиннің грамына қатынасында түзілетін 1 мкмоль NADPH ретінде анықталады.

2.3.7 Тотықсызданған және тотыққан глутатион мөлшерін анықтау

Тотықсызданған (GSH) және тотыққан (GSSG) глутатион мөлшері эритроциттер фракциясында колориметриялық әдіспен микропластинкаға арналған флуоресцентті аспапты пайдалану (*FLx800; BioTek Instruments Inc., Highland Park, VT, USA*) арқылы 340 нм және 420 нм толқын ұзындықтарында анықталды [176].

Бұл әдісте тотықсызданған глутатион (GSH) рН=8,0 кезінде орто-фталъдегидпен (OPT) арнайы әрекеттесіп, нәтижесінде 350 нм мен 420 нм сәулелену шыңымен белсендірілетін жоғары флуоресцентті өнім пайда болуына негізделген. Реакция соңғы рН байланысты, ол 8,0 тең болуы керек. рН<8,0 мәнінен төмен болғанда флуоресценция қарқындылығы төмендейді, ал рН>8,0 мәнінен жоғарыласа GSSG-нің GSH-қа айналуын тудырады. Яғни, 300 мкл эритроцит жасушалары 1:1 қатынасында натрий фосфаттымен (А) буферінде (10 ммоль/л натрий фосфат, 5 ммоль/л Na₂ЭДТҚ рН=6,25) суспензияланды. Содан кейін сұйытылып алынған 30 мкл эритроцитке тағы да 270 мкл натрий фосфатты (А) буферін (10 ммоль/л натрий фосфат, 5 ммоль/л Na₂ЭДТҚ рН 6,25) қосып, 300 мкл мұзды 10% үш хлор сірке қышқылымен (ТСА) депротейнденді, әрі қарай 15 минут бойы 20000 g центрифугада айналды. Сонымен қатар, натрий фосфатты (В) буферінде (100 ммоль/л натрий фосфат, 5 ммоль/л Na₂ЭДТҚ рН=8,0) 10:1 қатынасында GSH реагентінің стандартты қисық ерітіндісі жасалды. Супернатанттағы глутатионды өлшеу үшін натрий фосфатты (В) буфер (100 ммоль/л натрий фосфат, 5 ммоль/л Na₂ЭДТҚ рН=8,0) және OPT (орто-фталъальдегиді/этанол, 1 мг/мл) ерітіндісінде 25°C температурада 10 мин инкубацияланып, үлгілердің флуоресценциясы өлшенді. GSH мөлшерін анықтау үшін үлгілер шығаратын флуоресценция стандартты GSH ерітінділерінің қисығымен (0,2-ден 3,25 нмоль/мл-ге дейін) салыстырылады. GSH мәндері мкмоль/г Hb түрінде көрсетіледі.

Ал тотыққан глутатион GSSG рН=12,00 кезінде арнайы ОРА әрекеттеседі, нәтижесінде 350 нм мен 420 нм сәулелену шыңымен белсендірілетін жоғары флуоресцентті өнім пайда болады. Реакция соңғы рН мәніне байланысты, ол рН=12,00 теңболуы керек. Бұл мәннен төмен флуоресценция қарқындылығы глутатионредуктаза ферментімен түзілетін глутатионның (GSH) төмендеуіне байланысты болады. Бұған жол бермеу үшін үлгіде глутатионредуктаза N-этилмалеймидпен (NEM) тежеледі.

Тотыққан глутатион (GSSG) өлшемін жүргізу барысында 200 мкл супернатантты алдын ала 80 мкл N-этилмалеймид (NEM 5 мг/мл) ерітіндісінде 40 мин инкубацияда ұстайды, GSH-ның GSSG-ге тотығуын болдырмау үшін үлгілерге N-этилмалеймид қосылды, келесі кезекте 0,1 н NaOH ерітіндісінде сілтілендірілді. Тотықсызданған глутатион мен тотыққан глутатион мөлшері

стандартты қисыққа негізделе отырып өлшеніп, олардың дәрежелері нмоль/мг белок көрсеткішімен белгіленді. GSH:GSSG қатынасы (толығымен GSH-GSSG)/GSSG) формуласы арқылы анықталды. Нәтижелер төрт көрсеткішті логистикалық сәйкестендіру арқылы есептелініп, мкмоль/г Нв түрінде көрсетілді.

2.3.8 Қызыл қан жасушасындағы глутатионпероксидаза белсенділігін анықтау

Қызыл қан жасушасындағы глутатионпероксидаза (ГПО) белсенділігі коэнзиматикалық реакция арқылы жанама өлшеу болып табылады. ГПО белсенділігінің анықталуы глутатион (тотықсызданған формада) және NADPH - тотыққан глутатион мен гидроксид кумоласын түзу үшін кумала гидропероксидімен әрекеттесетін коэнзиматикалық реакция арқылы жүзеге асады [177-178]. ГПО ферменті глутатионның (GSH) тотығуын кумола гидропероксиді көмегімен катализдейді. Глутатионредуктаза және никотинамидадениндинуклеотидфосфат (NADPH) қатысуымен тотыққан глутатион (GSSG) NADPH-тің NADP⁺-ке дейін тотығып, бірден тотықсызданған түріне айналады және осылайша 340 нм толқын ұзындығында жұту қабілетінің төмендеуі спектрофотометрдің көмегімен өлшенді.



Жалпы қандағы ГПО белсенділігі жинақпен бірге берілген сынақ процедурасына сәйкес гемолизаттың бір литріне бірлікпен өлшенді. ГПО ферменті қызыл қан жасушаларының ішінде болғандықтан 1:20 қатынасында гемолиз буферінде (фосфат - ЭДТҚ 10 ммоль/л, рН=6,25, Na₂ЭДТҚ 1 ммоль/л) сұйылтылып, әрі қарай 15 минут бойы 20000 g центрифугада суспензияланады. ГПО талдауы үшін сынамаға құрамында тотықсызданған глутатион, глутатионредуктаза және NADPH бар ерітінді қосылады. Супернатанттағы ГПО белсенділігін бағалау үшін спектрофотометр планшеттерінде 10 мл дигидрофосфат натрий буфері (фосфат - ЭДТҚ, 100 ммоль/л, рН=7,5, Na₂ЭДТҚ 1 ммоль/л), 1,7 мг NADPH реакция қоспасынан А ерітіндісі катализденбеген реакция және 2,6 мг NaN₃, 10 мл дигидрофосфат натрия буферінен (фосфат - ЭДТҚ, 100 ммоль/л, рН=7,5, Na₂ЭДТҚ 1 ммоль/л), 12,3 мг глутатион, 1,7 мг NADPH, 11 мкл глутатионредуктаза (ГР) реакция қоспасынан Б ерітіндісі катализденген реакция үшін қолданылып, 25°C 5 мин инкубацияланды. Ферментативті реакция кумана гидропероксиді субстратын қосумен басталды және барлық өлшемдер планшетті спектрофотометр *BioTek Power-WaveX Microplate Scanning* құралымен 340 нм толқын ұзындығында 3 минутта оптикалық белсенділігі қаншалықты төмендегені өлшенді [179]. Жұту қабілетінің төмендеу жылдамдығы үлгідегі ГПО белсенділігіне тура пропорционал.

2.3.9 Қызыл қан жасушасындағы глутатионредуктаза белсенділігін анықтау

Глутатионредуктаза (ГР) ферментінің белсенділігін анықтауға арналған *Cayman's* жиынтығы (703202; *Cayman chemical, Ann Arbor, MI, USA*) NADPH тотығу жылдамдығын өлшеу арқылы ГР белсенділігін өлшейді:



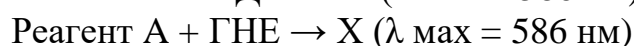
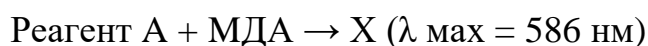
NADPH-тің NADP⁺-қа тотығуы 340 нм жұтылуының төмендеуімен жүреді және үлгідегі ГР белсенділігіне тура пропорционал.

Глутатионредуктаза ферментінің белсенділігі NADPH тотығуы арқылы GSH қайта қалпына келуінің нәтижесінде оптикалық тығыздықтың төмендеуімен бағаланады.

ГР ферменті қызыл қан жасушаларының ішінде болғандықтан 1:20 қатынасында H₂O дистилденген суда сұйылтылып, әрі қарай 15 минут бойы 10000 g центрифугада суспензияланды. Дайын болған супернатанты 1:20 қатынасында ГР еріткіш буферінде сұйытылды. Аликвоттағы ГР белсенділігін бағалау үшін спектрофотометр планшеттерінде құрамында бөлме температурасындағы 100 мкл калий-фосфатты буфері (pH=7,5), 20 мкл аликвот, 20 мкл тотыққан глутатион (GSSG), 50 мкл NADPH құйып, бірден планшетті спектрофотометр *BioTek Power-Wavex Microplate Scanning* аспабымен 3 минуттық инкубация кезінде 340 нм толқын ұзындығында оптикалық белсенділігі қаншалықты төмендегені өлшенді. NADPH оксидаза белсенділігіне кедергі келтірмеу үшін планшеттегі үлгілерде NADPH (0,38 М) және ГР (3,5–20 нМ) реактивтері болды. Реакция планшеттегі үлгілерге GSSG реagentін қосқаннан кейін басталды.

2.3.10 Қан плазмасында липидтердің асқын тотығуын анықтау

Қан плазмасында липидтердің асқын тотығуын (ЛАТ) анықтау малондиальдегид (МДА) колориметриялық коммерциялық талдау жинағы (*KB03002, набор Bioquochem, BQC Redox Technologies, Астурия, Испания*) арқылы бағаланды, ЛАТ талдау жинағы липидтердің асқын тотығу индексі ретінде МДА пен гидроксиалкеналды (ГНЕ) мөлшері өлшенеді. Липидтердің пероксидтері тұрақсыз және карбонилді қосылыстар түзіп ыдырайды. Полиқанықпаған май қышқылдары тотығу жағдайында МДА пен гидроксиалкеналды (4-ГНЕ) түзеді. Бұл әдіс 40°C температурада 586 нм толқын ұзындығында максималды оптикалық тығыздығы бар тұрақты хромофор (X) түзетін хромогенді reagentтің (N-метил-2-фенилиндол) МДА және ГНЕ әрекеттесуіне негізделген. Альдегидтер мен индолдар арасындағы реакциялар төменде көрсетілген:



Плазмадағы ЛАТ деңгейін спектрофотометриялық анықтау

микропластиналық құралында орындалды. Плазма үлгісіндегі 100 мкл аликвотқа 325 мкл А реагенті (N-метил-2-фенилиндол), 75 мкл В реагенті (метансульфон қышқылы (MsOH)) қосылып, қайнаған су мөншасында 40°C температурада 40 мин бойы инкубацияланды, содан кейін бөлме температурасында суытылды. Алдын ала А реагентін дайындау үшін N-метил-2-фенилиндолға липидтің асқын тотығы еріткіші (ацетонитрил, метанол) қосылды. МДА бір молекуласы А реагентіндегі N-метил-2-фенилиндолдың 2 молекуласымен әрекеттесіп, 586 нм максималды жұту қабілеті бар тұрақты хромофор түзеді. Екі биомаркерді МДА және 4-ГНЕ бір мезгілде анықтау үшін қышқыл еріткіш ретінде В реагенті (метасульфон қышқылы) қосылды. Таза супернатант алу үшін үлгілерді 15000 g 10 минут бойы центрифугаланды. Стандарт ретінде 1,1,3,3-триметоксипропан пайдаланылды [181]. Стандартты қисық сызықты регрессия нәтижесінде алынған теңдеуді пайдалана отырып, әрбір үлгі үшін түзетілген сіңіру мәндерін ауыстыру арқылы үлгілердегі альдегид мәндері (МДА+ГНЕ) есептелді.

$$(МДА + 4 ГНЕ) = A_{586} - b/a * df \quad (6)$$

мұндағы,

A_{586} = 586 нм толқын ұзындығында үлгінің таза жұтылуы;

b = қиылысу коэффициенті;

a = регрессия коэффициенті (иілу);

df = үлгінің сұйылту коэффициенті.

Плазмадағы МДА мөлшері стандартты қисық арқылы есептелді. Нәтижелер нмоль/мл түрінде берілді.

2.3.11 Қан плазмасында ақуыздың тотығу өнімдерінің жоғарылауын анықтау

Плазмадағы ақуыздың тотығу өнімдерінің жоғарылауын (АОРР) деңгейін спектрофотометриялық анықтау микропластиналық құралында *V. Witko-Sarsat et al* әдісі арқылы орындалды [182, 183]. Талдау принципі плазма ақуыздары мен хлорланған оксиданттар (мысалы, хлорамин-Т) арасындағы колориметриялық реакцияда жатыр. Әдіс ақуыздың тотығуының белгілі бір маркері тирозин деңгейін өлшеуге негізделген. Калий йодиді (KI) және сірке қышқылының қатысуымен тирозин 340 нм жарықты жұтатын компонент түзеді. Бұл абсорбция хлорамин-Т белгілі концентрацияларына қатысты өлшенеді, ол бірдей жағдайларда 340 нм жұтылады. Барлық талдаулар үш қайтарымда жүргізілді.

Плазма үлгісіндегі аликвотты 1:5 қатынасында рН=7,4 фосфат-буферлі тұзды ерітіндіде сұйытылды. Стандартты қисық калий йодидінің (0-100 нмоль/мл) және 20 мкл сірке қышқылының қатысуымен хлорамин-Т ерітіндісімен 340 нм толқын ұзындығында оптикалық тығыздықты өлшенеді. Калибрлеу қисығын анықтау алдында (12.5, 25, 50, 75, және 100 ммоль/л) бастапқы хлорамин-Т (10 ммоль/л) ерітіндісін фосфат-буферлі тұзды рН 7,4 ерітіндіде 100 есеге (100 ммоль/л) сұйытылды. Калий йодиді (KI, 1,16 моль/л) фосфат-буферлі тұзды рН=7,4 ерітіндіде дайындалды. Сірке қышқылы (96%)

бастапқы қалпында қолданылды. АОРР концентрациясы бастапқы толқын ұзындығы ретінде 340 нм пайдалана отырып, спектрофотометриялық пластинка құралында жұту спектрін анықтау бойынша берілген стандартты хлорамин қисығымен салыстыру арқылы анықталады. Ультрафиолетті сәулеленуге арналған 96 ұяшық микропластинкаға 200 мкл 1:5 қатынасында рН=7,4 фосфат-буферлі тұзды ерітіндіде сұйытылған плазма аликвоты және хлорамин-Т стандартты үлгілерін (0-100 мкмоль/л) құйылды, содан кейін әрбір стандарт үлгілеріне 10 мкл 1,16 М KI қосылды, ал екі минуттан кейін, барлық үлгілерге 30 мкл сірке қышқылын қосып, бірден планшетті спектрофотометр *BioTek Power-Wavex Microplate Scanning* құралында 340 нм толқын ұзындығында өлшенді. АОРР концентрациясы хлорамин-Т нмоль/мл эквиваленттерінде көрсетілген.

2.3.12 Иммуноферменттік талдау арқылы цитокиндердің мөлшерін анықтау

Плазма фракциясындағы цитокиндердің ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-18, ісік некрозының факторы- α (TNF- α) экспрессиялық профилін талдау үшін (*Milliplex HCYTA-60K-03 Human Cyto Panel A* өндірушінің нұсқаулықтарына сәйкес, иммуноферменттік талдау әдісін (ИФА) қолдану арқылы жүзеге асырылды. Әрбір ұяшықтарға 25 мкл стандарттық үлгілер мен 1:4 қатынасында сынаманың арнайы сұйылтқышымен сұйылтылған 25 мкл ерітілген плазмалық аликвоттар құйылды. Үстіне әрбір цитокинге қарсы арнайы антиденелермен таңбаланған 25 мкл түйіршіктер (моншақтар) қосылып, ұяшықтың беттері пленкамен жабылды. 20-25°C температурада 2 сағатқа инкубацияланды. Инкубациядан кейін планшеттен пленкалар алынып, 200 мкл жуғыш буфермен (үш реттік) жуылды, кепкенше фильтрленді. Үлгідегі талданатын заттар жұмыс электродының бетінде иммобилизацияланған антиденелермен байланысады. Үлгідегі талданатын зат микросфералардың бетіндегі антиденемен байланысқаннан кейін кешенге биотинизацияланған анықтау антиденесі енгізіліп, планшет қайтадан пленкамен жабылып, 1 сағатқа шейкер аппаратына қойылды. Содан кейін әрбір микросфераның бетіндегі реакцияны аяқтау үшін, реакция қоспасына 25 мкл стрептавидин-фикоэритрин (конъюгатын) ерітіндісін құйып, пленкамен жауып, 30 минут бойы бөлме температурасында инкубацияланды және қайтадан үш рет жуылды. Түйіршіктер 150 мкл *Sheath Fluid PLUS or Drive Fluid* ерітіндісімен қайта суспензияланды. Сәйкес стандартты қисыққа негізделген әрбір цитокинді талдау үшін, цитокиннің концентрациясы *Luminex 200* аппаратында *Luminex xPONENT* бағдарламасының көмегімен анықталды (*Thermo Fisher Scientific*, Мадрид, Испания). Цитокин деңгейлері *xPonent 3.1* (*Luminex Corporation*, Остин, Техас, США) көмегімен анықталып, пг/мл көрсетілген.

2.3.13 Айналымдағы толық РНҚ бөліп алу әдісі

Толық РНҚ бөлу әдісі 200 мкл қан плазмасында *miRNeasy Serum/Plasma Advanced Kit* (Qiagen, Werfen España, ref. 217204) жиынтығының көмегімен, келесі хаттамаларға сәйкес орындалды. Қан плазмасына жасуша лизисі үшін қажетті құрамында гуанидин тиоцианаты, сондай-ақ RNase мен ақуыз кешендері және денатурациясын жеңілдететін жуғыш заты бар RPL буферден 90 мкл

құйып, 5 с вортехте айналдырылды, 3 мин бөлме температурасына инкубацияланды. 3 мин кейін түтікшенің үстіне ақуыздарды тұндыру үшін 30 мкл RPP буфері құйылып, 20 с вортексте айналдырып, 3 мин бөлме температурасында инкубацияланды. Белоктардың тұнбаға түсуі үшін 12000 g 3 мин 21°C бөлме температурасында центрифугаланды. Тұнбаның үстінде 310 мкл құрамында РНҚ болатын мөлдір түссіз супернатант жаңа микроцентрифуга түтігіне ауыстырылды. Силикагельді мембраналық бағандағы шамамен 18 нуклеотидтен басталатын барлық РНҚ молекулалары үшін тиісті байланысу жағдайларын қамтамасыз ету үшін 1:1 қатынасында 310 мкл мөлшерде изопропанол құйып, вортексте айналдырылды. Үлгіні байланыстыру үшін этанол немесе изопропанолмен бірге буферлік ерітінді қосылды. 620 мкл байланыстырушы ерітінді спин түтікшелеріне (RNeasy UCP MinElute Spin columns) ауыстырылып, ал спин түтікшелері 15 с 8000 g центрифугаға орналастырылды. Шаю үшін ағын бөлігі алынып тасталып, түтікшелерге супернатантты жуу үшін *RNeasy UCP MinElute Column* түтікшесіне 700 мкл RWT жуу буферін құйып, 8000g 15 с центрифугаланды. 15 с кейін түтікшенің астындағы сұйықтықтар төгілді. Жуу буферін мембрана арқылы итермелеп өткізу үшін түтікшені қайтадан центрифугаға салынады. Бұл мембранадағы қалған кез-келген қоспаларды жояды, тек силикагельмен байланысқан нуклеин қышқылын қалдырады. Әрі қарай 500 мкл RPE буферін қосып 8000 g 15 с центрифугаланады. Одан кейін 500 мкл 80% этанолда жуылып, 8000 g 2 мин центрифугаланды. Центрифугадан шыққан спин түтікшелерді сүзгіші таза RNeasy жиынтығының түтікшесіне салынып, қақпағын ашық күйінде, ең жоғары айналымдағы центрифугаға 5 минутқа қойылды. Жалпы РНҚ элюция жасау үшін супернатант түтікшесіне 20 мкл RNase-дан тазартылған су (RNase Free Water) құйылды. Элюция үшін жуу буфері жойылады және бағанға элюционды буфер (немесе жай су) қосылды. Түтікшені қайтадан центрифугаға салып, элюционды буферді мембрана арқылы өткізілді. Элюция буфері нуклеин қышқылын мембранадан шығарады, ал нуклеин қышқылы түтікшенің түбінен жиналып, РНҚ-80°C температурада сақталды. Экстракцияланған микроРНҚ концентрациясын анықтау үшін *Qubit 3.0 (Thermo Fisher Scientific)* және талдаудың сапасын анықтау үшін *Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific)* құралдары қолданылды.

2.3.14 қДНК алу және кері транскрипциялық ПТР әдісі

Толық РНҚ бөлу әдісі және оның сапасын тексеруден кейін сандық талдауға арналған *TaqMan Advanced miRNA Assays* хаттамасына сәйкес енгізілген әрбір микроРНҚ үшін арнайы праймердің көмегімен алынды.

Бөлініп алынған жетілген (толық) 2 мкл микроРНҚ-ға 3 мкл Poly(A) реакция қоспасын қосу арқылы планшеттер iQ5 термоциклерде 37°C температурада 45 мин, содан кейін 65°C 10 мин инкубацияланып, 3' соңын (құйрығын) ұзартып модификацияланды, 4°C салқын температурада инкубацияланды. Содан кейін термоциклерде 16°C температурада 60 мин 5' соңын 15 мкл соңғы көлемде адаптер байланыстыру реакция қоспасымен ұзартылды.

МикроРНК-ның кДНК-ға кері транскрипциясы *TaqMan miRNA* кері транскрипция жинағы арқылы (*Life Technologies, Thermo Fisher Scientific, Мадрид, Испания*) және өндірушінің ұсыныстарына сәйкес miR-21, miR-126 үшін спецификалық *TaqMan miRNA* талдауларының көмегімен орындалды. Планшеттер iQ5 термоциклдерде 42°C температурада 15 мин және ең соңында 85°C температурада 5 минут инкубацияланып, содан кейін 4°C температурада ұсталды (*Bio-Rad Laboratories, Inc., Геркулес, Калифорния, США*). Алынған кДНК бір апта бойы -20 °C температурада сақтауға болады. Содан кейін нысаналы микроРНК жиынтығына қажетті 50 мкл мөлшерін алу үшін 45 мкл *miR-Amp Primer Mix* және *TaqMan miR-Amp Master Mix* (*Life Technologies, Карлсбад, Калифорния, США*), праймерлерден тұратын кДНК көбейту қоспасы дайындалып, кері транскрипция қоспасынан 5 мкл қосылды. Яғни модификацияланған miRNA-лар 30 мкл соңғы мөлшерінде кері транскрипцияға ұшырады және біртекті кДНК алу үшін *miR-Amp* реакция өнімдерінің көмегімен 5 мкл кері транскрипция өнімдерінің реакциялары амплификацияланды.

Содан кейін қоспа келесі шарттар бойынша: 95°C температурада 5 минут бойы фермент белсенділігі, 95°C 3 с бойы денатурация; 60°C температурада 30 с күйдіру (отжиг), 14 амплификация циклі және соңында 99,9°C температурада 10 мин реакцияның жүруі iQ5 термиялық циклдерде инкубацияланды. Алдын ала амплификацияланған өнімдер *RNase* жоқ сумен 1:10 сұйылтылып, нақты уақыттағы кері транскрипция полеваразды тізбекті реакция (КТ-ПТР) үшін пайдаланылды.

2.3.15 микроРНК-ның экспрессия деңгейлерін анықтау үшін нақты уақыттағы сандық ПТР (RT-qPCR) әдісі

Нақты уақыттағы сандық ПТР нақты зерттеу үшін *Agilent Technologies Stratagene Mx3005P* (*Agilent Technologies, Испания*) жүйесі арқылы *miRNA TaqMan Advanced Assays* (miR-21-5p: assay 477975_mir; miR-126-5p: assay 477888_mir; miR-143-3p: assay 477912_mir) (*Thermo Fisher Scientific*) жинағымен *TaqMan Fast Advanced Master Mix* қоспасын қолдану арқылы 20 мкл мөлшерде соңғы көлемде орындалды. Нақты уақыттағы сандық ПТР-дың барлық реакциялары үш көшірмеде қайталанды. Шектік цикл мәндері белгіленген шекті көрсеткіштерді қолдану арқылы анықталды және термоциклдердегі ≥ 32 (Ct) төмен мәндер талдау нәтижесіне енгізілген жоқ. Деректерге SDS 2.3 және RQ Manager 1.2 (*Life Technologies*) бағдарламалық пакеттерінің көмегімен талдау жасалды, ал салыстырмалы ген экспрессиясы 2- $\Delta\Delta Ct$ (ΔCt -target miR- ΔCt -бақылау гені) әдісі арқылы есептелді. miR-143 плазмалық микроРНК-ны ішкі бақылау ретінде, cel-miR-39-3p - сыртқы бақылау ретінде пайдаланылды. Әрбір науқастың микроРНК экспрессиясы пластинадағы бақылау тобының Ct мәніне қатысты есептелді. Реакциялар 95°C температурада 10 мин бойы инкубацияланды, содан кейін 20 с бойы 95°C температурада және 1 минут бойы 60°C температурада 40 циклда жүзеге асты. Алынған нәтижелер *Step One Plus 2.2.2* және *ExpressionSuite 1.0.3* программалары көмегімен өңделді. МикроРНК салыстырмалы сандық анализі Ct циклінің индикаторлары негізінде

салыстырмалы *St* бойынша жүзеге асырылады.

2.3.16 Нәтижелерді статистикалық өңдеу

Алынған деректерге статистикалық талдау *IBM SPSS Statistics for MacOS*, 25.0 нұсқасында (WPSS Ltd., Суррей, Великобритания) жүргізілді, *GraphPad Prism* бағдарламасының 6 нұсқасының көмегімен графиктер тұрғызылды (*GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA*). Барлық зерттеу жұмыстары 3-5 рет қайталаумен жүргізілді және орташа мәнінің стандарттық қателігі (\pm SEM) есептелді.

Шапиро-Уилк сынағы арқылы үздіксіз көрсеткіштер қалыпты таралу бойынша, дисперсияның біртектілігі Левиннің статистикасы арқылы тексерілді. Топтар арасындағы үздіксіз айнымалылардағы орташа айырмашылықтарды салыстыруда қалыпты таралу параметрлері үшін (ANOVA) дисперсия талдауы, тең дисперсиялары бар айнымалылар үшін Бонферрони және тең емес дисперсиялары бар айнымалылар үшін T2 де Тамхане секілді салыстырмалы *post-hoc* сынақтары қолданылды. Жас пен жыныс көрсеткіштерін түзеткеннен кейін үш топтағы қалыпты таралмаған айнымалы мәндер үшін Крускала-Уоллисаньың біржақты (ANOVA) дисперсиялық талдауы қолданылды. Сандық айнымалылар арасындағы корреляцияны анықтау үшін Пирсон тесті жүргізілді. Айналымдағы микроРНК және басқа маркерлердің диагностикалық мәнін бағалау үшін қабылдағыштың жұмыс сипаттамасының қисығы (ROC) тұрғызылды. Арнайылық пен сезімталдықты анықтау үшін қисық астындағы аудан (AUC) және 95% сенімділік интервалдары (СИ) есептелді.

Биномальді логистикалық регрессиялық талдау қант диабеті мен асқынулардың болуы және плазмадағы айналымдағы микроРНК, тотығу және қабыну биомаркерлерінің деңгейлері арасындағы байланысты зерттеу үшін пайдаланылды.

Нәтижелер мүмкіндік қатынасы (ExpV) және 95% СИ ретінде көрсетіледі. Айырмашылықтар статистикалық тұрғыдан $p < 0,05$ шамасында маңызды деп есептелді.

3 ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ

3.1 Қант диабетінің 2-типімен ауыратын науқастардың қанындағы биохимиялық көрсеткіштерді (HbA1c, глюкоза, инсулин, HOMA-IR индексі, жалпы холестерин, триглицерид) салыстырмалы талдау

Алға қойған міндеттерді шешу үшін зерттеуге 47 (57,3%) ер, 35 (44,7%) әйел, жалпы саны 82 қатысушы қатысты. Зерттелушілер үш топқа бөлінді: бақылау тобы (n=30, 14 әйел және 16 ер), ҚД2Т ауыратын, асқынуларсыз науқастар (n=26, 7 әйел және 19 ер) және ҚД2Т ауыратын, асқынулары бар (n=26, 14 әйел және 12 ер) науқастар. Барлық науқастардан сауалнама мен медициналық куәландыру кезінде субъектінің өзіне сұрақ қою арқылы алынған мәліметтер жиынтығы, сондай-ақ физикалық тексеру және антропометриялық өлшемдерді қоса алғанда стандартты жалпы клиникалық тексеруден өтті. Анамнезді зерделеу кезінде аурудың ұзақтығы, тұқым қуалайтын ауыртпалық, ем қабылдау шараларының сипаты туралы мәліметтерге назар аударылды. Зерттелген популяцияның клиникалық және антропометриялық мәліметтер 3-кестеде берілген.

Кесте 3 - Бақылау тобы, жүрек-қан тамырлық асқынуларсыз және асқынулары бар 2-типті қант диабеті (ҚД2Т) науқастар арасындағы клиникалық және антропометриялық көрсеткіштер

Көрсеткіштер	Бақылау тобы (n = 30)	ҚД2Т АЖ (n = 26)	ҚД2Т+А (n = 26)	p-value
Жасы (жыл)	49,64 ± 1,78	53,54 ± 2,00	55,31 ± 1,91	
Жынысы (ер/әйел)	14/16	7/19	14/12	
Салмағы (кг)	77,61 ± 3,57	87,50 ± 3,77	78,12 ± 3,19	
ДМИ (кг/м ²)	27,90 ± 0,77	30,57 ± 1,25	29,49 ± 1,28	
Бел шеңбері (см)	94,5 ± 3,03	104,96 ± 2,78	103,34 ± 2,21	
Систолалық қысым (мм сын.бағ.)	121,44 ± 2,9	132,69 ± 3,9	139,65 ± 5,1**	** p <0,01
Диастолалық қысым (мм сын.бағ.)	78,1 ± 1,4	85,3 ± 2,1	84,8 ± 2,7	
Аурудың созылу ұзақтығы (жыл)	-	7,85 ± 0,76	11,69 ± 1,5	
Темекі шегу, n (%)	3 (10)	4 (15,4)	5 (19,2)	
Ішімдік, n (%)	8 (26,6)	6 (23)	4 (15,4)	

Ескерту: ** p<0,01 - ретроспективті талдауда асқынулары бар ҚД2Т бақылау тобымен салыстырғанда

Науқастардың орта жасы шамамен 50-ден 55-ке дейінгі аралықта болды. Бақылау тобымен салыстырғанда жүрек–қан тамырлар асқынулары бар емделушілерде систолалық қысымның айтарлықтай жоғарылауы байқалды. Себебі асқынулары бар ҚД2Т ауыратын науқастар тобының 73% гипертензия (жоғары артериялық қысым) тіркелген. Барлық қатысушылар арасында темекі шекпейтіндер темекіні тұтынатындардан басым болды, алайда топтар арасында айырмашылық байқалмады, ал ішімдікті күнделікті тұтынатындар болмады. Тәжірибелік топтағы науқастардың 92% 2-типті қант диабетімен ауыратын әулеттік тарихы бар. Күніне орташа есеппен 30 минут физикалық жаттығумен шұғылданатындар диабеттік топтарға қарағанда бақылау тобында шамамен 2,6 есе жоғары болды. 4 кестеде барлық қатысушылардың дене массасының индексі (ДМИ) 25-тен жоғары, артық салмағы немесе семіздігі бар, үш топ арасында ДМИ қатысты, жынысына, жасында статистикалық маңызды айырмашылықтар болған жоқ. Себебі бақылау тобындағы зерттелушілерде қалыпты дене салмағы 23,3%, I дәрежелі семіздік 26,7%, II дәрежелі семіздік 10%, I дәрежелі артық салмақ 23,3%, II дәрежелі артық салмақ 16,7% көрсетті. Ал асқынуларсыз ҚД2Т тобында қалыпты дене салмағы 11,5%, I дәрежелі семіздік 15,4%, II дәрежелі семіздік 15,4%, III дәрежелі семіздік 11,5%, I дәрежелі артық салмақ 19,2%, II дәрежелі артық салмақ 27,9% көрсетті. Сондай-ақ, асқынулары бар ҚД2Т тобында қалыпты дене салмағы 19,2%, I дәрежелі семіздік 30,8%, III дәрежелі семіздік 11,5%, I дәрежелі артық салмақ 23%, II дәрежелі артық салмақ 15,4% құрады. Бұл мексикалық популяциядағы артық салмақ пен семіздіктің кең таралған мәселесін көрсетеді. Бұл топтағы науқастарға 2-типті қант диабеті ауруының диагнозы 11 жыл бұрын қойылғандығы ескерілді.

Кесте 4- Зерттеуге алынған қатысушылардың ДМИ классификациясы

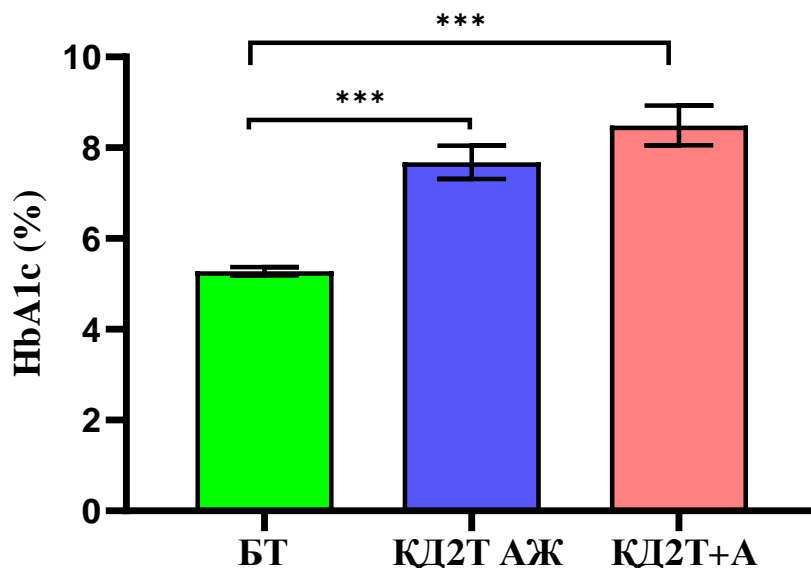
Көрсеткіштер	Бақылау тобы (n = 30)	ҚД2Т АЖ (n = 26)	ҚД2Т+А (n = 26)
Қалыпты дене салмағы (18,5<ДМИ<24,9 кг/м ²), n (%)	7 (23,3)	3 (11,5)	5 (19,2)
I дәрежелі артық салмақ (25<ДМИ<29,9 кг/м ²), n (%)	7 (23,3)	5 (19,2)	6 (23)
II дәрежелі артық салмақ (25<ДМИ<29,9 кг/м ²), n (%)	5 (16,7)	7 (27)	-
I дәрежелі семіздік (30<ДМИ<34,9 кг/м ²), n (%)	8 (26,7)	4 (15,4)	8 (30,8)
II дәрежелі семіздік (35<ДМИ<39,9 кг/м ²), n (%)	3 (10)	4 (15,4)	4 (15,4)
III дәрежелі семізді (ДМИ ≥40 кг/м ²), n (%)	-	3 (11,5)	3 (11,5)

Жұмыс барысында биохимиялық көрсеткіштердің нәтижелері ішінен алты көрсеткішке мән берілді. Бірінші көрсеткіш HbA1c. Гемоглобин құрамында темірі бар күрделі ақуыз болып табылады және өкпеден ұлпаларға оттегінің тасымалдануын қамтамасыз ететін қызыл қан жасушаларында кездеседі. Қалыпты гемоглобиннің екі түрі бар: гемоглобин A1–HbA ($\alpha_2\beta_2$) және гемоглобин A2 – HbA2 ($\alpha_2\delta_2$). Айналымдағы қанда құрамында гем болатын ақуыздың 97% A1 типінде және тек 3% A2 типінде болады. Гликозилденген гемоглобин A қан ағымындағы глюкозамен өздігінен байланыстыру үрдісінде түзіледі. Гликозилденген гемоглобин қант диабетін диагностикалауда маңызды көрсеткіш болып табылады, ол қандағы ұзақ уақыт аралығында глюкоза деңгейін көрсетеді. Қант деңгейінен айырмашылығы, гликозилденген гемоглобин дәрі-дәрмектерді қабылдау кезінде, алкогольді ішкенде немесе спортпен шұғылданғаннан кейін өзгермейді, яғни тест нәтижелері дәл қалады.

HbA глюкозамен қанығу дәрежесі және олардың бір бірімен байланысу жылдамдығы оның соңғы 120 күндегі қан ағымындағы орташа мөлшеріне тікелей байланысты (бұл қызыл қан жасушаларының өмір сүру ұзақтығы). Соңында, гликозилденген гемоглобиннің бірнеше қосалқы түрлері түзіледі, олардың негізгісі HbA1c. Дәл осы гликогемоглобин нұсқасы веноздық қанда басым болады және гипергликемия деңгейімен байланысты. Гемоглобин A1C түзілуі және жоғалуы - үздіксіз үрдіс, өйткені күн сайын жойылған жасушалардың орнына жаңа жас эритроциттер пайда болады. Бақылау тобындағы $5,28 \pm 0,09\%$ көрсеткіштермен салыстырғанда гликозилденген гемоглобиннің асқынуларының топта $7,68 \pm 0,37\%$ көтеріліп және асқынулары бар 2 типті қант диабеті тобында $8,49 \pm 0,44\%$ аралығында HbA1c көрсеткіштерінің айтарлықтай жоғары екендігі анықталды ($p < 0,001$) (сурет 5).

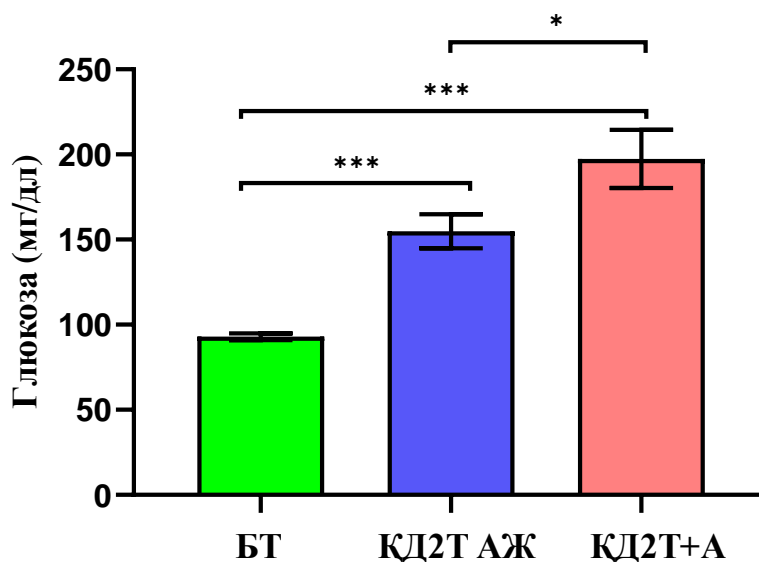
HbA1c құрамы 5,7 % төмен болса, қазіргі уақытта қант диабетінің даму ықтималдығы жоқ екенін көрсетеді. 5,7-ден 6,5 % - ға дейінгі диапазондағы гликозилденген гемоглобин мәндерінде қант диабетінің белгілері жоқ, бірақ диабет алды көріністері бар екендігі анықталды. Яғни, мұндай көрсеткіштерде инсульт пен миокард инфарктісінен жалпы өлім қаупі артатындығы зерттеу жұмыстарында анықталған. Гликозилденген гемоглобиннің 6,5%-дан астам концентрациясы инсулинге тәуелді немесе инсулинге тәуелсіз қант диабетін жоққа шығару немесе растау қажеттілігін көрсетеді.

Қандағы гликозилденген гемоглобин деңгейінің жоғарылауы әрдайым гипергликемияның ұзақ кезеңінің болуын және ретинопатия, нефропатия, полиневропатия, микро - және макроангиопатия түріндегі асқынулардың даму қаупінің жоғарылауын көрсетеді. Гипергликемиямен ауыратын науқас сау адамның гликозилденген гемоглобин деңгейіне – 5,7% жетуге ұмтылуы керек. Мұндай жағдайларда терапияның мақсаты HbA1c концентрациясын 6,5 % дейін төмендету болып саналады. Егер мұндай мақсатқа қол жеткізілсе, онда қант диабет ауруы өте жақсы өтеді, гипергликемияның барлық асқынулар түріндегі салдарының ықтималдығы минималды деңгейге дейін төмендейді деп айтуға болады. 6 суретте топтар арасында глюкоза концентрациясы көрсетілген.



Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: HbA1c (%). Деректер ± орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. Топтар арасындағы салыстыру графиктерде көрсетілген. Статистикалық сенімділік *** $p < 0,001$.

Сурет 5 - Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетімен ауыратын науқастардың қан плазмасындағы HbA1c салыстырмалы деңгейі



Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуласыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: глюкоза, мг/дл. Деректер ± орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. Топтар арасындағы салыстыру графиктерде көрсетілген. Статистикалық сенімділік * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$.

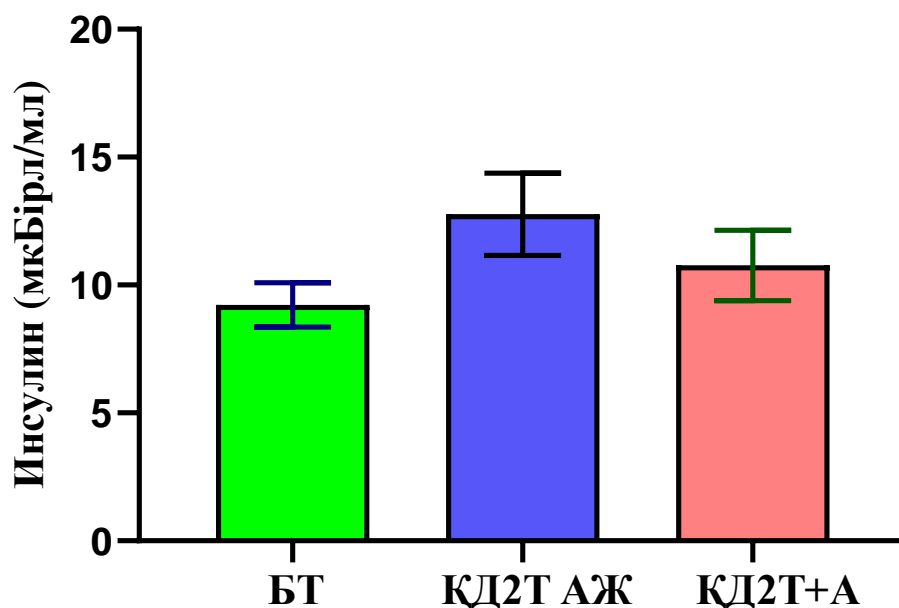
Сурет 6 - Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетімен ауыратын науқастардың қан ағымындағы глюкозаның салыстырмалы деңгейі

Ал глюкоза көрсеткішін өлшеу адамның ағзасындағы көмірсулар алмасуының қаншалықты жақсы жүретінін түсіну үшін жеткіліксіз, өйткені қан деңгейі сау адамдар мен диабетпен ауыратын адамдарда үнемі өзгеріп отырады. Глюкозаның ұлпаларға тасымалдануы инсулинге байланысты. Бұл ұлпалардың адам ағзасы үшін маңызы зор, яғни тыныс алу, қозғалыс, қан айналымы және қабылдаған тағамнан шығатын энергия резервін қалыптастыру функцияларына жауап береді. Зерттеу барысында бақылау тобында глюкоза мөлшері $92,95 \pm 2,02$ мг/дл, ал асқынулары жоқ топта $154,87 \pm 8,01$ мг/дл аралығын көрсетті, асқынулары бар тобында 2-типті қант диабеті тобымен салыстырғанда $197,47 \pm 9,10$ мг/дл (***) $p < 0,001$) жоғары екендігі анықталды, сонымен қатар екі диабеттік топтар арасында ($p < 0,05$) айтарлықтай айырмашылықты көрсетті (сурет 6).

Қант диабетіне шалдыққан аурулардың қан көрсеткіштерінде өзгерістерге ұшырайтын көрсеткіштердің бірі инсулин мөлшері. Инсулин метаболизм үрдістерінің барлығына дерлік қатысады, бірақ оның негізгі қызметі көмірсулар алмасуына әсер етуі. Бұл заттарға гормонның әсері көбінесе жасуша мембраналары арқылы артық глюкозаның жеткізілу жылдамдығының артуымен байланысты. Нәтижесінде инсулин рецепторлары көмегімен жасушалар глюкозаның көтерілуіне тікелей әсер ететін жасушаішілік механизм іске қосылады. Инсулиннің әсер ету механизмі осы заттарды жеткізетін мембрана ақуыздарының санын реттеуге негізделген.

Биохимиялық көрсеткіште инсулин деңгейінің барлық топтарда қалыпты жағдайдан өзгермегені байқалды. Бақылау тобында $9,22 \pm 0,87$ мкБірл/мл, асқынуларсыз 2-типті қант диабеті тобында $12,77 \pm 1,61$ мкБірл/мл, асқынулары бар 2-типті қант диабеті тобында $10,77 \pm 1,37$ мкБірл/мл ұқсас мәнді көрсетті (сурет 7). Себебі, алынған топтардағы адамдардың анамнезінде күнделікті кешке қандағы қант көрсеткіштерін төмендететін антигипергликемиялық дәрілерді қолдануына байланыстылығынан қалыпты жағдайдан ауытқымаған.

2-типті қант диабеті кезінде ағза инсулинді жеткілікті мөлшерде бөле алмайды. Инсулин - бұл ұйқы безі бөлетін, қандағы глюкозаның мөлшерін бақылайтын гормон. Ұйқы безінің жасушаларының зақымдануы инсулин өндірісінің төмендеуіне әкеледі, сондықтан жасушалар бұл гормонға жауап бермейді. Бұл қандағы глюкоза деңгейінің тез көтерілуін туындатады. Инсулиннің аса төмен болуы дененің сырттан келген тағамнан глюкозаны сіңіре алмайтынын көрсетеді. Бұл орын алған кезде қандағы глюкоза деңгейі жоғарылайды, уақыт өте келе бұл жоғарылаған деңгейлер қан тамырларын зақымдауы және ағзаның мүшелері мен жүйкелеріне оттегі мен қоректік заттарға бай қанның жеткізілуін азайтуы мүмкін. 2 типті қант диабетімен ауыратын, ағзасы инсулинге жақсы жауап бермейтін немесе инсулинге резистентті болмаған адамдар ағзаларына глюкозаны жақсырақ өңдеуіне көмектесу үшін ем қажет етеді. Бұл ұзақ мерзімді асқынулардың алдын алуға көмектеседі. Қант диабетінің асқыну қаупін азайту үшін тиімді инсулинге сезімталдықты арттыру және гликемиялық бақылау маңызды.



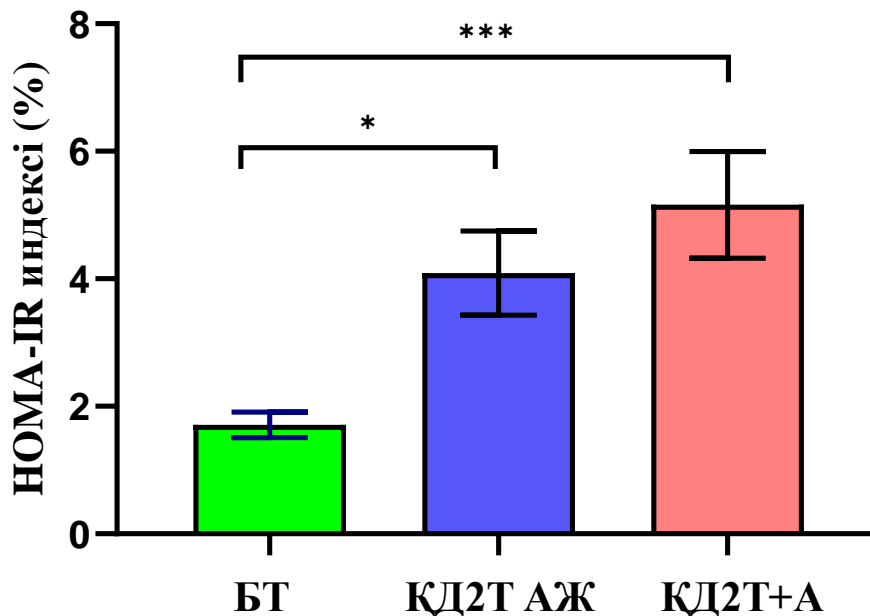
Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: инсулин, мкБірл/мл. Деректер \pm орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. Топтар арасындағы салыстыру графиктерде көрсетілген.

Сурет 7 - Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетімен ауыратын науқастардың қан плазмасындағы инсулиннің салыстырмалы деңгейі

Инсулинге резистенттілік үшін гомеостатикалық модельді бағалау кезінде қан құрамындағы инсулин резистенттілікте айтарлықтай өзгерістерді байқауға болады. Бақылау тобын $1,71 \pm 0,20$ %, асқынуларсыз $12,77 \pm 1,61$ % ($p < 0,05$) және асқынулары бар 2-типті қант диабеті тобымен салыстырғанда $10,77 \pm 1,37$ % НОМА-IR индексінің өзгергені анықталды ($p < 0,001$) (сурет 8).

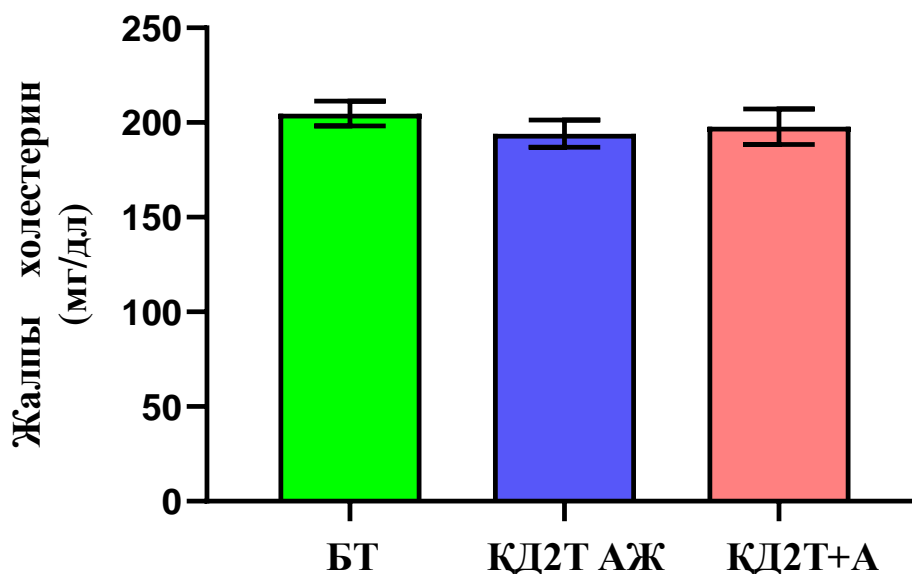
2-типті қант диабеті инсулинге резистенттілік нәтижесінде туындайды. Ағзаның ұлпаларында (май, бұлшықет, бауыр) инсулин әсер ететін инсулинді рецепторлар бар. Рецепторлар инсулинмен әрекеттескеннен соң, глюкозаның ұлпаларға енуі күрт артады. Инсулин рецепторлары патологиясында олардың инсулинмен әрекеттесуі бұзылады да ұлпалардың инсулинге резистенттілігі дамиды. Бұл жағдайда инсулин бөлінуі төмендегендіктен, оны салыстырмалы инсулин жетіспеушілік деп аталады. Көп жағдайда инсулин рецепторларының қызметі семіздік кезінде байқалады. Екінші жағынан артық тамақ жеу қандағы глюкоза мөлшерін жоғарылатады. Ұлпалардың инсулинге сезімталдығы болмағандықтан глюкоза жасуша ішіне кіре алмайды. Ол үшін инсулиннің көп мөлшері қажет, сондықтан ұйқы безі инсулиннің артық мөлшерін өндіре бастайды, нәтижесінде β -жасушалар гипертрофияланып, қант диабеті дамиды. Қант диабетінің 2-типті тұқымқуалау қаупі 40% тең. Кейде қант диабетінің 2-типті жеткіншектерде және жастарда пайда болып, ол 50-80 % тұқым қуалайды.

Гликозилденген гемоглобин және НОМА-IR көреткіштері әдетте қандағы глюкозаның ұзақ мерзімді концентрациясын және инсулинге резистенттілікті бағалау, сонымен қатар ҚД2Т микроваскулярлық және макроваскулярлық асқынуларды болжау үшін қолданылады.



Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуласыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: НОМА-IR индексі, (%). Деректер \pm орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. Топтар арасындағы салыстыру графиктерде көрсетілген. * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$.

Сурет 8 - Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетімен ауыратын науқастардың НОМА-IR индексі



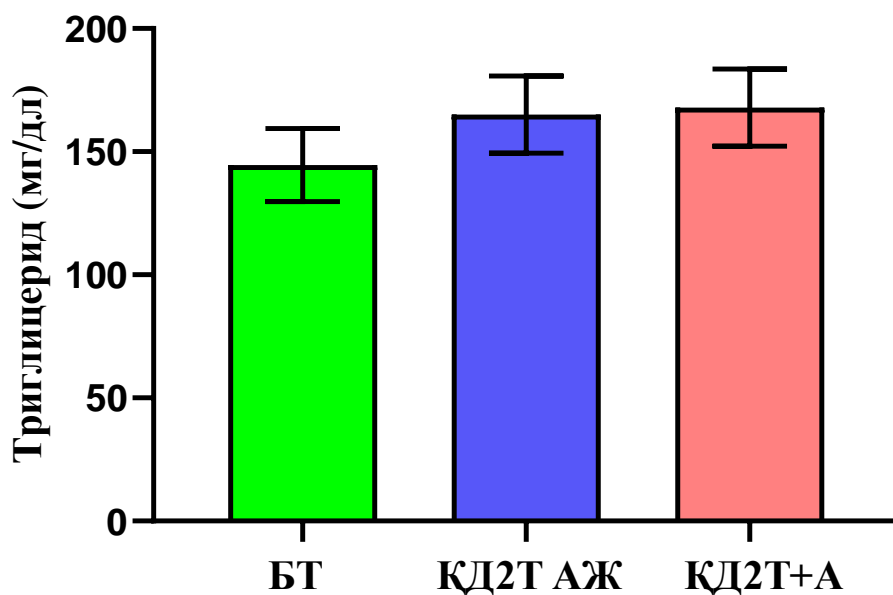
Абсцисс өсі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат өсі: жалпы холестерин; мг/дл. Деректер ± орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. Топтар арасындағы салыстыру графиктерде көрсетілген.

Сурет 9 - Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетімен ауыратын науқастардың қан сарысуындағы жалпы холестериннің салыстырмалы деңгейі

Ал триглицеридке келгенде болсақ бақылау тобында - $144,52 \pm 14,83$ мг/дл аралығын, асқынуларсыз 2-типті қант диабеті тобында - $165,08 \pm 15,62$ мг/дл, асқынулары бар 2-типті қант диабеті тобында - $167,88 \pm 15,7$ мг/дл мәнді көрсетіп, бақылау тобымен салыстырғанда айтарлықтай айырмашылық көрсетпеседе жоғары мәнге жақын мәнге ие (сурет 10). Триглицеридтің жоғары деңгейі жүрек ауруының даму қаупімен байланысты.

Холестерин адам ағзасындағы негізгі стероид болып табылады. Көбінесе бауырда түзіледі және ағзаның қалыпты жұмыс істеуіне маңызы зор. Бұл гормондардың синтезіне, ас қорыту үрдістеріне қатысатын өмірлік маңызды липид. Егер липопротеидтер құрамында оның тепе-теңдігі бұзылса атеросклероз жүрек-қан тамырлары ауруларының дамуын тудырады.

Жалпы холестерин бақылау тобында - $204,75 \pm 6,55$ мг/дл, асқынуларсыз 2-типті қант диабеті тобында - $194,12 \pm 7,24$ мг/дл, ал асқынулары бар 2-типті қант диабеті тобында - $197,83 \pm 9,30$ мг/дл мәнді көрсетті, үш топты салыстырғанда айтарлықтай өзгеріс болмағаны анықталды (сурет 9). Себебі, алынған топтардағы адамдардың анамнезінде холестеринді төмендететін биологиялық белсенді заттар мен дұрыс тамақтану диетасын қолдануына байланысты қалыпты жағдайдан ауытқымаған.



Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: триглицерид, мг/дл. Деректер \pm орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. Топтар арасындағы салыстыру графиктерде көрсетілген.

Сурет 10 - Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетімен ауыратын науқастардың қан сарысуындағы триглицеридтің салыстырмалы деңгейі

5 кестеде жалпылама асқынулары бар ҚД2Т ауыратын науқастарда әртүрлі қолданбалы емдеу әдістері және микро - (ретинопатия, нефропатия және нейропатия) және макро - (инсульт, жүрек жеткіліксіздігі және перифериялық артерия ауруы) тамырлық асқынулар бөліп көрсетілген.

Антигипергликемиялық препараттарға метформин және екінші қатардағы гипогликемиялық препараттар (DPP-4 тежегіштері, SGLT2 тежегіштері, GLP-1 рецепторларының агонистері, инсулин секреторлары және тиазолидиндиондар) жатады. Кейбір адамдар диабетке қарсы басқа препараттармен бірге инсулин терапиясын қажет етеді. Ауырсынатын диабеттік нейропатия DPP-4: дипептидил пептидаза-4, SGLT2: натрий-глюкозаны қоса тасымалдаушы 2, GLP-1: 1-типті глюкагон тәрізді пептид секілді құрысуға қарсы препараттармен емделеді.

Асқынулары бар ҚД2Т ауыратын науқастар тобындағы макро қан тамырлық асқынулармен бірге микро қан тамырлық асқынулардың 15,4% ретинопатия, 11,5 % нефропатия, 53,8 % нейропатия асқынулары кездесті. Клиникалық жазбада құжатталған қан тамырларына байланысты ақпараттарға зерттеу жүргізгенде 2-типті қант диабетінің асқынуынан туындаған ретинопатия, нефропатия асқынуларының барлығы да 100,0 % ағзадағы глюкозаны мөлшерін төмендететін дәрілерді қолданса, ал нейропатияға асқынулары туындаған аурулардың тек 92,8 %, жүрек-қан тамырлары асқынулары туындаған аурулардың тек 60,0 % ғана қолданған.

Кесте 5 – Асқынулары бар ҚД2Т ауыратын науқастар тобындағы қан тамырлық асқынулардың түрлері және дәрілік заттар

Дәрілік терапия	Ретинопатия (n = 4)	Нефропатия (n = 3)	Нейропатия (n = 14)	Жүрек-қан тамырлары аурулары (n = 26)
	15,4%	11,5%	53,8%	100%
Глюкозаны төмендететін дәрілер: Антигипергликемиялық препараттар	100,0%	100,0%	92,8%	60,0%
Инсулиндік терапия	50,0%	0,0%	57,1%	80,0%
Антигипертензивті препараттар	50,0%	66,6%	50,0%	40,0%
Холестеринді төмендетуге арналған терапия	25,0%	0,0%	21,4%	0,0%
Құрысуға (тырысуға) қарсы препараттар	0,0%	0,0%	28,6%	20,0%

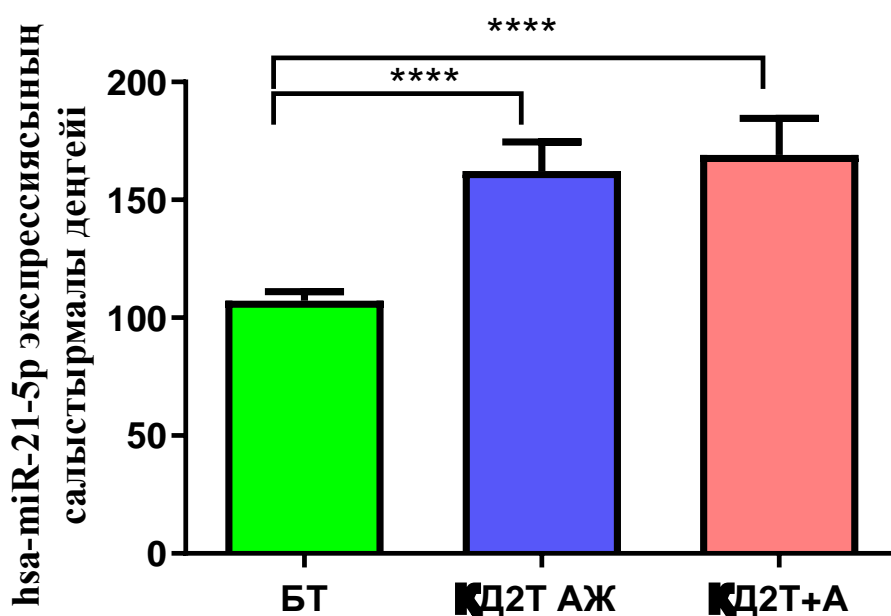
Себебі, олардың күнделікті қандағы глюкоза мөлшерін анықтамағандықтан болып отыр. Аталған аурулардың ішінде тек нефропатияға шалдыққандары ғана инсулиндік терапияны қолданбаған, қалған 50,0 % және 80,0 % аралығындағылар қан құрамында инсулинрезистенттілік пен инсулиннің мөлшері жоғары болғандықтан қолданған. Холестеринді төмендетуге арналған терапияны ретинопатияға шалдыққандардың 25,0 % қолданса, нейропатиямен ауыратындардың 21,4 % ғана қолданған. Ал нефропатия, жүрек-қан тамырлары ауруларына шалдыққан аурулар мүлде қолданбаған. Мұның өзі олардың дәрігердің берген емдік шараларына көңіл бөлмегендіктен деп айтуға болады. Құрысуға қарсы препараттарды тек нейропатиямен ауырғандардың 28,6 %, ал жүрек-қан тамырлары ауруларына шалдыққандардың 20,0 % қолданғанына байланысты, осы ауруларда құрысу жиі болғанын көрсетеді. Антигипертензивті препараттарды барлық асқынған аурулардың 40,0 % пен 66,6 % қолданған, яғни барлық аурулардың қан қысымдарының жоғары көрсеткішті көрсеткені анықталды.

Қорыта келгенде, алынған нәтижелер бойынша 2-типті қант диабетіне шалдыққан аурулардың (асқынуы бар және асқынуы жоқ топтарында) қан көрсеткіштерін салыстырмалы талдау барысында гликозилденген гемоглобин, глюкоза және инсулинге резистентті гомеостатикалық модельдер өзгерістерге ұшырағаны анықталды.

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

Зерттеу жұмыстарын қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар және асқынуларсыз науқастар тобының қан плазмасындағы айналымдағы микроРНК экспрессиясын талдау үшін екі микроРНК таңдалынып алынды: hsa-miR-21-5p, hsa-miR-126-5p. Басқа ғылыми зерттеу жұмыстарының нәтижелерінде панельдік талдау бойынша таңдалынып алынған екі микроРНК (hsa-miR-21-5p, hsa-miR-126-5p) биоинформатикалық деректер (targetsan, mirbase, miRanda) қабыну үрдісіне қатысатын гендер ретінде осы микроРНК-ның нысанасы болып табылатындығы анықталған [104].

Зерттеуді талдау барысында нақты уақыттағы ПТР нәтижелері қан плазмасындағы айналымдағы hsa-miR-21-5p-экспрессиясының деңгейі бақылау тобында $103,95 \pm 2,93$ % болса, олармен салыстырмалы жағдайда 2-типті қант диабетімен ауыратын, бірақ, асқынуларсыз екінші топқа жататын ауруларда $161,25 \pm 11,90$ %, ал үшінші 2-типті қант диабетімен ауыратын, әрі асқыну белгілері бар топтың қан плазмасындағы hsa-miR-21-5p экспрессия деңгейі $169,06 \pm 15,50$ % аралығын көрсетті, яғни бақылау тобына қарағанда 2-типті қант

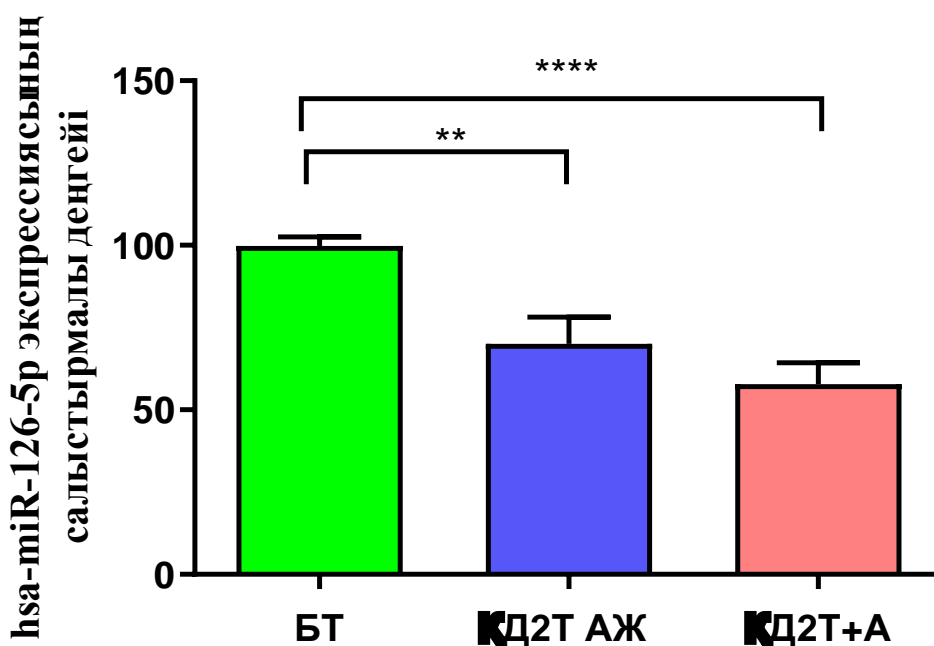


Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: hsa-miR-21-5p экспрессиясы. Деректер \pm орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. Топтар арасындағы салыстыру графиктерде көрсетілген. **** $p < 0,0001$.

Сурет 11 – Қан плазмасындағы айналымдағы hsa-miR-21-5p - экспрессиясының салыстырмалы деңгейі

диабетімен ауыратын асқынуларсыз және асқынулары бар топта айтарлықтай жоғарылағаны байқалды ($p < 0,0001$) (сурет 11). Бұл ауытқулар қанның биохимиялық көрсеткіштеріндегі глюкоза мен гликозирленген гемоглобиннің мөлшерлеріндегі ауытқуларға сәйкес келеді.

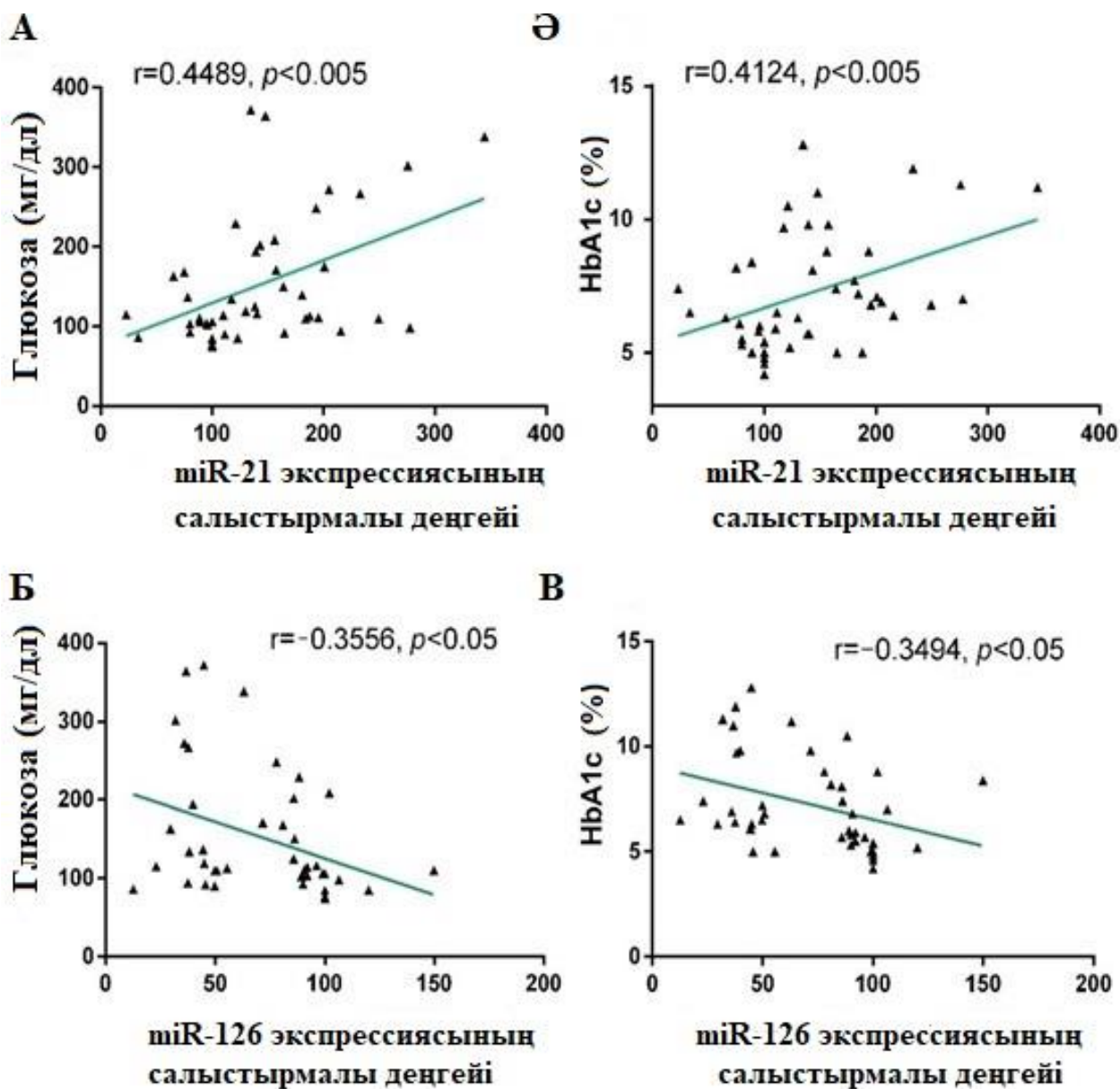
Керісінше, қан плазмасындағы hsa-miR-126-5p салыстырмалы экспрессиясы бақылау тобының көрсеткіштерімен $101,91 \pm 3,26$ % салыстырғанда, қант диабетінің 2-типімен ауыратын асқынуларсыз науқастардың қан плазмасындағы hsa-miR-126-5p салыстырмалы экспрессия деңгейінің $70,11 \pm 8,02$ % төмендегені анықталды ($p < 0,01$). Сонымен қатар асқынулары бар науқастардың да қан плазмасындағы hsa-miR-126-5p салыстырмалы экспрессиясының деңгейі $57,84 \pm 6,52$ % ($p < 0,0001$) төмендеді (сурет 12).



Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: hsa-miR-126-5p экспрессиясы. Деректер \pm орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. Топтар арасындағы салыстыру графиктерде көрсетілген. ** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$.

Сурет 12 – Қан плазмасындағы айналымдағы hsa-miR-126-5p - экспрессиясының салыстырмалы деңгейі

Көптеген зерттеулер негізінде бір тізбекті РНҚ-дың кейбір шағын молекулалары қант диабеті мен ЖҚА сияқты бірқатар аурулармен байланысты екенін көрсетті. Соңғы зерттеулер қант диабетімен байланысты бірнеше микроРНҚ-ның 2-типті қант диабетіндегі маңызды метаболикалық жолдарды реттеудегі рөлін анықтаған. Глюкозаның жоғары концентрациясының әсері



Абсцисс осі: hsa-miR-21-5p экспрессиясы, hsa-miR-126-5p экспрессиясы. Ординат осі: HbA1c – гликозилденген гемоглобин %, глюкоза (мг/дл). Деректер \pm орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. * $p<0,05$; *** $p<0,005$; Пирсонның корреляция коэффициенті талдауы (r) арқылы есептелді. А. Салыстырмалы hsa-miR-21-5p деңгейі мен глюкоза деңгейлері арасындағы корреляциялық талдау; Ә. Салыстырмалы hsa-miR-126-5p деңгейі мен HbA1c – гликозилденген гемоглобин деңгейлері арасындағы корреляциялық талдау; Б. Салыстырмалы hsa-miR-126-5p өрнегі мен глюкоза деңгейлері арасындағы корреляциялық талдау; В. Салыстырмалы hsa-miR-126-5p деңгейі мен HbA1c – гликозилденген гемоглобин деңгейлері арасындағы корреляциялық талдау;

Сурет 13 – Айналымдағы hsa-miR-21-5p және hsa-miR-126-5p салыстырмалы экспрессиясы мен биохимиялық көрсеткіштер арасындағы корреляция

айналымдағы hsa-miR-126-5p салыстырмалы экспрессиясының деңгейін төмендететіні басқада зерттеу жұмыстарының нәтижелерімен сәйкес келеді [184].

Қорыта келгенде, қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар және асқынуларсыз науқастар тобының қан плазмасындағы айналымды микроРНК экспрессиясын талдау үшін алынған екі микроРНК (hsa-miR-21-5p, hsa-miR-126-5p) мөлшері салыстырмалы талдау барысында сенімді айырмашылықты көрсетті.

Зерттеуге алынған 2 типті қант диабетімен ауыратын науқастардың биохимиялық көрсеткіштерімен салыстырмалы айналымдағы hsa-miR-21-5p және hsa-miR-126-5p арасындағы тәуелділік Пирсон корреляция коэффициенті талдауы (r) көмегімен есептелді.

Пирсонның аналитикалық өлшемдерге арналған корреляциялық талдауы бойынша hsa-miR-21-5p салыстырмалы экспрессиясы мен глюкоза деңгейлері ($r=0,4489$; $p<0,005$), сондай-ақ hsa-miR-21-5p салыстырмалы экспрессиясы және HbA1c деңгейлері арасындағы ($r=0,4124$; $p<0,005$) әлсіз оң корреляция анықталды (сурет 13. А, Ә). Керісінше, екінші көрсеткіш жағдайында: hsa-miR-126-5p деңгейлері мен глюкоза деңгейлері ($r=-0,3556$; $p<0,05$) және hsa-miR-126-5p мен HbA1c деңгейлері арасындағы ($r=-0,3494$; $p<0,05$) корреляция әлсіз теріс нәтиже берді (сурет 13-Б, В). Егер екі айнымалы арасындағы корреляция әлсіз болса, бірақ p -мәні (маңыздылық деңгейі) мәнді болса, бұл байланыс практикалық тұрғыдан әлсіз немесе шамалы болса да айнымалылар арасындағы байланыстың статистикалық дәлелі бар екенін білдіреді.

Қорыта келгенде, hsa-miR-21-5p салыстырмалы экспрессиясы мен глюкоза, HbA1c деңгейлері арасындағы шаманың өзара тығыз байланыстығының оң шамасын көрсетсе, hsa-miR-126-5p экспрессиясы мен глюкоза, HbA1c деңгейлері арасындағы корреляция теріс нәтиже көрсетеді, екі кездейсоқ шаманың өзгерісінен олардың бір біріне тәуелділігі анықталды.

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

Ақуыздың тотығу өнімдерінің жоғарылауын (АОРР) талдау 96 ұяшықты микропластинка форматындағы спектрофотометриялық талдауға негізделген қан плазмасындағы тотығу стресін анықтаудың кеңінен қолданылатын әдісі. АОРР көптеген ауруларда талданған және тотығу стресінің оңай өлшенетін маркері болып саналады [185].

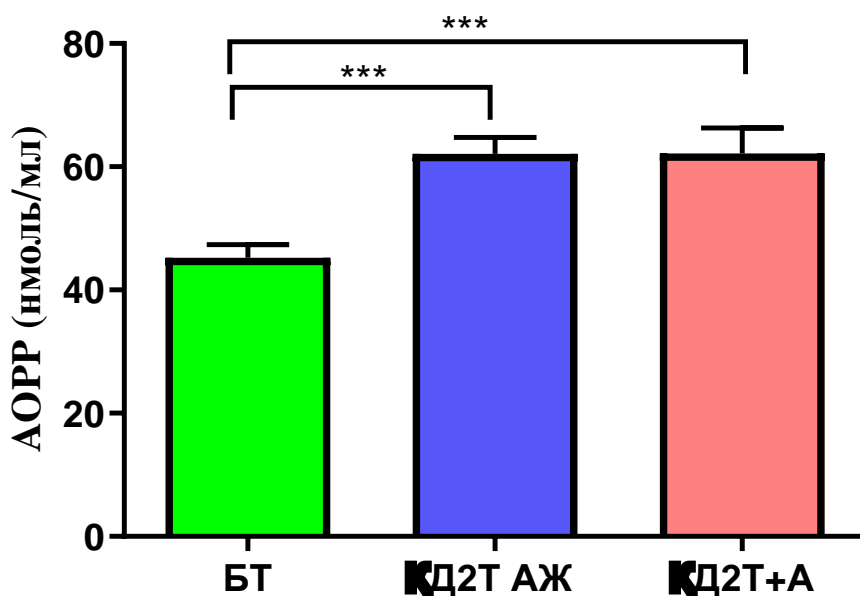
Тотығу стресі қант диабетінің негізгі ерекшелігі болып саналады, әрі қант диабетімен байланысты асқынулардың дамуында маңызды рөл атқарады [186]. Кейбір зерттеу жұмыстарында ҚД1Т бар ересек емделушілерде АОРР мәні орташа жоғарылағанын және ҚД2Т бар емделушілерде бұл мән айтарлықтай жоғарылағанын көрсетті [187, 188]. Дегенмен басқа ғалымдардың зерттеулерінде АОРР тек 2-типті қант диабетінде айтарлықтай артады деп болжам жасаған [189]. АОРР-ның деңгейі 2-типті қант диабеті кезінде жоғарылайтыны [190] және

оның концентрациясы инсулинрезистенттілікпен [191], немесе ретинопатия [192], ауыр диабеттік асқынулармен [193], нефропатиямен корреляцияланатыны анықталып, әлі де зерттеу жұмыстары жүргізулуде [194].

Тотығу-тотықсыздану реакциялары – физиологиялық жағдайда оның метаболиттік гомеостазын сақтайтын, патологиялық жағдайларда өзгертін, субмолекулалық, молекулалық, мүшелік және ағзалық деңгейде зақым келтіруді бастайтын ағзаның негізгі биохимиялық реакциялары болып табылады. Соған байланысты қан плазмасындағы ЛАТ және АОРР деңгейлерін талдау арқылы жасушадан тыс тотығу күйінің сипаттамасы анықталды.

Плазмадағы ақуыздың тотығу өнімдерінің жоғарылауының деңгейі бақылау тобына $47,19 \pm 2,37$ нмоль/мл қарағанда 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз топта $62,58 \pm 2,88$ нмоль/мл және асқынулары бар топта $67,62 \pm 5,5$ нмоль/мл ($p < 0,001$) жоғары деңгейге жеткені байқалды (сурет 14).

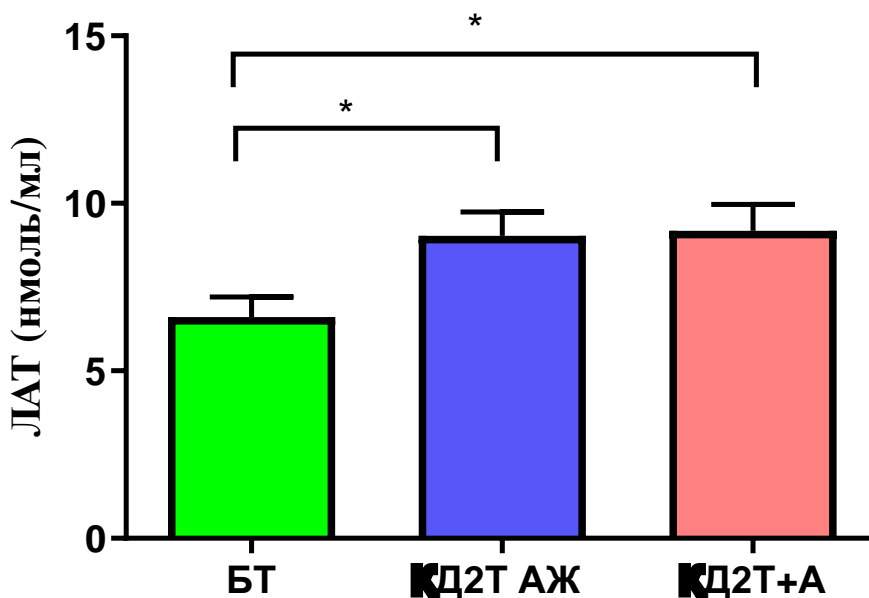
АОРР белсенді карбонил қосылыстарының (альдегидтер мен кетондар) әсерінен ақуыздардың гликация мен гликототығу үрдістерінен тұратын тотығу түрлерінің бірі - карбонилдену нәтижесінде түзіледі. АОРР NO белсенділігіне әсер етеді, ал ақуыздың тотығу модификациясының деңгейі әртүрлі ұлпалардың зақымдануының алғашқы белгілерінің бірі ретінде танылады.



Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: АОРР– ақуыздың тотығу өнімдерінің жоғарылауының концентрациясы; нмоль/мл, Деректер \pm орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. Топтар арасындағы салыстыру графиктерде көрсетілген. *** $p < 0,001$.

Сурет 14 – Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетімен ауыратын науқастардың плазмасындағы ақуыздың терең тотығу өнімдерінің жоғарылауының концентрациясы

Осы нәтижеге ұқсас ЛАТ деңгейі бақылау тобына $6,60 \pm 2,44$ нмоль/мл карағанда 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз топта $9,03 \pm 3,49$ нмоль/мл және асқынулары бар топта $9,1862 \pm 3,98$ нмоль/мл жоғарылап ($p < 0,05$), жасушадан тыс тотығу күйінің биомаркерлерінің (ЛАТ және AOPP) деңгейі айтарлықтай жоғары болғаны байқалды (сурет 15).



Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А - 2 типті-қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: ЛАТ-липидтердің асқын тотығуы, нмоль/мл. Деректер \pm орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. * $p < 0,05$.

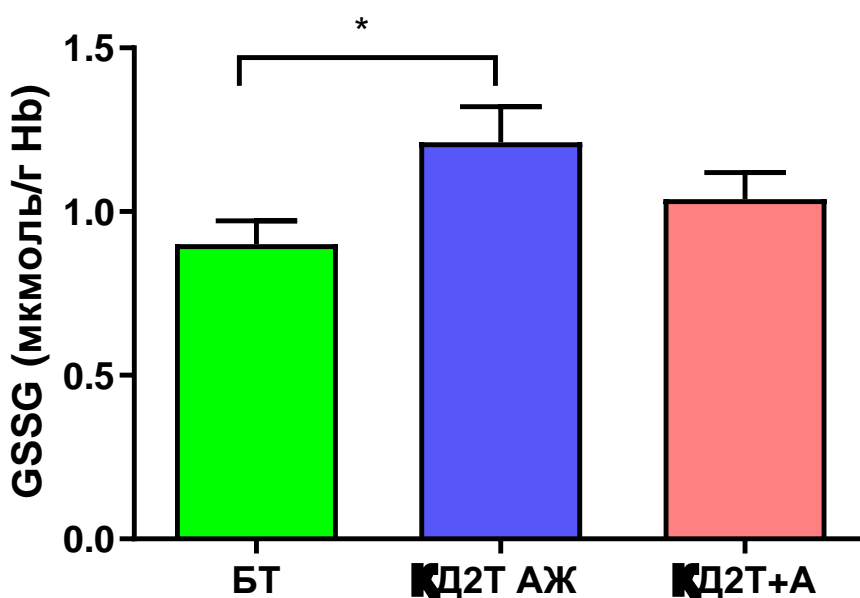
Сурет 15 – Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетімен ауырған науқастардың плазмасындағы ЛАТ концентрациясы

Жасушаішілік тотығу күйін зерттеу эритроциттердегі антиоксиданттық ферменттердің (каталаза, СОД, Г-6-ФД) және глутатион циклінің компоненттерінің (GSSG, GSH, ГР, ГПО) белсенділігін анықтауды қамтиды.

Глутатион тотықсызданған (GSH) және тотыққан (GSSG) күйде болады. Тотықсызданған глутатион (гамма глутамил цистеинил глицин немесе GSH) - табиғи түрде кездесетін трипептид, оның тотықсыздану және нуклеофильді қасиеттері метаболизм жолдарында, сондай-ақ көптеген аэробты жасушалардың антиоксиданттық жүйелерінде маңызды рөл атқарады. Тотықсызданған күйде цистеиннің тиол тобы табиғи антиоксидант ретінде әрекет ететін оттегінің белсенді түрлері секілді басқа тұрақсыз молекулаларға қалпына келтіру эквивалентін ($H^+ + e^-$) беруге қабілетті. Глутатион электронды донор ретінде әрекет ете отырып, цитоплазмалық ақуыздарда түзілетін кез келген цистеин-дисульфидті байланыстарды бұзады. Электронды беру кезінде глутатион жоғары реактивті молекулаға айналады және тез глутатион дисульфидін (GSSG) түзейді.

Бұл реакция жасушалардағы глутатионның салыстырмалы түрде жоғары концентрациясына байланысты (бауырда 5 мм-ге дейін). GSH глутатионредуктаза ферменті арқылы GSSG-ден қалпына келтіріледі. Сау жасушалар мен ұлпаларда глутатионның жалпы құрамының 90% астамы қалпына келтірілген түрінде (GSH) және 10% төмен дисульфидті түрінде (GSSG) болады. Глутатионның басқа функцияларымен қатар GSH әртүрлі ферменттерде, соның ішінде глутатион пероксидаза, глутатион S-трансфераза және тиолтрансфераза кофермент ретінде маңызды рөл атқарады.

Глутатион цикліне қатысты, жасушаішілік тотығу стресінің сипаттамасы бақылау тобымен $0,84 \pm 0,36$ мкмоль/г Hb салыстырғанда ҚД2Т ауыратын, асқынуларсыз науқастар тобында GSSG деңгейі $1,21 \pm 0,67$ мкмоль/г Hb айтарлықтай жоғары ($p < 0,05$), ал ҚД2Т ауыратын, асқынулары бар топпен салыстырғанда $0,84142 \pm 0,36$ мкмоль/г Hb мәнінде айырмашылық болған жоқ (сурет 16).

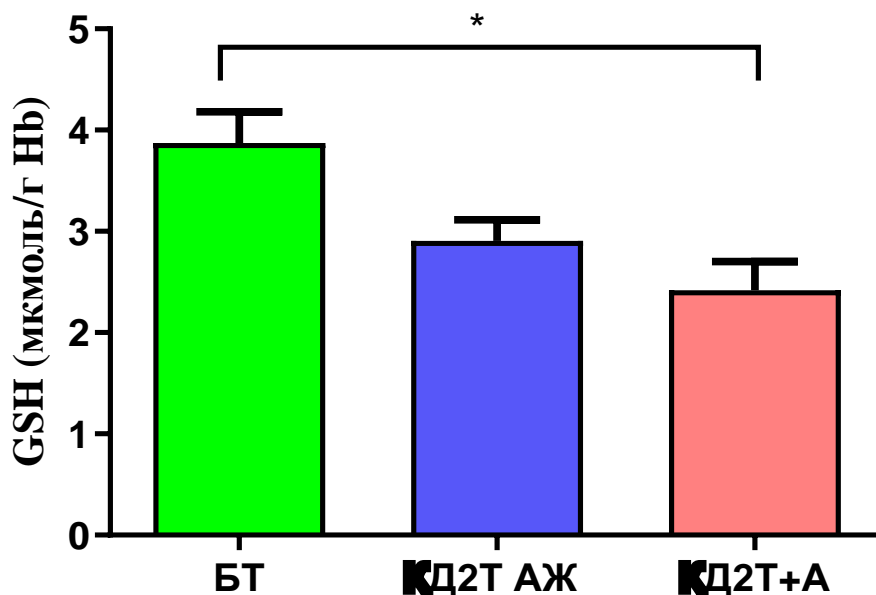


Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: GSSG-тотыққан глутатион, мкмоль/г Hb; Деректер \pm орташа мәнің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. * $p < 0,05$.

Сурет 16 – Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетіне шалдыққан науқастардың қан көрсеткіштеріндегі жасушаішілік тотыққан глутатион концентрациясы

GSH сонымен қатар көптеген ксенобиотиктерден (бөгде қосылыстар) және органикалық және бейорганикалық канцерогендерден токсиндерді шығару арқылы дәрілік зат алмасуда маңызды рөл атқарады.

ҚД2Т ауыратын, асқынулары бар топта GSH деңгейлері $2,41 \pm 0,28$ мкмоль/г Hb бақылау тобымен салыстырғанда $3,87 \pm 0,31$ мкмоль/г Hb айтарлықтай төмен болды ($p < 0,05$), ал ҚД2Т ауыратын, асқынуларсыз топта GSH деңгейі $2,9 \pm 0,20$ мкмоль/г Hb төмендегенімен, бақылау тобымен салыстырғанда сенімді айырмашылық көрсеткен жоқ (сурет 17).



Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: GSH – тотықсызданған глутатион, мкмоль/г Hb; Деректер \pm орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. * $p < 0,05$.

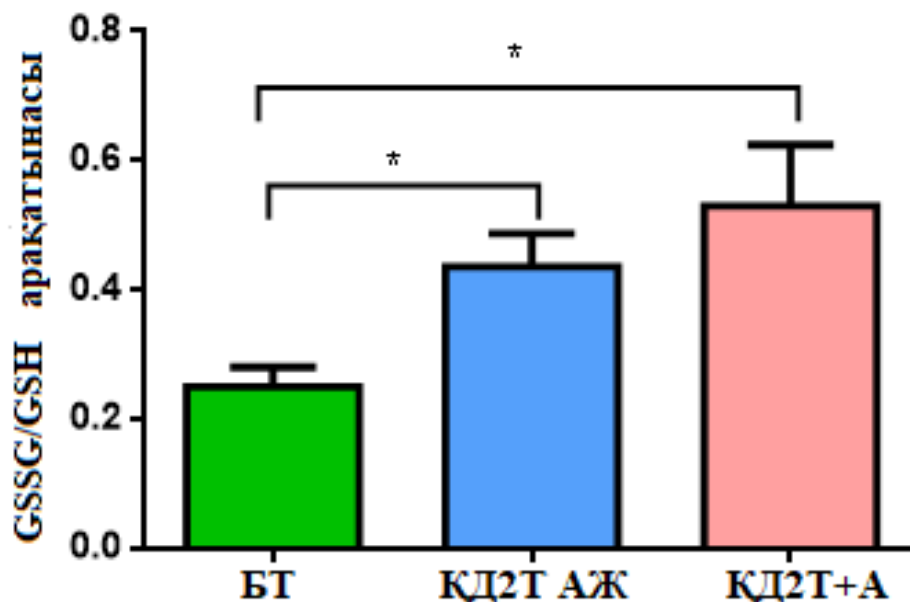
Сурет 17 – Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетіне шалдыққан науқастардың қан көрсеткіштеріндегі жасушаішілік тотықсызданған глутатион концентрациясы

Эритроцит жасушаларында қайта қалпына келген, яғни тотықсызданған GSH деңгейінің төмендеуі тотығу стресімен күресу үшін антиоксиданттардың компенсаторлық механизмімен (адекватты емес сыртқы орта факторларының әсерінен ағзадағы функционалдық өзгерістерді жоюға немесе әлсіретуге бағытталған бастапқы бейімделу рефлекторлық реакцияларға) байланысты.

Глутатион (GSH) – көп функциялы молекула. Оның негізгі рөлі жасушаларды антиоксиданттық қорғау болып табылады. Глутатионпероксидазаның кофакторы ретінде қатысуынсыз-ақ, GSH өзі тиол тобының болуына байланысты жасушаларды бос радикалдардан ферментативті емес түрде қорғай алады. Антиоксидантты қорғау күшінің ең маңызды биомаркер көрсеткіші GSH/GSSG қатынасы болып табылады (қалыпты жағдайда 100:1). GSSG мен GSH арақатынасының жоғарылауы тотығу стресінің белгісі болып саналады. Оның төмендеуі жасушаға сигнал беруді бұзады, геннің

экспрессиясын, жасуша пролиферациясын және дифференциациясын, метаболизмді және жасушаның тіршілік қабілетілігін нашарлатады [195].

Сонымен қатар, дені сау қалыпты жағдайдағы қатысушылармен $0,25 \pm 0,14$, тәжірибелік ҚД2Т ауыратын, асқынуларсыз $0,44 \pm 0,23$ топпен және асқынулары бар $0,53 \pm 0,46$ науқастар топтарын салыстырғанда GSSG/GSH арақатынасының жоғарылағанын анықталды ($p < 0,05$) (сурет 18).



Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: GSSG/GSH арақатынасы. Деректер \pm орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. * $p < 0,05$.

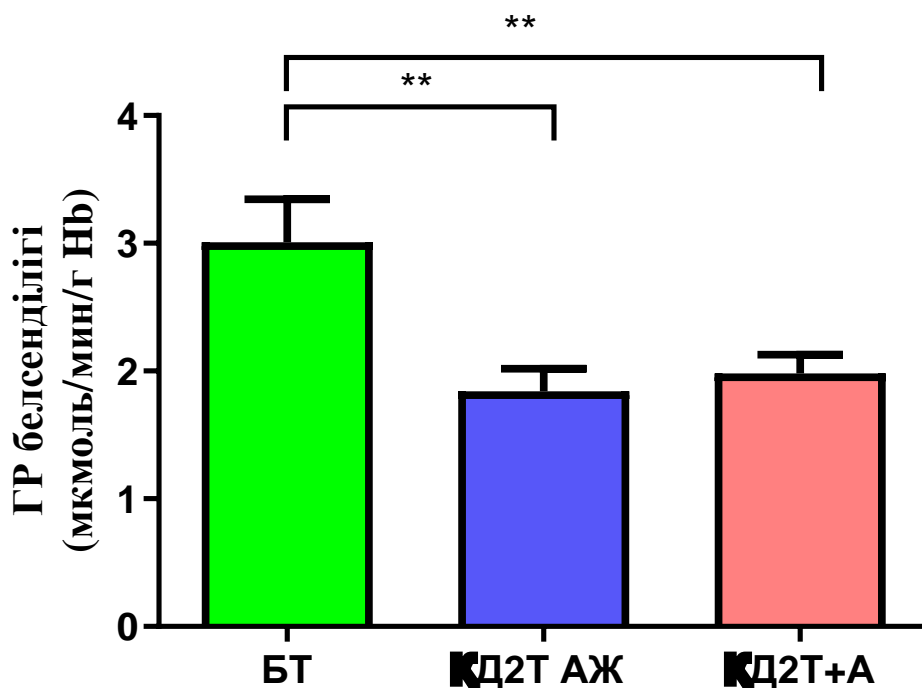
Сурет 18 – Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетіне шалдыққан науқастардың қан көрсеткіштеріндегі GSH/GSSG тотыққан-тотықсызданған глутатион арақатынасы

Италия ғалымы *Lucia La Sala* зерттеуі бойынша, диабет алды науқастарда бақылау тобымен салыстырғанда бұл қатынас (GSSG/GSH) айтарлықтай жоғарылады, яғни бұзылған тотығу-тотықсыздану күйінің бұрыннан бар болғанын және қант диабетінің клиникалық көріністері басталғанға дейін анықталғанын көрсетеді. Бұл алынған нәтижелер қарастырылып отырған зерттеу жұмысындағы нәтижелермен сәйкес келеді.

Глутатионредуктаза - тотыққан глутатионның GSH-қа дейін NADPH-тәуелді тотықсыздануын катализдейтін флавопротеин. Бұл фермент GSH тотығу-тотықсыздану циклі үшін қажет, ол қалпына келтірілген жасушалық GSH деңгейін жеткілікті деңгейде ұстайды.

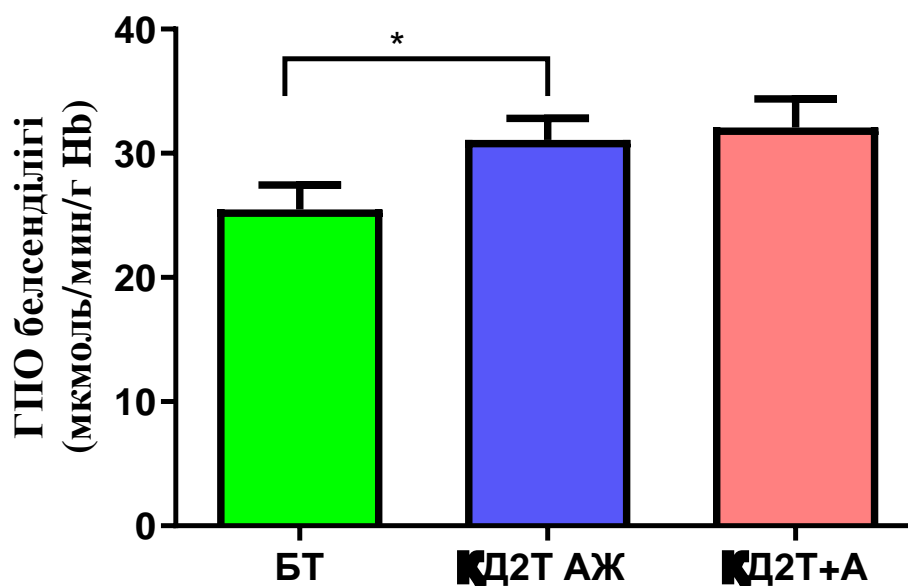
Глутатион циклінің ферменттеріне қатысты ГР бақылау тобымен

салыстырғанда $3,01 \pm 1,30$ мкмоль/мин/г Нв науқастардың екі тобында да, яғни ҚД2Т ауыратын, асқынуларсыз $1,84 \pm 0,78$ мкмоль/мин/г Нв және ҚД2Т ауыратын, асқынулары бар $1,98 \pm 0,67$ мкмоль/мин/г Нв топтарда да айтарлықтай төмен белсенділікті көрсетті ($p < 0,01$), дегенмен ГПО белсенділігі бақылау тобы мен екінші тәжірбиелік топта мәнді болды ($*p < 0,05$) (сурет 19, 20).



Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз тәжірбиелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірбиелік топ. Ординат осі: ГР – глутатионредуктаза белсенділігі, мкмоль/мин/г Нв. Деректер \pm орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. $**p < 0,01$.

Сурет 19 – Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетіне шалдыққан науқастардың қан көрсеткіштеріндегі антиоксиданттық фермент ГР белсенділігінің деңгейі

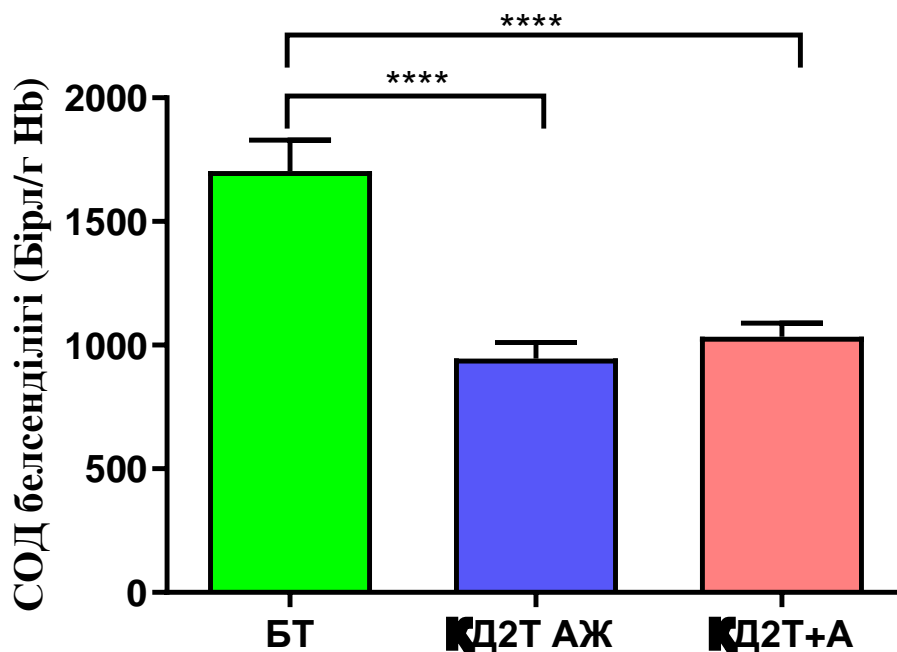


Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: ГПО-глутатионпероксидаза белсенділігі, мкмоль/мин/г Нв. Деректер \pm орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. * $p < 0,05$.

Сурет 20 – Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетіне шалдыққан науқастардың қан көрсеткіштеріндегі антиоксиданттық фермент ГПО белсенділігінің деңгейі

Супероксиддисмутаза биологиялық тотығу үрдісі кезінде түзілетін супероксид радикалдарының ыдырау реакцияларын күшейтеді. Фермент супероксид анион радикалыны екі су молекуласы мен оттегі молекуласына дейін каталазамен инактивациялайтын төмен белсенді тотықтырғыш-сутегі асқын тотығына айналуын қамтамасыз етеді. Әр түрлі патологиялық жағдайларда және олардың әртүрлі кезеңдерінде СОД белсенділігінің жоғарылауы да, төмендеуі де мүмкін. Cu-Zn-СОД негізінен эритроциттердің цитозолында, жүйке жасушаларының цитоплазмасы мен ядросында, митохондриялардың мембрана аралық кеңістігінде болады [196].

Қант диабетінің 2-типімен ауыратын науқастардың антиоксиданттық қорғаныс жағдайын талдау кезінде эритроцит фракциясында анықталған СОД антиоксиданттық ферменттері бақылау тобының $1703,43 \pm 126,06$ Бірл/г Нв мәнімен салыстырғанда асқынулары бар 2-типті қант диабетінің емделушілерінде $1034,22 \pm 54,37$ Бірл/г Нв фермент белсенділігі айтарлықтай төмендеді. СОД белсенділігі типті асқынулары жоқ науқастарда да $945,00 \pm 65,88$ Бірл/г Нв мәнді болды ($p < 0,0001$) (сурет 21).

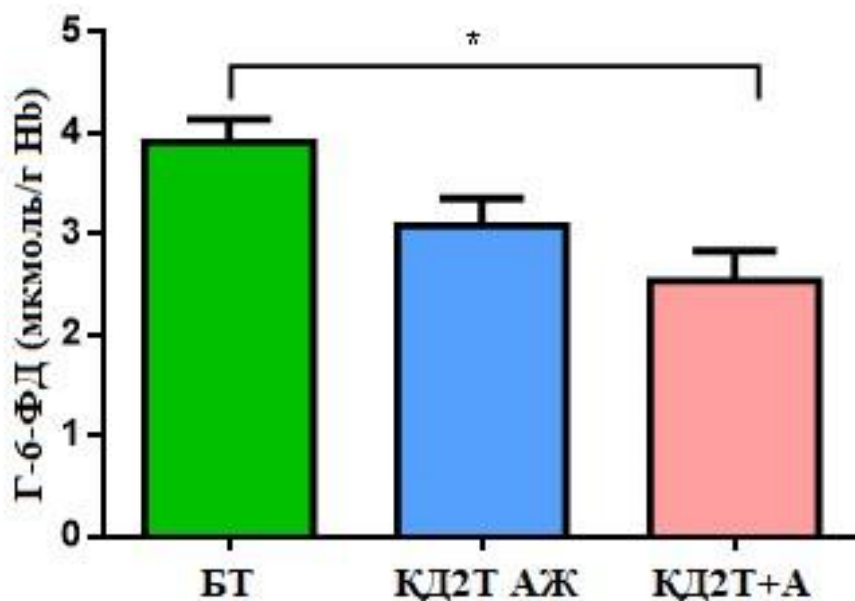


Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: СОД – супероксиддисмутаза белсенділігі, Бірл/г Нв. Деректер ± орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. ****P < 0,0001.

Сурет 21 - Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетіне шалдыққан науқастардың қан көрсеткіштеріндегі антиоксиданттық фермент СОД белсенділігі

Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа - глюкоза алмасуының маңызды фермент болып табылатын ақуыз молекуласы. Г-6-ФД тапшылығының көріністері кең ауқымды клиникалық белгілерге ие. Симптомдардың ауырлық дәрежесі көбінесе фермент жеткіліксіздігінің дәрежесімен байланысты. Г-6-ФД тапшылығынан зардап шегетін адамдардың басым көпшілігінде адам ағзасында аурудың басталуын тудыратын жағдай пайда болғанға дейін аурудың белгілері болмайды.

Г-6-ФД бақылау тобындағы $3,91 \pm 0,2$ мкмоль/г Нв көрсеткіштерге қарағанда асқынулары бар ҚД2Т тобындағы $2,53 \pm 0,3$ мкмоль/г Нв фермент белсенділігінің көрсеткіштері төмендігін көрсетті ($p < 0,05$), ал асқынуларсыз ҚД2Т тобында бақылау тобымен салыстырғанда $3,08 \pm 0,3$ мкмоль/г Нв мәнді айырмашылық болмады (сурет 22). Гипергликемия диабеттік науқастарда дегидрогеназаның (Г-6-ФД) белсенділігін тежейді, бұл тежелу NADPH жасушаішілік деңгейінің төмендеуіне және тотығу стресі үрдістерінің жоғарылауын тудырады. Ғылыми зерттеу жұмыстарда қант диабеті бар тәжірибелік жануарлардың плазмасында, бүйрек қабығында да Г-6-ФД белсенділігінің төмендеуінің ұқсас нәтижелері туралы айтылған.

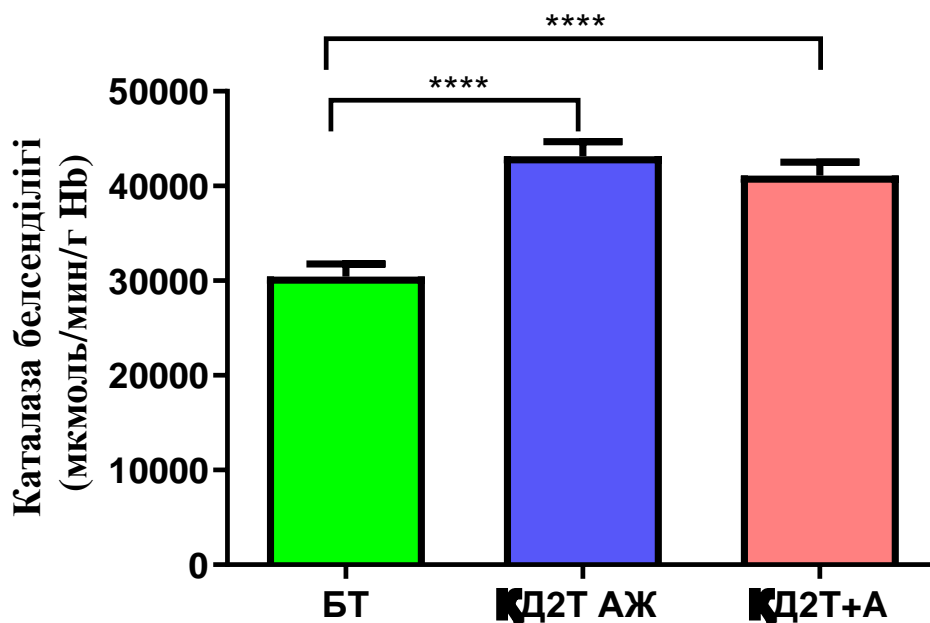


Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ- 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: Г-6-ФД-глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа белсенділігі, мкмоль/г Нв. Деректер \pm орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. * $p < 0,05$.

Сурет 22 - Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетіне шалдыққан науқастардың қызыл қан көрсеткіштеріндегі антиоксиданттық фермент Г-6-ФД белсенділігі

Клиникалық көріністері бойынша Г-6-ФД тапшылығы дәрілік гемолиз, қант диабетіне байланысты гемолиз және инфекциялық гемолизға байланысты гемолитикалық анемияны туындатады. Г-6-ФД-ның белсенділігі айтарлықтай төмен болған кезде, NADP тапшылығы тотығу стресі кезінде GSSG-ның төмен тотықсыздануын туғызады. Бұл жасушаішілік ақуыздардың (Хайнц денелері) тотығуын және жиналуын, әрі гемолизге оңай ұшырайтын қатты қызыл қан жасушаларының түзілуін тудырады.

Ал қызыл қан жасушаларындағы каталаза көрсеткіштері бойынша, 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз науқастармен $43148,26 \pm 7330,39$ мкмоль/мин/г Нв, асқынулары бар $41091,35 \pm 6853,66$ мкмоль/мин/г Нв топтарды бақылаумен $30420,59 \pm 5585,62$ мкмоль/мин/г Нв салыстырғанда каталаза белсенділігінің айтарлықтай жоғарылауы байқалды ($p < 0,0001$) (сурет 23). Каталаза белсенділігінің жоғарылау себебі, бұл науқастарда бірінші кезекте глутатион циклі бұзылады, сосын СОД, ал каталаза өзінің белсенділігін тотығу стресіне қарсы қолданады.



Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: каталаза белсенділігі, мкмоль/мин/г Нв. Деректер ± орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. **** $p < 0,0001$.

Сурет 23 - Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетіне шалдыққан науқастардың қан көрсеткіштеріндегі антиоксиданттық фермент каталаза белсенділігі

Глутатион цикліне қатысты Пирсонның маңызды корреляциялық талдауы барлық қатысушылардағы тотығу стресс маркерлері мен биохимиялық көрсеткіштерді салыстыру кезінде кейбір көрсеткіштердің арасындағы маңыздылық анықталды (кесте 6). АОРР мен аналитикалық көрсеткіштер (глюкоза $r = 0,283$, $p = 0,012$; HbA1c $r = 0,236$, $p = 0,038$; ТГ деңгейі $r = 0,506$, $p = 0,000$) арасындағы маңызды оң корреляцияны атап өткен жөн, сонымен қатар мұндай маңыздылық каталаза мен HbA1c ($r = 0,261$, $p = 0,039$) және каталаза мен HOMA-IR индексі ($r = 0,262$, $p = 0,047$), сондай-ақ GSSG/GSH және ТГ ($r = 0,338$, $p = 0,006$) көрсеткіштері арасында да сақталды.

Дәл осылайша ГР мен глюкоза ($r = -0,348$, $p = 0,008$), ГР мен HbA1c ($r = -0,358$, $p = 0,007$), СОД мен глюкоза ($r = -0,283$, $p = 0,024$), СОД мен HbA1c ($r = -0,396$, $p = 0,001$), СОД мен ТГ арасында ($r = -0,289$, $p = 0,021$) теріс корреляция табылды.

Сонымен қатар, Г-6-ФД және аналитикалық көрсеткіштер (HbA1c ($r = -0,408$, $p = 0,002$), ТГ ($r = -0,270$, $p = 0,042$) және несепнәр ($r = -0,261$, $p = 0,050$)) арасында теріс корреляция анықталды (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$) (кесте 6).

Кесте 6 - Барлық қатысушылар үшін тотығу стресінің маркерлері мен биохимиялық көрсеткіштер арасындағы маңызды ($p < 0,05$) Пирсон корреляциясының қысқаша мазмұны

	Глюкоза		HbA1c		НОМА-IR		Триглицерид		Несепнәр	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
GSSG/ GSH	0,240	0,054	0,295	0,244	0,244	0,056	0,338	0,006	0,142	0,258
ГР	-0,348	0,008	-0,358	0,007	-0,227	0,102	-0,216	0,110	-0,024	0,858
Каталаза	0,200	0,115	0,261	0,039	0,262	0,047	0,207	0,104	-0,048	0,707
СОД	-0,283	0,024	-0,396	-0,001	-0,163	0,212	-0,289	0,021	-0,173	0,175
Г-6-ФД	-0,219	0,102	-0,408	0,002	0,029	0,835	-0,270	0,042	-0,261	0,050
АОРР	0,283	0,012	0,236	0,038	0,226	0,053	0,506	0,000	0,204	0,073
ЛАТ	0,174	0,162	0,176	0,157	0,126	0,333	0,031	0,805	0,110	0,378

Статистикалық маңыздылық курсивпен белгіленген.

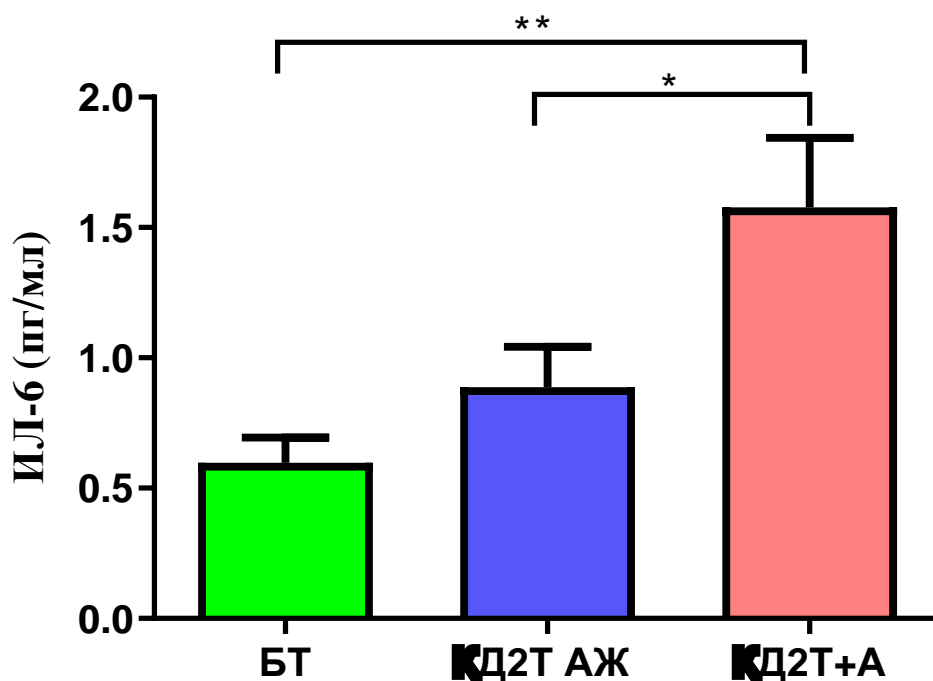
Осы корреляциялардың кейбіреулері тек қант диабеті бар топтарда талданған кезде маңыздылығын жоғалтты. Айта кету керек, ГПО белсенділігі мен глюкоза деңгейлері арасындағы корреляция маңызды мәнге жақын болды ($r=0,359$, $p = 0,06$).

3.4 Қант диабетінің 2-типімен ауыратын науқастардың қан плазмасындағы қабыну маркерлерінің (ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-18, TNF- α) спектрін анықтап, тотығу-тотықсыздану маркерлері, қабыну көрсеткіштері мен микроРНК салыстырмалы экспрессиясы деңгейі арасындағы корреляцияны талдау

Цитокиндердің күйін анықтау үшін ҚД2Т ауыратын, қан тамырлық асқынуларсыз және асқынулары бар науқастар тобы мен бақылау тобының қан плазмасында көп бағытты әсері бар цитокиндер деңгейінің құрамы анықталып, қабынуға дейінгі цитокиндер – ИЛ-6, ИЛ-18, TNF- α және қабынуға қарсы цитокин – ИЛ-10 биомаркері талданды.

ИЛ-6 деңгейі бақылау тобымен салыстырғанда ҚД2Т ауыратын, асқынулары бар науқастар тобында 2,6 есе едәуір жоғары болды ($p < 0,01$). Сонымен қатар ИЛ-6 ең жоғары деңгейі ҚД2Т ауыратын асқынуларсыз науқастар тобымен салыстырғанда, асқынулары бар ҚД2Т ауыратын науқастар тобында анықталды ($p < 0,05$). Ал ҚД2Т ауыратын асқынуларсыз науқастар тобын дені сау бақылау тобымен салыстырғанда айтарлықтай сенімді айырмашылық байқалмады (сурет 24).

Қант диабетінің асқынуымен ағзадағы ИЛ-6 деңгейінің жоғарылауын тудыратын әкелетін әртүрлі патофизиологиялық үрдістер орын алады. Диабеттік асқынулар кезінде ИЛ-6 деңгейін жоғарылатудың негізгі механизмдерінің бірі гипергликемия (қандағы глюкозаның жоғары деңгейі) ағза ұлпаларында пайда болатын қабыну үрдістерімен байланысты.

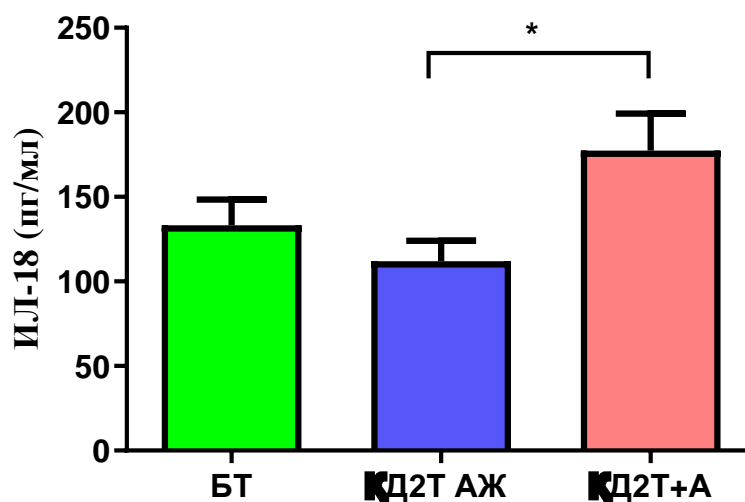


Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ- 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: ИЛ-6; пг/мл. Деректер \pm орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Сурет 24 - Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетіне шалдыққан науқастардың қан плазмасындағы қабынуға дейінгі ИЛ-6 цитокиннің концентрация деңгейі

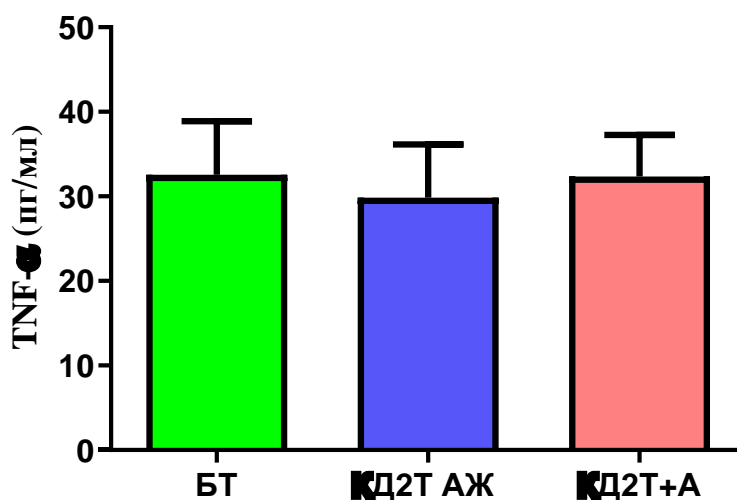
Гипергликемия ағза ұлпаларының зақымдалуына жауап ретінде ИЛ-6 сияқты қабынуға қарсы цитокиндердің өндірісін ынталандырады. Бұл жағдайда қабыну созылмалы үрдіс, сондықтан қант диабетінің асқынуының дамуына ықпал етуі мүмкін. Сонымен қатар, ИЛ-6 деңгейінің жоғарылауы қант диабетінің негізгі себебі болып табылатын инсулинге төзімділікпен байланысты болады. ИЛ-6 С-реактивті ақуыздың өндірілуін ынталандырады. Сондай-ақ, кейбір зерттеулер ИЛ-6 деңгейінің жоғарылауы диабеттік ретинопатия, нефропатия немесе нейропатия секілді қант диабетінің асқыну қаупімен байланыстылығын көрсетеді. ИЛ-6 қан тамырларының эндотелийінің зақымдалуына және тамыр қабырғасының өткізгіштігін арттыруға ықпал етуі, микроангиопатияның және қант диабетінің басқа асқынуларының дамуын тудыратыны анықталған [197].

Сонымен қатар, ҚД2Т ауыратын асқынуларсыз науқастар тобында ИЛ-18 деңгейі $111,9 \pm 12,09$ пг/мл, ал асқынулары бар ҚД2Т тобында $177,5 \pm 21,81$ пг/мл көрсетіп, екі топты өзара салыстырғанда ҚД2Т асқынулары бар топта 1,6 есе айтарлықтай жоғары болды ($p < 0,05$), ал бақылау тобы $133,3 \pm 15,09$ пг/мл мен екі диабеттік науқастар тобының арасында өзгеріс анықталмады (сурет 25). ҚД2Т ауыратын асқынуларсыз $29,87 \pm 6,267$ пг/мл және асқынулары бар науқастар



Абсцисс осі: БТ - бақылау тобы, ҚД2Т АЖ – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+А – 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: ИЛ-18, пг/мл. Деректер ± орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген. * $p < 0,05$.

Сурет 25 - Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетімен ауыратын науқастардың қан плазмасындағы қабынуға дейінгі ИЛ-18 цитокиннің концентрация деңгейі



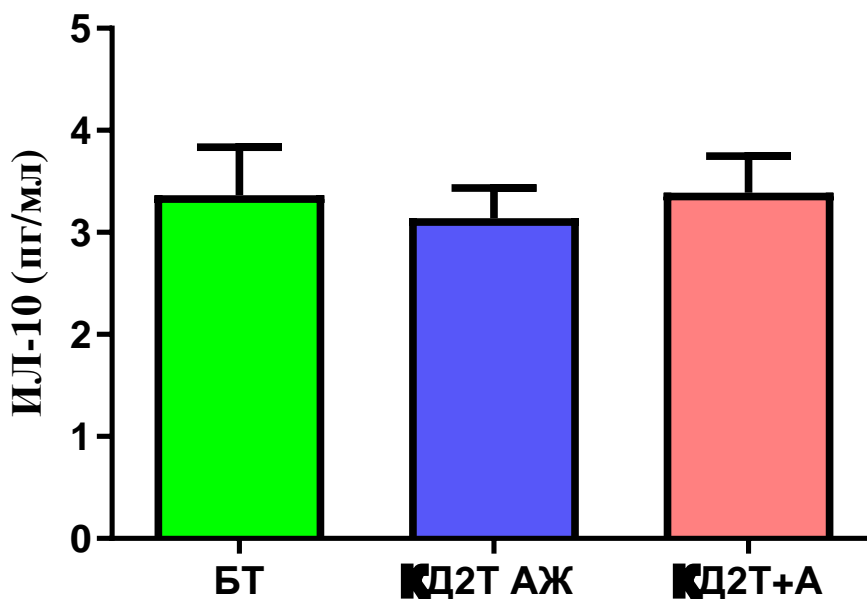
Абсцисс осі: БТ - бақылау тобы, ҚД2Т АЖ - қант диабетінің 2-типімен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелік топ, ҚД2Т+АЖ - қант диабетінің 2-типімен ауыратын асқынулары бар тәжірибелік топ. Ординат осі: TNF-α, пг/мл. Деректер ± орташа мәннің стандартты қатесі (SEM) ретінде берілген.

Сурет 26 - Қалыпты жағдайда және 2-типті қант диабетімен ауыратын науқастардың қан плазмасындағы қабынуға дейінгі TNF-α концентрация деңгейі

топтарын $32,34 \pm 4,940$ пг/мл бақылау тобымен $32,55 \pm 6,339$ пг/мл салыстырғанда қабынуға дейінгі TNF- α концентрация деңгейі айтарлықтай айырмашылықтар болған жоқ (сурет 26).

ИЛ-10 цитокинi ИЛ-19, ИЛ-20, ИЛ-22, ИЛ-24, ИЛ-26 түрлерiмен бiрге ИЛ-10 тұқымдасына жатады. Интерлейкин 10 (ИЛ-10) - айқын қабынуға қарсы қасиеттерi бар, ағзадағы қабынуды азайтатын цитокин, әрi иммунореттеушi әсерге ие. ИЛ-10 деңгейi 2-типтi қант диабетiмен ауыратын науқастарда жоғарылауға ие болса да, бұл цитокиннiң концентрациясы, зерттеу жұмыста көрсетiлгендей, осы аурудың асқынуымен өзгермеуде мүмкiн. Мұның мүмкiн себептерiнiң бiрi 2-типтi қант диабетiнiң асқынуымен ұлпалардағы қабыну үрдістерi күшейiп, көптеген басқа цитокиндер (мысалы, ИЛ-1 β , ИЛ-6, TNF- α) аурудың патогенезiнде басым болады. Бұл қабынуға дейiнгi цитокиндер ИЛ-10 экспрессиясын төмендетiп, оның қабынуға қарсы әрекетiне кедергi келтiруi мүмкiн.

Алайда қан плазмасындағы қабынуға қарсы ИЛ-10 цитокиннiң концентрация деңгейi ҚД2Т ауыратын асқынуларсыз $0,29 \pm 3,14$ пг/мл және асқынулары бар науқастар тобын $0,35 \pm 3,39$ пг/мл бақылау тобымен $0,47 \pm 3,36$ пг/мл салыстырғанда айтарлықтай айырмашылықтар болған жоқ (сурет 27).



Абсцисс осі: БТ-бақылау тобы, ҚД2Т АЖ - қант диабетінің 2-типiмен ауыратын асқынуларсыз тәжірибелiк топ, ҚД2Т+АЖ - қант диабетінің 2-типiмен ауыратын асқынулары бар тәжірибелiк топ. Ординат осі: ИЛ-10, пг/мл. Деректер \pm орташа мәннiң стандартты қатесi (SEM) ретiнде берiлген.

Сурет 27 - Қалыпты жағдайда және 2-типтi қант диабетiмен ауыратын науқастардың қан плазмасындағы қабынуға қарсы ИЛ-10 цитокиннiң концентрация деңгейi

Сонымен қатар, ағзадағы ИЛ-10 деңгейін реттеу механизмдері өте күрделі үрдіс, яғни қабыну жасушаларының болуына, басқа цитокиндердің, көптеген факторларға тікелей байланысты. Бұл ИЛ-10 концентрациясы әрқашан аурудың ауырлығымен және асқынулардың болуымен сәйкес келмейтінін түсіндіреді [198]. Ол сондай-ақ қабынуға дейінгі цитокиндердің, атап айтқанда ИЛ-1 секрециясын тежеу қабілетіне ие.

Пирсонның маңызды корреляциялық талдауы бойынша тотығу стресс маркерлері мен қабыну үрдістерінің көрсеткіштерін салыстыру кезінде ЛАТ және ИЛ-6 көрсеткіштері арасында маңызды әлсіз оң корреляция байқалды ($r = 0,338$; $p = 0,009$) (кесте-10). Дегенмен, басқа да ГПО мен ИЛ-10 ($r = -0,358$; $p = 0,037$) ГПО мен TNF- α /ИЛ-10 ($r = 0,461$; $p = 0,008$), АОРР мен TNF- α /ИЛ-10 ($r = 0,393$; $p = 0,009$) арасында маңызды корреляциялар бар екенділігі анықталды. Сонымен қатар, диагностикадан кейінгі жылдар мен Г-6-ФД деңгейі арасында шамамен корреляция бар екендігін көрсетеді (кесте 7).

Кесте 7 - Барлық қатысушылар үшін тотығу стресінің маркерлері мен цитокиндер арасындағы маңызды ($p < 0,05$) Пирсон корреляциясының қысқаша мазмұны

Цитокиндер	ИЛ-6	
	r	p
Тотығу-тотықсыздану		
<u>GSSG/GSH</u>	0,253	0,053
ГР	-0,233	0,100
Каталаза	0,074	0,584
СОД	-0,189	0,158
<u>Г-6-ФД</u>	-0,182	0,196
<u>АОРР</u>	0,093	0,452
<u>ЛАТ</u>	0,338	0,009

Статистикалық маңыздылық курсивпен белгіленген

Сондай-ақ барлық зерттелушілерде 2-типті қант диабетімен ауыратын науқастар топтарында микроРНК экспрессиясы мен тотығу және қабыну күйінің маркерлері арасындағы корреляция талданды, сонымен қатар екі жағдайда да жас, жыныс, ДМИ түзетулер енгізілді (8 кесте). Айта кету керек, барлық қатысушылар hsa-miR-21-5p мен СОД арасындағы теріс корреляцияны ($r = -0,325$; $p = 0,001$) және hsa-miR-21-5p мен ГПО арасындағы оң корреляцияны ($r = 0,443$; $p = 0,001$) көрсетті. Соңғысы яғни, hsa-miR-21-5p мен ГПО арасындағы оң корреляция ($r = 0,412$; $p = 0,014$) қант диабетімен ауыратын топтарда сақталды.

Сонымен қатар, жынысына, жасына және ДМИ-не түзетулер енгізілген кейін де қант диабетімен ауыратын науқастарда hsa-miR-21-5p мен ИЛ-10 ($r = -0,453$; $p = 0,020$) және hsa-miR-126-5p мен ИЛ-6 ($r = -0,466$; $p = 0,016$) арасындағы теріс корреляция анықталды.

Кесте 8 - Барлық зерттелушілердің плазмадағы микроРНК деңгейлері, тотығу стресі мен қабыну деңгейлері арасындағы маңызды ($p < 0,05$) Пирсон корреляциясының (r) қысқаша мазмұны

микроРНК	Тотығу стресінің көрсеткіштері	r-value	p-value
Барлық қатысушылар			
hsa-miR-21-5p	СОД	-0,325	0,001
	ГПО	0,443	0,001
	АОРР	0,342	0,019
hsa-miR-126-5p	СОД	0,282	0,030
	Каталаза	-0,359	0,007
	ЛАТ	-0,287	0,027
Жынысы, жасы, және ДМИ бойынша түзетулер енгізілген барлық науқастар			
hsa-miR-21-5p	ГПО	0,558	<0,0001
hsa-miR-126-5p	ИЛ-6	-0,480	0,004
2-типті қант диабетімен ауыратын науқастар			
hsa-miR-21-5p	ГПО	0,412	0,014
hsa-miR-126-5p	ГПО	0,360	0,039
	GSSG/GSH	0,320	0,041
Жынысы, жасы, және ДМИ бойынша түзетулер енгізілген 2-типті қант диабетімен ауыратын науқастар			
hsa-miR-21-5p	ГПО	0,419	0,047
	ИЛ-10	-0,453	0,020
hsa-miR-126-5p	ИЛ-6	-0,466	0,016
	GSSG/GSH	0,493	0,017

Қант диабетімен ауыратын науқастарда hsa-miR-126-5p мен ГПО ($r = 0,360$; $p = 0,041$) және hsa-miR-126-5p мен GSSG/GSH қатынасы арасында ($r = 0,320$; $p = 0,041$) оң корреляция анықталды. Соңғысы яғни, hsa-miR-126-5p мен GSSG/GSH қатынасы арасында ДМИ, жынысына және жасына түзетулер енгізілгеннен кейінде қант диабетімен ауыратын топтарда оң корреляция ($r = 0,493$; $p = 0,017$) сақталды.

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

Зерттеуде ауру жағдайларын қалыпты жағдайдан ажырату мақсатында, микроРНК-ны диагностикалық маркер ретінде қолдану мүмкіндігін бағалау үшін ROC қисығының графигі қолданылды. Қабылдағыштың жұмыс сипаттамаларының қисығын (*ROC- receiver operating characteristic*) талдау арқылы бағаланады. ROC (AUC) қисығының астындағы аймақ (*AUCROC- area under the receiver operating characteristics*) - бұл көрсеткіш екі диагностикалық

топты (ауру және қалыпты жағдайды) қаншалықты жақсы ажырата алатындығын өлшеуге арналған.

2-типті қант диабетімен ауыратын науқастарды сау адамдардан ажыратуда айналымдағы hsa-miR-21-5p және hsa-miR-126-5p диагностикалық дәлдігін, сондай-ақ тотығу стресі мен қабыну маркерлерін зерттеу үшін қабылдағыштың жұмыс сипаттамасының қисығы (ROC) тұрғызылды. Зерттеуде барлық қатысушылардан талданатын маркерлер үшін қисық астындағы аймақ (AUC) және 95% сенімділік интервалы алынды (9-кестеде). Айта кету керек, зерттеуде қант диабеті үшін маңызды болжамдық мәнге ие болатын бірнеше маркерлер HbA_{1c}, каталаза, hsa-miR-21-5p, ГПО, АОРР, ЛАТ (бұл маркерлер 12-кестеде асты сызылып көрсетілген) іріктеліп алынды. Бұл биомаркерлердің сезімталдығы > 50% және AUC>750 – мәнінен үлкен көрсеткіштерді көрсетті. Зерттелетін маркерлер үшін қисық астындағы аймақ (AUC) және 95% сенімділік интервалы бойынша бақылау тобы мен 2-типті қант диабеті арасындағы айырмашылықты ажыратуға мүмкіндік береді (кесте 9).

Кесте 9 - Бақылау тобы мен ҚД2Т арасындағы айырмашылықты ажыратуға мүмкіндік беретін қисық астындағы аймақ (AUC) және 95% сенімділік интервалы

Қан көрсеткіштері	Қисық астындағы аймақ AUC	95% сенімділік интервалы		p value
		Мин	Мах	
<u>HbA_{1c}</u>	0,957	0,902	1,000	0,000
НОМА IR	0,769	0,626	0,911	0,027
Несепнәр	0,587	0,462	0,712	0,194
<u>hsa-miR-21-5p</u>	0,877	0,772	0,983	0,000
hsa-miR-126-5p	0,245	0,078	0,411	0,034
GSSG/GSH	0,721	0,488	0,953	0,069
<u>АОРР</u>	0,792	0,642	0,941	0,003
<u>ЛАТ</u>	0,775	0,561	0,990	0,023
<u>Каталаза</u>	0,913	0,830	1,000	0,000
ГР	0,249	0,104	0,394	0,004
Г-6-ФД	0,277	0,147	0,408	0,010
СОД	0,125	0,036	0,214	0,000
<u>ГПО</u>	0,796	0,549	0,897	0,023
ИЛ-6	0,778	0,470	0,811	0,150
ИЛ-10	0,487	0,209	0,766	0,917
ИЛ-18	0,597	0,353	0,840	0,426
TNF- α	0,557	0,303	0,811	0,640

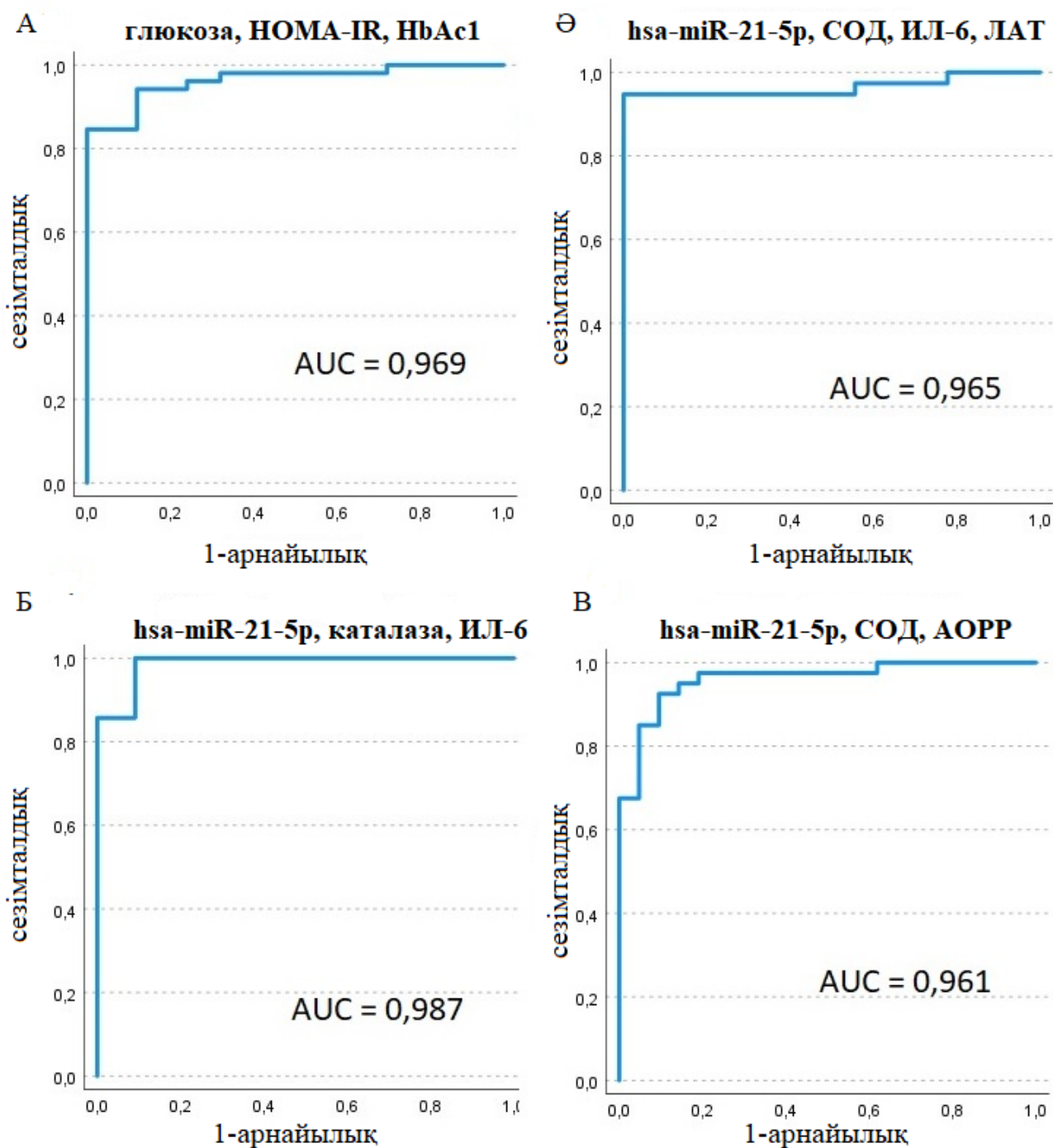
Алайда, 2-типті қант диабетімен ауыратын, асқынуларсыз және асқынулары бар топтарда қан тамырлардың асқынуларының дамуында маркерлердің болжамдық күшін бағалау үшін қабылдағыштың жұмыс сипаттамасының қисығы (ROC) талдауын жүргізгенде ГПО және ИЛ-6 маркерлерінен басқа қант диабеті үшін маңызды болжамдық мәнге ие биомаркерлердің мәндері өзгеріп, мәнді болмады (кесте 10).

Кесте 10 - ҚД2Т ауыратын, қан тамырларда асқынуларсыз және асқынулары бар топтар арасындағы айырмашылықты ажыратуға мүмкіндік беретін қисық астындағы аймақ (AUC) және 95% сенімділік интервалы

Көрсеткіштер	AUC	95% Сенімділік интервалы		p value
		Мин	Мах	
НbA1c	0,633	0,390	0,875	0,281
Несепнәр	0,578	0,374	0,853	0,332
hsa-miR-21-5p	0,520	0,355	0,685	0,810
hsa-miR-126-5p	0,325	0,133	0,517	0,101
Каталаза	0,371	0,131	0,612	0,295
ИЛ-6	0,708	0,490	0,927	0,040
ИЛ-18	0,720	0,507	0,932	0,074
АОРР	0,511	0,261	0,762	0,926
ГПО	0,796	0,549	0,897	0,023
Г-6-ФД	0,402	0,200	0,604	0,357
СОД	0,650	0,443	0,856	0,161

Логистикалық регрессия үлгілері биохимиялық және плазмалық биомаркерлердің көмегі арқылы қант диабетін диагностикалау үшін классикалық диагностикалық көрсеткіштер салыстырылды. Әсіресе үлгілер кейбір биомаркерлер ішінде қант диабетінің ең жоғары болжамды қаупін анықтады: hsa-miR-21-5p, СОД және ИЛ-6: $\text{Exp}(B)=2,235$, $\text{chi}^2 = 49,015$, $p = 0,006$, ал hsa-miR-21-5p, СОД, ИЛ-6 және ЛАТ: $\text{Exp}(B) = 4,22$, $\text{chi}^2=50,731$, $p=0,001$ мәндері арасында маңызды байланысты көрсетті. Ал hsa-miR-21-5p, каталаза, ИЛ-6 және ДМИ: $\text{Exp}(B)=3,818$, $\text{chi}^2=46,107$, $p= 0,001$ мәндері арасында маңызды байланыс анықталды.

Зерттеу нәтижелерінде классикалық диагностикалық көрсеткіштердегі әртүрлі үлгілері салыстырған кезде, глюкоза, НbA1c, НОМА-IR секілді қисық астындағы аймақтың (AUC) болжамдық мәніне қарағанда (сурет 28. А, Б) hsa-miR-21-5p, СОД, ИЛ-6 мен ЛАТ (сезімталдығы 87%) және hsa-miR-21-5p, СОД мен АОРР көрсеткіштері үшін AUC мәндері бірдей екенін (сезімталдығы 64%), ал hsa-miR-21-5p, каталаза және ИЛ-6 көрсеткіштерінде жоғары екенін көрсетті (сезімталдығы 83%) (сурет 28. Ә, В).



Абсцисс осі: 1- арнайылық. Ординат осі: сезімталдық. Сезімталдықты талдау үшін жасалған қабылдағыштың жұмыс сипаттамасының қисығы (ROC) плазма маркерлерінің диагностикалық сипаттамасын, сонымен қатар келесі үлгілерді көрсетеді: А) - глюкоза, НОМА- IR, HbA1c; Ә) - hsa-miR-21-5p, СОД, ИЛ-6, ЛАТ; Б) - hsa-miR-21-5p, каталаза, ИЛ-6; В)- hsa-miR-21-5p, СОД, және АОРР. AUC-қисық астындағы аудан.

Сурет 28 - Сезімталдықты талдау үшін жасалған қабылдағыштың жұмыс сипаттамасының қисығы (ROC)

11 - кестеде барлық науқастарда асқынулардың даму қаупіне бейімділігіне қатысты зерттелетін әртүрлі көрсеткіштердің диагностикалық құндылығын бинарлы логистикалық регрессиялық талдау арқылы есептеліп, барлық қатысушыларда қан тамырда диабеттік асқынулардың дамуының болжамды мәндері ұсынылды. Кестеде AUC мәні, бинарлы логистикалық регрессиялық және мүмкіндік қатынасы біріктірілген. Бинарлы логистикалық регрессиялық талдау – биомаркердің қаншалықты сенімді екенін көрсететін талдау. Кестеде көрсетілгендей глюкоза, HbA1c, және ауруға диагноз қойған жылдар, несепнәр сияқты клиникалық көрсеткіштерді hsa-miR-126-5p және ИЛ-6; hsa-miR-126-5p және диагноз қойғаннан кейінгі жылдар; hsa-miR-21-5p және ИЛ-6; hsa-miR-21-5p, ИЛ-6, AOPP көрсеткіштерімен салыстырғанда ерекшеліктері аз болса да, кейбір маңызды мәнге ие екендігі анықталды.

Кесте 11 - Барлық қатысушыларда бинарлы логистикалық регрессиялық талдауды қолдану арқылы есептелген диабеттік қан тамыр асқынуларының дамуының болжамды мәндері

	AUC, (95%)	Exp(B)=OR	Chi ²	p-value
Глюкоза, аурудың созылу ұзақтығы (жыл), HbA1c	0,860 (0,782-0,937)	0,464	33,192	0,001
Глюкоза, аурудың созылу ұзақтығы (жыл), несепнәр	0,888 (0,820-0,956)	0,464	38,394	0,001
hsa-miR-126-5p, ИЛ-6	0,793 (0,673-0,913)	0,579	18,880	0,041
hsa-miR-126-5p, аурудың созылу ұзақтығы (жыл)	0,868 (0,785-0,950)	0,523	30,655	0,012
hsa-miR-21-5p, ИЛ-6	0,810 (0,701-0,920)	0,600	17,879	0,048
hsa-miR-21-5p, ИЛ-6, AOPP	0,801 (0,687-0,915)	0,600	19,522	0,048

Сонымен қатар, қант диабетінің екінші типімен ауыратын асқынулары бар және асқынуларсыз топтардағы фенотиптерді ажырату кезінде әртүрлі көрсеткіштердің диагностикалық эффективтілігі бағаланды. Дегенмен, бинарлық логистикалық регрессиялық талдау қант диабетімен ауыратын науқастарда тамырда асқынулардың дамуы үшін тек ИЛ-6 мүмкіндік қатынасы Exp(B)=2,347, OR:1,136-4,848, (p=0,021) маңызды болжамдық мәнге ие екенін көрсетті.

4. АЛЫНҒАН НӘТИЖЕЛЕРДІ ТАЛДАУ

Қазіргі заманғы молекулалық биомаркерлер қант диабетінен туындайтын аурулардың пайда болуы мен ағымын болжау үшін 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 стресін төмендетуде және диабеттік асқынуларды азайтуда маңызды рөл атқарады.

Созылмалы ауру ретінде қант диабеті микроваскулярлық және макроваскулярлық зақымданудан туындаған, бірқатар басқа аурулардың қаупін арттыру арқылы ми, бүйрек, жүрек және көз сияқты бірнеше мүшелерге теріс әсер етеді. 2-типті қант диабеті бар науқастардың өмір сүру ұзақтығы мен сапасы көбінесе «кеш» - созылмалы асқынулардың дамуына және оның даму қарқындылығы ҚД компенсациясының сапасына тікелей тәуелді [199].

2-типті қант диабетімен ауыратын науқастарда қан тамырда асқынулардың дамуына қатысты жеткілікті түрде жоғары болжамдық күші бар микроРНК экспрессиясы, тотығу-тотықсыздану және қабыну күйінің биомаркерлерін табу қажеттілігі туындайды. 2-типті қант диабеті эндотелий дисфункциясына алып келетін тотығу стресі мен төмен дәрежелі қабынумен байланысты. Клиникалық зерттеулерде қатаң гликемиялық бақылау диабеттік қан тамыр асқынуларының жиілігін айтарлықтай төмендетпейтінін көрсетеді [39, б. 2203]. Екінші жағынан, тотығу стресінің жоғарылауы мен қабыну инсулинге резистенттілікке және инсулин секрециясының бұзылуын тудырады. Сонымен қатар, бұл үрдістерге эпигенетикалық бақылаудағы өзгерістер әсер етеді [38, б. 9].

Аш қарында алынған қандағы глюкоза деңгейі бүкіл әлемде он жылға жуық уақыт бойы қабылданып келе жатқан қант диабетінің заманауи диагностикалық критерийі болып табылады. Алайда соңғы жылдары инсулинге резистенттілік және 2 типті қант диабеті туралы ақпараттар геометриялық прогрессия түрде өсуде, бұл иммундық жүйемен және созылмалы қабынумен тығыз байланыста энергия балансын реттейтін күрделі желілердің болуын көрсетеді [200]. Бұл парадигмаға кеңірек қарау айналымдағы miR-126-3p және miR-21-5p секілді жаңа әлеуетті биомаркерлерді табуға итермелейді, өйткені бұл микроРНК эндотелий дисфункциясы және қабыну сияқты ҚД2Т дамуының екі негізгі кезеңдерімен байланысты.

Бұл зерттеуде дені сау бақылау топтарымен салыстырғанда, тіпті жынысы мен жасына қарай түзетулер енгізгенде де асқынуларсыз және асқынулары бар қант диабетімен ауыратын науқастар плазмасындағы hsa-miR-21-5p және hsa-miR-126-5p деңгейлері арасындағы айтарлықтай айырмашылықтар табылды (сурет 11, 12). Бұл нәтижелер басқа ғылыми зерттеу жұмыстарының нәтижелерімен сәйкес келеді. Адамдарда плазмадағы hsa-miR-21-5p деңгейінің жоғарылауы диабет алды науқастарда ҚД2Т дамуының болжаушысы (предикторы) болып саналады [201]. Зерттеулер miR-21 диабеттік ретинопатияға [202, б. 6], диабеттік нефропатияға [203], β-жасуша апоптозына [204] зиянды әсер ететінін және ұйқы безі аралдарының қабынуымен және инсулинге төзімділіктің

басталуымен байланысты екенін дәлелдейді [205]. *In vitro* зерттеулерінде глюкозаның жоғары деңгейі hsa-miR-21-5p экспрессиясын арттыратынын көрсетті [206]. Бұл зерттеуде қант диабетімен ауыратын науқастарда айналымдағы hsa-miR-21-5p деңгейінің жоғарылауы мен гликемиялық көрсеткіштердің (глюкоза мен HbA1c) деңгейлерінің оң корреляциясы анықталды. Сонымен қатар hsa-miR-21-5p бірнеше қабынуға қарсы молекулалардан туындаған қабынуға қарсы микроРНК болып табылады. hsa-miR-21-5p қабынуға қарсы функциясы оның NF-κB жолын ынталандыру қабілетінің нәтижесі болып NLRP3 қабынуынан кейінгі активтенуі, Toll-тәрізді рецепторларға тікелей (TLR - Toll-like receptors) немесе A20-ға мақсатты түрде әрекет етеді [204, б. 1181, 207].

Нәтижесінде, hsa-miR-21-5p көрсеткішінің жоғарылауы қабынуға дейінгі интерлейкиндердің (ИЛ-дер) түзілуінің жоғарылауына әкелетіндігі туралы болжам орынды. hsa-miR-21-5p қатысты *in vitro* жағдайындағы функционалдық эксперименттер ИЛ-6 және ИЛ-1β деңгейлерін жоғарылатып, ИЛ-10 деңгейін төмендетті [208]. Бұл зерттеуде hsa-miR-21-5p экспрессиясы мен қабынуға дейінгі ИЛ арасында ешқандай байланыс анықталмады, дегенмен, қант диабетімен ауыратын науқастарда жыныс, жас және ДМИ түзетілгеннен кейін hsa-miR-21-5p және қабынуға қарсы ИЛ-10 арасындағы теріс корреляция бар екендігі анықталды (кесте 8). Алынған зерттеу нәтижелерінде, басқа да ғылыми зерттеу жұмыстардың көрсеткіштерімен салыстырғанда бірдей мәтінде, сепсис үлгісіндегі миелоидты жасушаларда hsa-miR-21-5p тежелуі *in vivo* және *in vitro* жағдайында қабынуға қарсы ИЛ-10 жоғарылауымен сәйкес болды [199, б. 908, 104, б. 35377].

Керісінше, hsa-miR-126-5p бақылау тобымен салыстырғанда ҚД2Т ауыратын асқынуларсыз және асқынулары бар науқастарда төмен деңгейлерді көрсетті. Бұл нәтижелер диабет алды және 2-типті қант диабетінің биомаркер ретінде айналымдағы hsa-miR-126-5p төмендеуі туралы айтылған алдыңғы зерттеулерге сәйкес келеді [114, б. 68, 118, б. 62, 209]. Өртүрлі зерттеулер hsa-miR-126-5p қан тамырда VCAM-1 молекуласының экспрессиясын төмендететінін және инсулин 1 рецепторларының субстратын тежеу жолы (IRS-1) арқылы инсулинге төзімділікке ықпал етуі мүмкін екенін көрсетті [116, б. 52, 210]. hsa-miR-126-5p қан тамырларының тұтастығы мен ангиогенезді реттеумен байланысты. Сонымен қатар эндотелийдегі ең көп экспрессияланған микроРНК-ның бір түрі болып табылады [211]. Жануарлар үлгісіндегі зерттеулер miR-126 экспрессиясының төмендеуі ҚД2Т және мидың зақымдалуымен айтарлықтай байланысты екенін көрсетті. Екінші жағынан hsa-miR-126-5p жоғары экспрессиясы ретинопатия жағдайында қабынудың, NLRP3 белсенділігінің төмендеуімен және тышқандардағы қант диабеті үлгісінде мидың зақымдануының туындауымен байланысты болып келеді [120, б. 296, 212]. Жүргізілген зерттеу сонымен қатар қан плазмасындағы hsa-miR-126-5p деңгейінің төмендеуін қандағы глюкозаның жоғары деңгейімен және HbA1c деңгейлерімен байланыстырады (сурет 13). Бұл корреляция гипергликемия көрсеткіштерінің нашарлауы эндотелий дисфункциясына ықпал ете отырып, hsa-

miR-126-5p-ның қан айналу жүйесіне жеткізілуінің төмендеуін тудыратынын көрсетеді.

hsa-miR-126-5p экспрессиясы науқастардың екі тобында да төмендеді, бірақ ол болжамдық мән ретінде маңызды деп табылмады. hsa-miR-21-5p NF- κ B және NLRP3 жолдарын белсендіруді ынталандыру қабілетіне байланысты қабынуға қарсы әсерге ие екенін ескере отырып, антиоксиданттық жолдарды және ОБТ гомеостазын тануға қатысады. Бұл алдын ала алынатын нәтижелер үшін айналымдағы микроРНК дәстүрлі маркерлермен қатар аурудың дамуын бағалауда маңызды рөл атқаратынын көрсетеді. ROC талдауы hsa-miR-21-5p ҚД2Т диагнозында HbA1c сияқты болжамдық мәнге ие екені дәлелденді.

Осы жұмыстың тағы бір маңызды үлесі перифериялық қан үлгілерінде 2-типті қант диабеті бар науқастардағы тотығу-тотықсыздану жағдайын толық зерттеу және тамырлы асқинуларсыз және асқинулары бар науқастардың антиоксиданттық жүйесінің тотығу стресіне қалай жауап беретінін талдау болып табылады. Зерттеу жұмыста алдымен науқастардың асқинулары бар немесе жоқтығына қарамастан, бақылау тобымен салыстырғанда АОРР және ЛАТ деңгейлерінің жоғарылағаны анықталды.

АОРР және ЛАТ сияқты тотығу стресінің маркерлері оттегінің белсенді түрлерінің (ОБТ) липидтермен және белоктың бүйірлік тізбектерімен әрекеттесуі нәтижесінде түзіледі, бірнеше зерттеулерде жоғарылаған. Қан плазмасындағы АОРР-ның жоғары концентрациясы қант диабетімен ауыратын науқастарда атеросклеротикалық зақымданулармен және қан тамырлардың қабынуымен байланысты болды. Сонымен қатар, АОРР деңгейлері альбуминуриясыз қант диабетінің бастапқы сатысындағы науқастарда эндотелий дисфункциясының тәуелсіз қауіп факторы ретінде ұсынылды. *In vitro* жағдайында және жануарлар үлгілеріне жүргізілген зерттеулерде АОРР тотығу стресінің өнімдері ғана емес, сонымен қатар ерте диабеттік нефропатияны тудыратын қан тамырлардағы тотығу-тотықсыздану қабынуының, митохондриялық дисфункцияның және тотығу стресінің промоторлары болып табылады [214, 216]. Бұл нәтижелер осы зерттеу жұмысымызда ішінара расталды, онда АОРР деңгейлері мен гликемиялық бұзылулар (плазмадағы глюкоза және HbA1c) және ТГ арасында айтарлықтай оң байланыстар анықталды. Сонымен қатар, қисық астындағы аймақ (AUC) талдауы АОРР деңгейін 2-типті қант диабетімен ауыратын науқастар тобын бақылау тобынан ажырату кезінде жоғары мәндерді көрсетті (9-кесте), бұл маркерді аурудың болжаушыларының бірі ретінде қарастыруға мүмкіндік береді. Сонымен қатар, осы биомаркерді hsa-miR-21-5p және ИЛ-6-мен сатылы логистикалық регрессияға қосу диабеттік топтардағы тамырда асқинулардың дамуымен айтарлықтай жоғары байланыстығын анықтады (кесте 11).

Қант диабетімен ауыратын науқастарды антиоксидантты қорғауға қатысты эритроциттерде СОД және ГР белсенділігінің айтарлықтай төмендеуін және қант диабетімен ауыратын науқастарда қан тамырлық асқинулардың бар-жоғына қарамастан бақылаумен салыстырғанда каталаза белсенділігінің айтарлықтай жоғарылауы анықталды. Сол сияқты асқинулары бар ҚД2Т ауыратын науқастар

тобын бақылау тобымен салыстырғанда Г-6-ФД белсенділігінің төмендеуін көрсетті.

Супероксиддисмутаза біріншілік қорғаныс ферменті болып саналады. Өйткені, ол сутегі асқын тотығын (H_2O_2) түзе отырып улы супероксид аниондарының ыдырауына қатысады, содан кейін митохондриядағы ГПО және каталаза арқылы токсикалық емес H_2O және O_2 айналады. Зерттеуде белсенді ортасында Cu/Zn бар және тотығу стресі мен жоғары глюкоза деңгейіне ең сезімтал цитоплазмалық СОД өлшенді. Бұл деректер осы зерттеуде анықталған СОД мен глюкоза, HbA1c және ТГ деңгейлері арасындағы елеулі теріс корреляцияға сәйкес келеді (кесте 6). СОД белсенділігінің шамамен 50% төмен болуы ішінара гипергликемия жағдайында оның ферменттік белсенділік орталығының ферментативті гликозилденуімен түсіндіріледі [217]. Қант диабетіндегі СОД белсенділігі туралы ақпараттар бір-біріне қарама-қайшы, дегенмен, кейбір зерттеушілер супероксиддисмутаза белсенділігінің ешқандай өзгеріс болмағанын айтады. Керісінше, басқа зерттеушілер СОД белсенділігінің жоғарылауын [218] немесе төмендегенін хабарлайды. Бақылау топтарымен салыстырғанда диабет алды науқастарда [219] және бақылаулармен салыстырғанда [220] ҚД2Т бар емделушілерде СОД белсенділігінің төмендеуі байқалды. СОД белсенділігінің төмендеуі қант диабетін тудырған жануарлар үлгілерінде де анықталды [221].

Осы зерттеуде байқалған каталаза белсенділігінің артуы, СОД ферментінің белсенді болмауының (әрекетсіздігі) нәтижесінде H_2O_2 өндірісінің ұлғаюымен байланысты болуы мүмкін бейімделу реакциясын ұсынады. Каталаза негізінен адам эритроциттеріндегі H_2O_2 -нің H_2O және O_2 -ге айналу катализіне жауап береді [222]. Кейбір зерттеулерде нефропатиясы бар емделушілерде каталаза белсенділігінің төмендегені туралы хабарланғанымен [223, 224], басқа зерттеушілерде СОД енжарлығының нәтижесінде, оның белсенділігінің жоғарылауы эритроциттердің H_2O_2 жинақталуына қарсы тұруға күш салуын көрсетеді [225]. Сонымен қатар таңдалынып алынған miR-126 экспрессия деңгейінің төмендеуі биоинформатикалық деректер (*targetscan*) көзі бойынша каталаза ферментінің белсенділік деңгейі жоғарылауына алып келеді. Биоинформатикалық деректер бойынша miR-126 каталаза генімен тікелей байланысады. Каталаза белсенділігі мен HbA1c, сондай-ақ HOMA-IR арасындағы оң корреляцияны атап өткен жөн (кесте 6). Осылайша, ROC қисығының талдауы каталаза белсенділігіндегі өзгерістер қант диабеті үшін жоғары болжамдық күш беретінін көрсетті (кесте 9).

H_2O_2 утилизациясына жауапты екінші эритроцит ферменті – ГПО [226]. Бұл фермент оттегінің белсенді формасын төмендету үшін тотықсызданған глутатион тотыққан глутатионға айналдырылған кезде босап шығатын электрондар мен протондарды пайдаланатын глутатион циклінің бөлігі болып табылады. Өртүрлі зерттеулерде ҚД2Т-де ГПО-ға қатысты ақпараттар қарама-қайшы келді. ГПО мөлшері қант диабетіне дейінгі науқастармен салыстырғанда глюкоза деңгейін бақылауда ұстамайтын ҚД2Т ауыратын науқастарда жоғары [217, б. 4, 218, б. 20295], ал бақылау тобымен салыстырғанда төмен

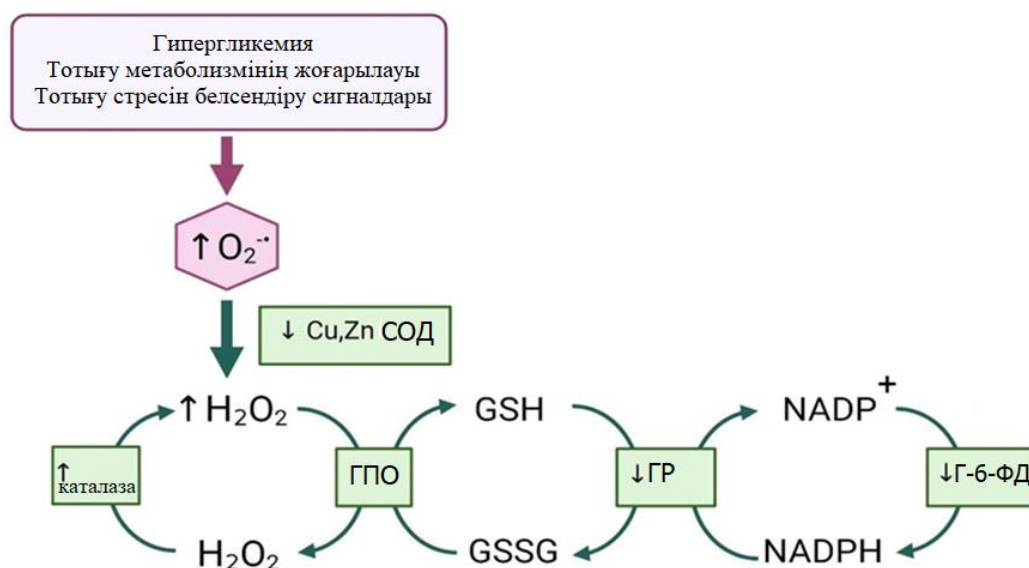
болды [227, 228]. Бұл зерттеуде H_2O_2 шамадан тыс өндірілген жағдайда артық сутегі асқын тотығына бейімделу реакциясы ретінде ГПО белсенділігі артады деп күтілуде, бұл гипергликемия және СОД белсенділігінің төмендеу жағдайында сутегі асқын тотығының артық болуына бейімделу реакциясын көрсетеді. *Gunawardena* және қосымша авторлар гликемиялық бақылауы нашар ҚД2Т ауыратын науқастарда ГПО белсенділігінің жоғарылауы туралы анықтады, бұл МДА деңгейіне параллель болды [217, б. 3]. Осы зерттеуде ГПО белсенділігі жоғарылауға бейім болды, бірақ бұл жоғарылау маңызды мәнге ие болмады. Сонымен қатар, ГПО белсенділігі жынысына, жасы мен ДМИ-не түзету енгізгеннен кейінде екі диабеттік және диабеттік емес топтарда TNF- α , ИЛ-10, hsa-miR-21-5p экспрессиясының жоғарылауымен байланысты, айтарлықтай жоғары оң корреляцияны көрсетті (кесте 8). Айта кету керек, қисық астындағы аймақ (AUC) талдауы ГПО ферментінің тек қант диабетінің даму қаупіне қатысты ғана емес, сонымен қатар диабеттік топтағы қан тамырларының зақымдануының дамуына қатысты жоғары және маңызды мәндерді көрсетті (кесте 9,10).

GSH төмендеуі бір жағынан ГР белсенділігін төмендеуінен, ал екінші жағынан полиол жолында ГР мен Г-6-ФД арасындағы NADPH үшін бәсекелестікке байланысты болуы мүмкін. Диабеттік науқастарда GSH және Г-6-ФД арасында оң корреляция бар екенін анықталғандықтан, жоғарыда келтірілген түсініктеменің мағынасы бар ($r = 0,312$, $p = 0,031$). Науқастар мен жануарлар үлгілеріне жүргізілген бірнеше зерттеулерде GSH, ГР және Г-6-ФД деңгейінің төмендегені анықталды [225, б. 3, 229, 230]. Тотығу стресінің бұл маркері де метаболизмнің нашар жағдайларымен байланысты деген идеяны қолдай отырып, GSSG/GSH арақатынасының жоғарылауы нәтижесінде ТГ және глюкозамен айтарлықтай оң корреляцияға ие болды.

Диабеттік асқынулары бар емделушілерде глутатион метаболизміне әсер ететін нақты механизмдер түсініксіз және байқалған мәселелерді бағалау үшін қосымша зерттеулер қажет. Дегенмен, бұл зерттеу мексикалық диабетпен ауыратын науқастар қанындағы тотығу-тотықсыздану күйі туралы толық ақпаратты береді. Глюкозаға сезімтал СОД белсенділігінің айтарлықтай төмендеуі каталазаның компенсаторлық белсенділігінің жоғарылауын тудырады және ГПО белсенділігінің жоғарылау үрдісі бар. Г-6-ФД белсенділігінің төмендеуі NADPH деңгейін шектейді, GSSG/GSH арақатынасының жоғарылауына әкелетін ГР белсенділігінің төмендеуіне ықпал етеді (сурет 29).

Бұл зерттеу асқынусыз ҚД2Т ауыратын науқастар тобымен салыстырғанда асқынулары бар ҚД2Т ауыратын науқастар тобындағы ИЛ-6 және ИЛ-18 деңгейінің, сондай-ақ бақылау тобымен салыстырғанда ИЛ-6 деңгейінің айтарлықтай жоғарылағаны анықталды.

Жануарларға жүргізілген эксперименттік зерттеулер ҚД2Т кезінде жоғары тотығу стресіне жауап беретін, созылмалы қабыну реакциясына қатысатын NLRP3 (нуклеотидтерді байланыстыратын домен және олигомеризация домені, лейцинге бай қайталанатын және пирин 3-құрамды домен) қабынуының және



Сурет 29 - Зерттелетін популяцияда анықталған тотығу-тотықсыздану күйінің өзгерістерінің қысқаша мазмұны. Барлық бағдарлар биохимиялық реакциялардың бағыттарын көрсетеді. *BioRender.com* сайтында жасалған (2022 жылдың 16 тамызы) [231].

NF-κB транскрипция факторының активтенуі прокоагулянттық белсенділікті күшейте отырып, қант диабетінің дамуында маңызды рөл атқаратын ИЛ-1β және ИЛ-18 деңгейінің жоғарылауына алып келеді [232]. Соңғы зерттеулер қант диабетімен ауыратын науқастарда нефропатиялардың пайда болуы қабынуға дейінгі (ИЛ-1β, ИЛ-6, TNF-α, VEGF) және профибротикалық гендердің (прокоагулянттық белсенділікті арттыратын жасушааралық адгезия 1 молекуласы (ICAM-1) және VCAM-1 молекуласы шамадан тыс экспрессиясын байланыстырды [233]. Жұмысты зерттеуде ROS қисық сызықтары және бинарлы логистикалық регрессия талдауы көмегімен көрсетілген ИЛ-6 тамырлы асқынулардың дамуы үшін жоғары болжамдық мәнді көрсетті. Бұл зерттеуде қатысушылардың үш тобында ДМИ, салмақ немесе бел шеңбері бойынша айтарлықтай айырмашылықтар болмады, бұл зерттеуде ИЛ-6 деңгейінің жоғарылауы дене салмағының жоғарылауы және семіздікпен ғана емес, сонымен қатар аурудан туындаған қабыну күйінің нашарлауымен байланысты деп санауға болады. Бинарлы логистикалық регрессиялық талдау ИЛ-6 және hsa-miR-21-5p, сондай-ақ AOPP модельдері зерттелген популяцияда қан тамырлары асқынуларының дамуы үшін айтарлықтай болжамды мәнге ие екенін көрсетті. Сонымен қатар, біз топтар арасында IL-10 деңгейінде айырмашылықтарды табылмаса да, қант диабетімен ауыратын науқастарда жыныс, жас және BMI түзетілгеннен кейін miR-21 және IL-10 арасындағы айтарлықтай теріс корреляция табылды (8-кесте). Бұл зерттеулер қабынуға дейінгі және қабынуға қарсы цитокиндер арасындағы тепе-теңдіктің бұзылуы ҚД2Т байланысты асқынулардың күшейетінін көрсеткен авторлардың зерттеу жұмыстарымен сәйкес келеді [234]. Сонымен қатар жануарлар моделіне

жүргізілген зерттеулер ретинопатия [235] немесе нейропатия сияқты диабеттік асқынулардың дамуына ИЛ белсенді қатысуын растайды [236].

Бұл 2-типті қант диабетімен ауыратын науқастар популяциясының қан плазмасындағы микроРНК экспрессиясы мен тотығу стресі көрсеткіштерінің кең ауқымы арасындағы байланыстың ең алғаш жүйелі түрде зерттеу болып табылады.

Зерттеудегі корреляциялық талдау барлық қатысушыларда hsa-miR-21-5p экспрессиясы мен СОД белсенділігі арасындағы кері байланысты көрсетті, бұл hsa-miR-21-5p диабетке дейінгі күймен байланысты және қант диабетін анықтау үшін оның болжамдық мәнін көрсетеді деп жариялаған ғалым *La Sala*-ның нәтижелерін растады [202, б. 5, 207, б. 7]. Сонымен қатар, зерттеуде каталаза ферментінің HbA1c сияқты жоғары сезімталдығы, ерекшелігі және қисық астындағы аймақ (AUC) талдауында қант диабетін болжауға үміткер ретінде көрінетінін анықталды. Ауру дамыған сайын, hsa-miR-21-5p мен ГПО арасындағы оң корреляция зерттеуде ГПО көрсеткіштерінің асқынудың даму қаупін бағалауда маңызды рөл атқарады деп ойлауға мәжбүр етеді. Бұл оң корреляция тіпті қант диабетімен ауыратын науқастардың жынысы, жасы және ДМИ бойынша түзету жүргізілген талдауда сақталды (кесте 8).

Сондай-ақ қабыну жағдайын реттеудегі айналымдағы микроРНК-ның реттеуші рөлі расталды, бұл жағдайда айналымдағы hsa-miR-21-5p экспрессиясының жоғарылауы қабынуға қарсы ИЛ-10 өнімінің төмендеуімен корреляцияланды және hsa-miR-126-5p деңгейінің төмендеуі қабынуға дейінгі ИЛ-6-мен теріс корреляцияланды. Қант диабетімен ауыратын науқастар топтарында да жыныс, жас және ДМИ түзетілгеннен кейін екі корреляция табылды (кесте 8).

Сонымен қатар, ROC-қисық талдауды және сатылы логистикалық регрессиялық талдауды пайдалана отырып, hsa-miR-21-5p, ИЛ-6, каталаза, СОД модельдері классикалық диагностикалық көрсеткіштерге ұқсас ҚД2Т диагностикасы үшін жоғары болжамдық мәнге ие (сурет 28). Осылайша, зерттелініп отырған популяциядағы ИЛ-6 маркері қан тамырдағы асқынулардың дамуын болжаушы ретінде қарастыру ұсынылады. Болашақ зерттеулер үшін ЛАТ және АОРР деңгейлерінің маңыздылығына көңіл бөліну қажет. Тамырларда асқынуларының дамуына қатысты hsa-miR-21-5p, hsa-miR-126-5p, ГПО және АОРР ықтимал болжамдық қабілетін бағалау үшін қосымша зерттеулер қажет етеді. Бұл зерттеуде асқынуларсыз 2-типті қант диабеті тобында зерттеуге қатысушыларды емдеу топтарына бөлу үшін қолданылатын кездейсоқ таңдау жиынтыққа байланысты, басқа екі топпен салыстырғанда ерлер мен әйелдердің саны әртүрлі болды, дегенмен жыныстар арасында зерттелген көрсеткіштерде айтарлықтай айырмашылықтар болмады.

ҚОРЫТЫНДЫ

Зерттеу нәтижелері бойынша келесі қорытындылар жасалды:

1. ҚД2Т ауыратын қантамырларының асқынулары жоқ және асқынулары бар науқастар қанындағы биохимиялық көрсеткіштерді бақылау тобымен салыстырмалы талдау жүргізгенде глюкоза, HbA_{1c}, НОМА-IR индексінің өзгерістерге ұшырап, жоғарылағаны дәлелденді.

2. Мексика халқының қантамырлық асқынулары жоқ және асқынулары бар ҚД2Т науқастардың қан плазмасындағы hsa-miR-21-5p салыстырмалы экспрессиясының деңгейі дені сау адамдармен салыстырғанда жоғарылады, hsa-miR-126-5p салыстырмалы экспрессиясының деңгейі төмендеді. ҚД2Т науқастарда гликемиялық бұзылулардың (плазмалық глюкоза және HbA_{1c}) деңгейлері қабынуға қарсы қызмет атқаратын hsa-miR-21-5p экспрессия деңгейімен оң корреляцияланды және эндотелиалды қорғаныс қызметін атқаратын hsa-miR-126-5p экспрессия деңгейі арасында теріс корреляциясы анықталды.

3. ҚД2Т науқастардың перифериялық қан үлгілеріндегі тотығу-тотықсыздану жағдайы, антиоксиданттық жүйенің тотығу стресіне жауап беруі толық зерттелді, ауру кезінде липидтердің асқын тотығу деңгейінің (ЛПО) және ақуыздың тотығу өнімдерінің (АОРР) жоғарылауы анықталды. Аурудың өршуіне қарай жоғарылаған каталаза белсенділігі төмендеген СОД белсенділігінің орнын басады, ал ГПО белсенділігі жоғарылау үрдісіне ие. ГР және Г-6-ФД белсенділігінің төмендеуі GSSG/GSH арақатынасының жоғарылауына алып келеді. Науқастарда жынысына, ДМИ және жасына түзетулер енгізілгеннен кейін де hsa-miR-126-5p және ГПО және hsa-miR-126-5p және GSSG/GSH арақатынасы арасындағы оң корреляция анықталды.

4. ИЛ-6 қабыну цитокинінің деңгейі екі диабеттік топта айтарлықтай жоғарылады. ҚД2Т ауыратын науқастарының жыныс, ДМИ және жасына түзетулер енгізгеннен кейін де hsa-miR-21-5p мен ИЛ-10 және hsa-miR-126-5p мен ИЛ-6 арасындағы теріс корреляция айқындалды, бұл ИЛ көрсеткіштерінің аурудың прогрессиясына айтарлықтай үлес қосты. Қант диабетімен ауыратын науқастардың қантамырларының зақымдалуын анықтауда ИЛ-6 маңызды болжамды биомаркер болып табылады.

5. Қант диабетінің асқынуларын болжауға қолданылатын биомаркерлердің болжамдық мәнін бағалайтын ROC қисығындағы талдауы бойынша hsa-miR-21-5p, СОД, ИЛ-6, ЛАТ және hsa-miR-21-5p, СОД, АОРР мәндері классикалық диагностикалық моделдерге (глюкоза, HbA_{1c} және НОМА-IR) ұқсас және жоғары АUC мәндерін көрсетті. hsa-miR-21-5p, СОД, ЛАТ және ИЛ-6 көрсеткіштері ҚД2Т асқынуларының пайда болуында болжамдық маркерлер ретінде қарастыру ұсынылды. Сонымен қатар, hsa-miR-21-5p және hsa-miR-126-5p, ГПО және АОРР деңгейлерімен бірге болашақ зерттеулерде қантамырлары асқынуларының дамуының маркерлері ретінде қарастырылуы керек екені анықталды.

Қойылған міндеттердің толығымен орындалуын бағалау
Диссертациялық жұмыста қойылған міндеттер толығымен орындалды. Қант диабетінің 2-типі жағдайында тотығу-тотықсыздану күйін және антиоксиданттық қорғаныс жүйесіне толық талдау жүргізілді. 2-типті қант диабетінде микроРНК ішіндегі айналмалы hsa-miR-21-5p, hsa-miR-126 экспрессиясы және ИЛ-6 науқастар популяциясында қан тамырларының зақымдануының болжамды биомаркері екені анықталды.

Бастапқы көрсеткіштер мен нәтижелерді қолдану нұсқаулары
Жасалған тәжірибелерді емдеу алды мақсаттарда қолдануға болады.

Диссертацияда келтірілген мағлұматтар әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-да «Молекулалық эндокринология», «Молекулалық мембранология» пәндері бойынша дәріс және практикалық сабақтарға енгізілді. Зерттеу жұмысынан алынған мәліметтерді биохимия, молекулалық биология, эндокринология, физиология салалары бойынша дәріс беруде қолдануға болады.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 International Diabetes Federation IDF Diabetes Atlas, 9th edn. Brussels, Belgium. – 2019. ISBN 9782930229874.
- 2 Astrid P., Dirk M, Ulrich A.M, Rüdiger L., Matthias N., Guido F., Lutz H., Erwin S. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. – 2019. – Vol.127 (Suppl 1). – P.1-7. – DOI: 10.1055/a-1018-9078
- 3 Кононенко И.В., Смирнова О.М., Майоров А.Ю., Шестакова М.В. Классификация сахарного диабета. Всемирная Организация Здравоохранения 2019 г. Что нового? // Сахарный диабет. – 2020. – Т. 23. – №4. – С. 329–339. – DOI: <https://doi.org/10.14341/DM12405>
- 4 WHO/NCD/NCS/99.2. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. World Health Organization Department of Noncommunicable Disease Surveillance Geneva. – 1999. – 9 p.
- 5 Randi S., Maureen M. Young Children with Type 1 Diabetes: Challenges, Research, and Future Directions // *Current Diabetes Reports*. – 2014. – Vol. 14, Issue 9. – P. 1-9. – DOI 10.1007/s11892-014-0520-2
6. Classification of diabetes mellitus. World Health Organization, 2019. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/325182>
- 7 ElSayed N.A., Aleppo G., Aroda V.R., et al., American Diabetes Association. 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Care in Diabetes-2023 // *Diabetes Care*. – 2023. – Vol. 46. – Suppl. 1. – P.19–40.
- 8 Ablaihanova N.T., Yessenbekova A.Y., Tazhiyeva A., Yessimsiitova Z.B., Saidakhmetova A.K., Malibayeva A.E., Sanbaeva B.J. and Molsadykkyzy M. Issues of Type 2 Diabetes Disease Effective Treatment in Kazakhstan // *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences*. – 2020. – Vol. 10, №3. – P.116-122.
- 9 IDF Diabetes Atlas 10th Edition. Brussels, Belgium; atlas@idf.org
- 10 Stefan S., Nancy M.G. Management of ketosis-prone type 2 diabetes mellitus // *Journal of the American Association of Nurse Practitioners*. – 2019. – Vol. 31, Issue 7. – P.430–436. – DOI: 10.1097/JXX.000000000000183
- 11 American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes *Diabetes Care*. – 2015. – Vol. 38, Suppl. 1. – P .8–16. – doi: 10.2337/dc15-S005
- 12 Аметов А.С., Шабунин А.В., Пашкова Е.Ю., Голодников И.И., Госневская И.В. Нарушения углеводного обмена у пациентов с заболеваниями поджелудочной железы: особенности диагностики и патогенеза // *Эндокринология: новости, мнения, обучение*. – 2021. – Т. 10, № 3. – С.52–58. – DOI: <https://doi.org/10.33029/2304-9529-2021-10-3-52-58>
- 13 Maria J.R., William A.H., Richard O., Andrea K.S., Kendra V., Michael W., Ashok B., Dana D. The clinical consequences of heterogeneity within and between different diabetes types // *Diabetologia*. – 2020. – Vol. 63, Issue 10. – P. 2040–2048.

14 Tamara T.W., Dora G., Dario R., Felix M.W. Type 2 diabetes and viral infection; cause and effect of disease // *Diabetes Research and Clinical Practice*. – 2021. – Vol. 172. – 13 p.

15 Eugenia R., Francesco M., Annamaria C., Diego F. Secondary diabetes associated with principal endocrinopathies: the impact of new treatment modalities // *Acta Diabetologica*. – 2009. – Vol. 46. – P.85–95. – DOI 10.1007/s00592-009-0112-9

16 Lee Y.N., Huda M.S. Uncommon forms of diabetes // *Clin Med (Lond)*. – 2021. – Vol. 21, Issue 4. – P.337-341. – doi: 10.7861/clinmed.2021-0369.

17 Jürgen H., Michael R. Diabetes mellitus-Definition, classification, diagnosis, screening and prevention (Update 2023) // *Wien Klin Wochenschr*. – 2023. – Vol. 135, (Suppl 1). – P. 7–17. – DOI: 10.1007/s00508-019-1450-4

18 Diagnostic criteria and classification of hyperglycemia first detected in pregnancy. World Health Organization Guideline; 2013. Available from: <https://www.guidelinecentral.com/summaries/diagnosticcriteria-and-classification-of-hyperglycaemia-first-detected-inpregnancy/#section-society> - P. 341-63.

19 Васина Л.В., Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Эндотелиальная дисфункция и ее основные маркеры // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. – 2017. – Том.16, №.1. – P. 4-15. – [DOI.org/10.24884/1682-6655-2017-16-1-4-15](https://doi.org/10.24884/1682-6655-2017-16-1-4-15)

20 Парахина В.Ф., Ларюшина Е. М., Тургунова Л.Г., Шерьязданова Д.Н., Шалыгина А.А., Бугибаева А.Б. Диабет алды жағдаймен ауыратын науқастардағы интима-медиа қалыңдығы мен инсулинге төзімділік көрсеткіштерінің Endocan-1 деңгейі арасындағы байланысы // *Клиническая медицина*. – 2020. – №. 4. – P.72-81.

21 Дүйсенбек А.А., Аблайханова Н.Т., Қалдықараева А.Т., Есенбекова А.Е., Мухитдин Б.А., Есимсиитова З.Б., Қожамжарова Л. 2 типті қант диабеті бар науқастарда эндотелиальды дисфункциямен байланысты тамырлы асқынулар // *Вестник Карагандинского университета Серия «Биология. Медицина. География»*. – 2022. – №3(107). – Б.176-184.

22 Jun Zh. Biomarkers of endothelial activation and dysfunction in cardiovascular diseases // *Rev. Cardiovasc. Med*. – 2022. – Vol. 23, Issue 2. – P.1-11. – <http://doi.org/10.31083/j.rcm2302073>

23 Самолук М.О., Григорьева Н.Ю. Оценка эндотелиальной дисфункции и возможности ее коррекции на современном этапе у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями. *Кардиология*. – 2019. – Том.59, – С.4-9. <https://doi.org/10.18087/cardio.2524>

24 Петина М.М., Гороховская Г.Н., Мартынов А.И. Эндотелиальная дисфункция у больных ишемической болезнью сердца с сахарным диабетом 2 типа // *Российский кардиологический журнал*. – 2011. – Том.2, №88. – С.32-36.

25 Yi Sh., Paul M.V. Macro- and microvascular endothelial dysfunction in diabetes // *Journal of Diabetes*. – 2017. – Vol. 9, Issue 5. – P.434 - 449. – DOI: 10.1111/1753-0407.12521.

26 Knapp M., Tu X., Wu R. Vascular endothelial dysfunction, a major mediator in diabetic cardiomyopathy // *Acta Pharmacologica Sinica*. – 2018. – Vol. 40, Issue 1. – P. 1-8. – DOI:10.1038/s41401-018-0042-6

27 Alisa M.C. Endothelial response to glucose: dysfunction, metabolism, and transport // *Biochem Soc Trans.* – 2021. – Vol. 49, Issue 1. – P. 313-325. – DOI: 10.1042/BST20200611.

28 Shanhu Q., Xue C., Han Y., Zilin S., Martina Z., Jürgen M.S. and Uwe S. Exercise training and endothelial function in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis // *Cardiovasc Diabetol.* – 2018. – Vol. 17, Issue 1. – 64 p. – DOI.org/10.1186/s12933-018-0711-2

29 Triggler C.R., Ding H. A review of endothelial dysfunction in diabetes focuses on the contribution of a dysfunctional eNOS // *Journal of the American Society of Hypertension.* – 2010. – Vol. 4, Issue 3. – P. 102–115. – DOI:10.1016/j.jash.2010.02.004

30 Tremamunno S., De V.A., Villano A., Melita V., Ingrassiotta G., Ruscio E., Lanza G.A. Relation of endothelial and cardiac autonomic function with left ventricle diastolic function in patients with type 2 diabetes mellitus // *Diabetes/Metabolism Research and Reviews.* – 2021. – Vol. 38, Issue 2. – P.1-9. – DOI:10.1002/dmrr.3484

31 Shi Y., Vanhoutte P.M. Reactive oxygen-derived free radicals are key to the endothelial dysfunction of diabetes // *Journal of Diabetes.* – 2009. – Vol. 1, Issue 3. – P.151–162. – DOI:10.1111/j.1753-0407.2009.00030.x

32 Coco C., Sgarra L., Potenza M.A., Nacci C., Pasculli B., Barbano R., Montagnani M. Can Epigenetics of Endothelial Dysfunction Represent the Key to Precision Medicine in Type 2 Diabetes Mellitus? // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2019. – Vol. 20, Issue 12. – 2949 p. – DOI:10.3390/ijms20122949

33 Roberts A.C., Porter K.E. Cellular and molecular mechanisms of endothelial dysfunction in diabetes // *Diabetes and Vascular Disease Research.* –2013. – Vol. 10, Issue 6. – P. 472–482. – DOI:10.1177/1479164113500680

34 Maamoun H., Abdelsalam S., Zeidan A., Korashy H., Agouni A. Endoplasmic Reticulum Stress: A Critical Molecular Driver of Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Disturbances Associated with Diabetes // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2019. – Vol. 20, Issue 7. – 1658 p. – DOI:10.3390/ijms20071658

35 Jae-Ah S., Nilofar D.S., Yeon-Ju L., Hye Y.J., Eun-Bin K., Seok-Ho H., Soyeon C., Minsoo K., Kwon-Soo H. Midazolam Ameliorates Hyperglycemia-Induced Glomerular Endothelial Dysfunction by Inhibiting Transglutaminase 2 in Diabetes // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 23, Issue 2. – 753 p. – DOI.org/10.3390/ijms23020753

36 Попыхова Э.Б., Степанова Т.В., Лагутина Д.Д., Кириязи Т.С., Иванов А.Н. Роль сахарного диабета в возникновении и развитии эндотелиальной дисфункции // *Проблемы эндокринологии.* – 2020. – Т. 66. – №1. – С.47-55. – <https://doi.org/https://doi.org/10.14341/probl12212>

37 Afiat B., Nofri R, Adi I.T., Rovina R. Type 2 Diabetes and its Impact on the Immune System // *Current Diabetes Reviews.* – 2020. – Vol. 16, №5. – P. 442 -449.

38 Kaur R., Kaur M., Singh J. Endothelial dysfunction and platelet hyperactivity in type 2 diabetes mellitus: Molecular insights and therapeutic strategies // *Cardiovasc. Diabetol.* – 2018. – Vol.17, Issue 121. – P. 1-17.

39 Hayward R.A., Reaven P.D., Wiitala W.L., Bahn G.D., Reda D.J., Ge L., McCarren M., Duckworth W.C., Emanuele N.V. Follow-up of Glycemic Control and

Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *N. Engl. J. Med.* – 2015. – Vol. 372. – P. 2197–2206.

40 Hong X., Ruipeng S., Jie O., Ruifang Zh., Zhihao Sh., Yulan L., Xuewen W., Dongtao Zh., Jiangwei Zh., Hongwei L. Organelle dynamics of endothelial mitochondria in diabetic angiopathy// *Eur J Pharmacol.* – 2021. – Vol. 895. –173865 p. – DOI: 10.1016/j.ejphar.2021.173865.

41 Andrew J M, Arthur I.V., Joseph C.A., Vera B., Eva L.F., Roy F., Rayaz A. M., Raelene E.M., Jay M.S., Dan Z., American Diabetes Association. Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care* // – 2005. – Vol. 28, Issue 4. – P.956-962. – doi: 10.2337/diacare.28.4.956.

42 Raman R., Gupta A., Krishna S., Kulothungan V., Sharma T. Prevalence and risk factors for diabetic microvascular complications in newly diagnosed type II diabetes mellitus. *Sankara Nethralaya Diabetic Retinopathy Epidemiology and Molecular Genetic Study (SN-DREAMS, report 27)* // *J Diabetes Complications.* – 2012 – Vol. 26, Issue 2. – P.123-128. – DOI: 10.1016/j.jdiacom.2012.02.001.

43 Смирнова О.М. Диабетическая ретинопатия. Результаты международных многоцентровых исследований // *Сахарный диабет.* – 2010. – Том. 13, № 1. – С.80-87. – DOI.org/10.14341/2072-0351-6021

44 Hussam A., Lucia M., Xinlei X., Lei S., Michelle L., Hongtao Ch., Shelley B.B., Andrew P.B., Andrew D.P. Multiple variants in vascular endothelial growth factor (VEGFA) are risk factors for time to severe retinopathy in type 1 diabetes: the DCCT/EDIC genetics study // *Diabetes.* – 2007. – Vol. 56, Issue 8. – P. 2161-2168.

45 Prevention of blindness from diabetes mellitus. Report of a WHO consultation // WHO. - Geneva. Switzerland, 9-11 November – 2005.

46 Li-ping W., Yu-zhen G., Bin S., Guo Y., Hui Ch., Zhe-Wen Zh., Cai-feng Y., Yun-long P., Xiao-yan Y. MicroRNAs in the Progress of Diabetic Nephropathy // *A Systematic Review and Meta-Analysis.* – 2019. – Vol. 1. – P. 1-9.

47 Liu R., Li G., Cui X.F., Zhang D.L., Yang Q.H., Mu X.Y. Methodological evaluation and comparison of five urinary albumin measurements // *J Clin Lab Anal.* – 2011. – Vol. 25, – P. 324–329. – DOI:10.1002/jcla.20477

48 Peng-Fei Sh., Qian L., Mogher K., Gui-fen Q. Type 2 Diabetes Mellitus and Macrovascular Complications // *International Journal of Endocrinology.* – 2017. – P. 1-2. – DOI.org/10.1155/2017/4301461

49 Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М. Лечение сахарного диабета и его осложнений: Учеб. пособие. – М.: Медицина, – 2005. – 512 с.

50 Rydén L., Standl E., Bartnik M., et al. Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases: executive summary. The Task Force on Diabetes and Cardiovascular Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for the Study of Diabetes (EASD) // *Eur Heart J.* – 2007. – Vol. 28, Issue 1. – P. 88–136. – DOI: 10.1093/eurheartj/ehl260

51 Morrish N.J., Wang S.L., Stevens L.K., Fuller J.H., Keen H. Mortality and causes of death in the WHO Multinational Study of Vascular Disease in Diabetes // *Diabetologia.* – 2001. – Vol. 44, Suppl. 2. – P.14–21.

52 Kwok M.K., Kawachi I., Rehkopf D., Schooling C.M. The role of cortisol in ischemic heart disease, ischemic stroke, type 2 diabetes, and cardiovascular disease risk factors: a bi-directional Mendelian randomization study // BMC Medicine. – 2020. – Vol. 18, Issue 1. – P. 1–14. – DOI:10.1186/s12916-020-01831-3

53 Кокожева М.А., Марданов Б.У., Мамедов М.Н. Острый коронарный синдром при сахарном диабете: особенности патогенеза, течения и терапии. Профилактическая медицина. – 2021. – Vol. 24, Issue 1. – P. 89–96. – DOI.org/10.17116/profmed20212402189

54 Triposkiadis F., Xanthopoulos A., Parissis J., Butler J., Farmakis D. Pathogenesis of chronic heart failure: cardiovascular aging, risk factors, comorbidities, and disease modifiers // Heart Failure Reviews. – 2020. – P. 1-8. – DOI:10.1007/s10741-020-09987-z

55 Lobmann. R. Diabetic foot syndrome // Der Internist. – 2011. – Vol. 52, Issue 5. – P. 539–548. – DOI:10.1007/s00108-010-2733-z

56 Дедов И.И., Шестакова М.В. Сахарный диабет и артериальная гипертензия. – М.:МИА, –2006. – 344 с.

57 Hypertention in Diabetes Study Group. Hypertention in Diabetes Study (HDS), II. Increased risk of cardiovascular complications in hypertensive type 2 diabetes // Hypertension. – 1993. – Vol.11, Issue 3. – P. 319-25.

58 Leigh-Ann M., Paul R. M. MicroRNA: Biogenesis, Function and Role in Cancer // Curr. Genom. – 2010. – Vol.11, Issue 7. – P. 537–561. – DOI: 10.2174/138920210793175895.

59 Hironori M., Hiroshi I.S. Systems and Synthetic microRNA Biology: From Biogenesis to Disease Pathogenesis // International Journal of Molecular Sciences. – – 2019. – Vol. 21. – P.132. – DOI:10.3390/ijms21010132 ISSN: 1422-0067

60 Lee R.C., Feinbaum R.L., Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. Cell. – 1993. – Vol. 75, Issue 5. – P. 843–54.

61 Reinhart B.J., Slack F.J., Basson M., Pasquinelli A.E., Bettinger J.C., Rougvie A.E., Horvitz H.R., Ruvkun G. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans* // Nature. – 2000. – Vol. 403 – Issue 6772 – P. 901–906.

62 Párrizas M., Novials A. Circulating microRNAs as biomarkers for metabolic disease // Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2016. – Vol. 30, Issue 5. – P. 591–601.

63 Kozomara A., Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data // Nucleic Acids Res. – 2014. – Vol. 42. – P. 68-73.

64 Аушев В.Н. МикроРНК: малые молекулы с большим значением. Клини. онкогематол. – 2015. – Том 8, №1. – С.1–12.

65 Griffiths-Jones S., Russell G.R., Stijn van D., Bateman A., Enright A.J. miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature // NucleicAcids Res – 2006. – Vol. 34.– P.140-104.

- 66 Krol J., Loedige I., Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay // *Nature Reviews Genetics*. – 2010. – Vol. 11, Issue 9. – P. 597 - 610. – DOI:10.1038/nrg2843
- 67 Singh G., Storey K.B. MicroRNA Cues from Nature: A Roadmap to Decipher and Combat Challenges in Human Health and Disease? // *Cells*. – 2021. – Vol. 10, Issue 12. – 3374 p. – DOI.org/10.3390/cells10123374
- 68 Ali S.Z., Langden S.S., Munkhzul C., Lee M., Song S.J. Regulatory Mechanism of MicroRNA Expression in Cancer // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – Vol. 21, Issue 5. – 1723 p. – DOI:10.3390/ijms21051723
- 69 Varsha R., Rakesh S.S. Biogenesis and mechanisms of microRNA-mediated gene regulation // *Biotechnol Bioeng*. – 2022. – Vol. 119, Issue 3. – P. 685-692. – DOI: 10.1002/bit.28029.
- 70 Jesus G. L., Miguel A.B., Jesus del M. MicroRNA biogenesis and variability // *BioMol Concepts*. – 2013. – Vol. 4, Issue 4. – P. 367–380. – DOI 10.1515/bmc-2013-0015
- 71 Saliminejad K., Khorram Khorshid H.R., Soleymani F.S., Ghaffari S.H. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods // *Journal of Cellular Physiology*. – 2019. – Vol. 234, Issue 5. – P. 5451-5465. – DOI: 10.1002/jcp.27486. 201.
- 72 Vishnoi A., Rani S. MiRNA Biogenesis and Regulation of Diseases: An Overview // *Methods Mol Biol*. – 2017. – Vol 1509. – P.1–10. – DOI: 10.1007/978-1-4939-6524-3_1
- 73 Finnegan E.F., Pasquinelli A.E. MicroRNA biogenesis: regulating the regulators // *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. – 2012. – Vol 48, Issue 1. – P. 51–68. – DOI:10.3109/10409238.2012.738643
- 74 Fabian M.R., Sonenberg N. The mechanics of miRNA-mediated gene silencing: a look under the hood of miRISC // *Nature Structural & Molecular Biology*. – 2012. – Vol. 19, Issue 6. – P. 586–593. – DOI:10.1038/nsmb.2296
- 76 Rusanova I., Diaz-Casado M.E., Fernández-Ortiz M., Aranda-Martínez P., Guerra-Librero A., García-García F.J., Escames G., Mañas L., Acuña-Castroviejo D. Analysis of Plasma MicroRNAs as Predictors and Biomarkers of Aging and Frailty in Humans // *Oxid. Med. Cell. Longev*. – 2018. – P. 1–9.
77. Rusanova I., Fernández-Martínez J., Fernández-Ortiz M., Aranda-Martínez P., Escames G., García-García F.J., Mañas L., Acuña-Castroviejo D. Involvement of plasma miRNAs, muscle miRNAs and mitochondrial miRNAs in the pathophysiology of frailty. *Exp. Gerontol*. – 2019. – Vol. 124. – 110637 p.
78. Salim U., Kumar A., Kulshreshtha R., Vivekanandan P. Biogenesis, characterization, and functions of mirtrons // *WIREs RNA*. – 2021. – P.1–15.– DOI:10.1002/wrna.1680
79. Yousef Kh.M., Mohammad-Reza M., Elham Kh., Mohamad R.S., Sima H., Iraj M. Salivary microRNA-126 and 135a: a potentially non-invasive diagnostic biomarkers of type- 2 diabetes // *J Diabetes Metab Disord*. – 2021. – Vol. 20, Issue 2. – P. 1631-1638.

80 Rong Y., Bao W., Shan Z., et al. Increased microRNA-146a levels in plasma of patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus // PLOS One. – 2013. – Vol. 8, Issue 9. – P.1-9. – DOI: 10.1371/journal.pone.0073272

81 Liu Y., Gao G., Yang C., et al. The role of circulating microRNA-126 (miR126): a novel biomarker for screening prediabetes and newly diagnosed type 2 diabetes mellitus // Int J Mol Sci. – 2014. – Vol. 15, Issue 16. – P. 10567-10577.

82 Al-Muhtareh H., Al-Kafaji G. Evaluation of two-diabetes related microRNAs suitability as earlier blood biomarkers for detecting prediabetes and type 2 diabetes mellitus // J Clin Med. – 2018. – Vol. 7, Issue 12. – P. 1-12.– DOI: 10.3390/jcm7020012.

83 Heneghan H.M., Miller N., Kerin M.J. Role of microRNAs in obesity and the metabolic syndrome // *Obes. Rev.* – 2010. – Vol. 11, Issue 5. – P. 354–361.

84 Chartoumpakis D.V., Zaravinos A., Ziros P.G., Iskrenova R.P., Psyrogiannis A.I, Kyriazopoulou V.E., Habeos I.G. Differential Expression of MicroRNAs in Adipose Tissue after Long-Term High-Fat Diet-Induced Obesity in Mice // PLoS ONE – 2012, – Vol. 7, Issue 4. – P. 1–13.

85 Meerson A., Traurig M., Ossowski V., Fleming J.M., Mullins M., Baier, L.J. Human adipose microRNA-221 is upregulated in obesity and affects fat metabolism downstream of leptin and TNF- α // *Diabetologia* – 2013.– Vol. 56, Issue 9. – P. 1971–1979. – doi: 10.1007/s00125-013-2950-9.

86 Mentzel C.M.J., Anthon C., Jacobsen M.J., Karlskov-Mortensen P., Bruun C.S., Jorgensen C.B., Gorodkin J., Cirera S., Fredholm M. Gender and Obesity Specific MicroRNA Expression in Adipose Tissue from Lean and Obese Pigs // PLoS ONE – 2015. 10, – Vol. 10, Issue 7. – P. 1–19. – doi: 10.1371/journal.pone.0131650.

87 Lustig Y., Barhod E., Ashwal-Fluss R., Gordin R., Shomron N., Baruch Umansky K., Hemi R., Karasik, A., Kanety, H. RNA-Binding Protein PTB and MicroRNA-221 Coregulate AdipoR1 Translation and Adiponectin Signaling // *Diabetes.* – 2014. – Vol. 63, Issue 2. – P. 433–445.

88 Hagiwara S., McClelland A., Kantharidis P. MicroRNA in Diabetic Nephropathy: Renin Angiotensin, AGE/RAGE, and Oxidative Stress Pathway // *J. Diabetes Res.* – 2013. – P. 1-11. – DOI: 10.1155/2013/173783

89 Li R., Chung A.C.K., Yu X., Lan H.Y. MicroRNAs in Diabetic Kidney Disease // *Int. J. Endocrinol.* – 2014. – P. 1-12 – DOI: 10.1155/2014/593956

90 Figueira M.F., Monnerat-Cahli G., Medei E., Carvalho A.B., Morales M.M., Lamas M.E., Fonseca R.N., Souza-Menezes J. MicroRNAs: Potential therapeutic targets in diabetic complications of the cardiovascular and renal systems // *Acta Physiol.* – 2014. – Vol. 211, Issue 3. – P. 491–500.

91 Rawal S., Manning P., Katare R. Cardiovascular microRNAs: As modulators and diagnostic biomarkers of diabetic heart disease // *Cardiovasc. Diabetol.* – 2014. – Vol. 13, Issue 44. – P. 1–24. – DOI: 10.1186/1475-2840-13-44

92 Weber J.A., Baxter D.H., Zhang S., Huang D.Y., Huang, K.H., Lee, M.J., Galas D.J., Wang K. The MicroRNA Spectrum in 12 Body Fluids // *Clin. Chem.* – 2010. – Vol. 56, Issue 11. – P. 1733–1741. – DOI: 10.1373/clinchem.2010.147405.

93 Zampetaki A., Willeit P., Drozdov I., Kiechl S., Mayr M. Profiling of circulating microRNAs: From single biomarkers to re-wired networks // *Cardiovasc. Res.* – 2012. – Vol. 93, Issue 4. – P. 555–562. – DOI: 10.1093/cvr/cvr266.

94 Guay C., Regazzi R. Circulating microRNAs as novel biomarkers for diabetes mellitus // *Nat. Rev. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 9, Issue 9. – P. 513–521. doi:10.1038/nrendo.2013.86

95 Ghai V., Wang K. Recent progress toward the use of circulating microRNAs as clinical biomarkers // *Arch. Toxicol.* – 2016. – Vol. 90, Issue 12. – P. 2959–2978. – DOI: 10.1007/s00204-016-1828-2.

96 Karolina D.S., Armugam A., Tavintharan S., Wong M.T., Lim S.C., Sum C.F., Jeyaseelan K. MicroRNA 144 impairs insulin signaling by inhibiting the expression of insulin receptor substrate 1 in type 2 diabetes mellitus // *PLoS One* –2011. – Vol. 6, Issue 8. – P.1-19. – DOI: 10.1371/journal.pone.0022839.

97 Jeon T. I., Esquejo R.M., Roqueta-Rivera M., Phelan P.E., Moon Y.A., Govindarajan S.S., Esau C.C., Osborne T.F. An SREBP-responsive microRNA operon contributes to a regulatory loop for intracellular lipid homeostasis // *Cell Metab.* – 2013. – Vol.18, Issue 1. – P. 51-61. – DOI.org/10.1016/j.cmet.2013.06.010

98 Ouaamari A.E., Baroukh N., Martens G.A., Lebrun P., Pipeleers D., Van Obberghen E. MiR-375 targets 3'-l-Phosphoinositide-Dependent protein Kinase-1 and regulates Glucose-Induced biological responses in pancreatic β -Cells // *Diabetes.* – 2008. – Vol. 57, Issue 10. – P. 2708-2717. – DOI: 10.2337/db07-1614.

99 Li Y., Xu X., Liang Y., Liu S., Xiao H., Li F., Cheng H., Fu Z. miR-375 enhances palmitate-induced lipoapoptosis in insulin-secreting NIT-1 cells by repressing myotrophin (V1) protein expression // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2010. – Vol. 3, Issue 3. – P. 254-64.

100 Xia H.Q., Pan Y., Peng J., Lu G.X. Over-expression of miR375 reduces glucose-induced insulin secretion in Nit-1 cells // *Mol. Biol. Rep.* – 2011. – Vol. 38, Issue 5. – P. 3061-3065. – DOI: 10.1007/s11033-010-9973-9.

101 Salman S., Mahmood D.A., Seyed M.S., Mohammad Y., Vahidi M., Masoud D.T., Sara S., Seyed Amir Behtash L. Circulating miR-15a and miR-222 as Potential Biomarkers of Type 2 Diabetes // *Diabetes Metab Syndr Obes.* – 2020. – Vol. 13. – P. 3461-3469. – DOI: 10.2147/DMSO.S263883.

102 Zampetaki A., Kiechl S., Drozdov I., Willeit P., Mayr U., Prokopi M., Mayr A., Weger S., Oberhollenzer F., Bonora E. Plasma MicroRNA profiling reveals loss of endothelial MiR-126 and other MicroRNAs in type 2 diabetes // *Circ. Res.* – 2010. – Vol. 107, Issue 5. – P. 810–817. – DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.110.226357

103 Ortega F.J., Mercader J.M., Moreno-Navarrete J.M., Rovira O., Guerra, E., Esteve E., Xifra G., Martínez C., Ricart W., Rieusset J., et al. Profiling of circulating microRNAs reveals common microRNAs linked to type 2 diabetes that change with insulin sensitization // *Diabetes Care* – 2014. – Vol. 37, Issue 5.– P. 1375-83. – DOI: 10.2337/dc13-1847.

104 Olivieri F., Spazzafumo L., Bonafè M., Recchioni R. Prattichizzo F., Marcheselli F., Micolucci L., Mensà E., Giuliani A., Santini, G., et al. MiR-21-5p and miR-126a-3p levels in plasma and circulating angiogenic cells: relationship with type

2 diabetes complications. // *Oncotarget* – 2015. – Vol. 6, Issue 34. – P. 35372-35382. – DOI: 10.18632/oncotarget.6164.

105 Seyhan A.A., Nunez Lopez Y.O., Xie H., Yi F., Mathews C., Pasarica M., Pratley R.E. Pancreas-enriched miRNAs are altered in the circulation of subjects with diabetes: A pilot cross-sectional study // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6. – P.1-15. – DOI: 10.1038/srep31479.

106 Baldeón L.R., Weigelt K., De W.H., Ozcan B., Van Oudenaren A. Sempértegui F., Sijbrands E., Grosse L., Freire W., Drexhage H.A., et al. Decreased serum level of miR-146a as sign of chronic inflammation in type 2 diabetic patients // *PLoS One* – 2014. – Vol. 9, Issue 12. – P. 1-16. – DOI: 10.1371/journal.pone.0115209.

107 Jiménez-Lucena R., Rangel-Zúñiga O.A., Alcalá-Díaz J.F., López-Moreno J., Roncero-Ramos I., Molina-Abril H., Yubero-Serrano E.M. Caballero-Villarraso J., Delgado-Lista, J., Castaño, J.P., et al. Circulating miRNAs as Predictive Biomarkers of Type 2 Diabetes Mellitus Development in Coronary Heart Disease Patients from the CORDIOPREV Study // *Mol. Ther. - Nucleic Acids* –2018. – Vol. 12: – P. 146-157. – DOI: 10.1016/j.omtn.2018.05.002.

108 Yang Z.M., Chen L.H., Hong M., Chen Y.Y., Yang X.R., Tang S.M., Yuan Q.F., Chen W.W. Serum microRNA profiling and bioinformatics analysis of patients with type 2 diabetes mellitus in a Chinese population // *Mol. Med. Rep.* – 2017. – Vol. 15, Issue 4. – P. 2143–2153. – DOI.org/10.3892/mmr.2017.6239

109 Karolina D.S., Armugam A., Tavintharan S., Wong M.T.K., Lim S.C., Sum C.F., Jeyaseelan K. MicroRNA 144 impairs insulin signaling by inhibiting the expression of insulin receptor substrate 1 in type 2 diabetes mellitus // *PLoS One.* – 2011. – Vol. 6, Issue 8. – P.1-19. – DOI: 10.1371/journal.pone.0022839.

110 Jeon T.I., Esquejo R.M., Roqueta-Rivera M., Phelan P.E., Moon Y.A., Govindarajan S.S., Esau C.C., Osborne T.F. An SREBP-responsive microRNA operon contributes to a regulatory loop for intracellular lipid homeostasis // *Cell Metab.* – 2013. – Vol. 18, Issue 1 – P.51-61. – DOI.org/10.1016/j.cmet.2013.06.010

111 Ouamari A. E., Baroukh N., Martens G.A., Lebrun P., Pipeleers D., Van Obberghen E. MiR-375 targets 3'-l-Phosphoinositide-Dependent protein Kinase-1 and regulates Glucose-Induced biological responses in pancreatic β -Cells // *Diabetes.* 2008. – Vol. 57, Issue 10. – P. 2708–2717. – DOI.org/10.2337/db07-1614

112 Li Y., Xu X., Liang Y., Liu S., Xiao H., Li F., Cheng H., Fu Z. miR-375 enhances palmitate-induced lipoapoptosis in insulin-secreting NIT-1 cells by repressing myotrophin (V1) protein expression // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2010. – Vol. 3, Issue 3 – P. 254–264

113 Xia H.Q., Pan Y., Peng J., Lu G.X. Over-expression of miR375 reduces glucose-induced insulin secretion in Nit-1 cells // *Mol. Biol. Rep.* – 2011. – Vol. 38, Issue 5. – P.3061-3065. – DOI: 10.1007/s11033-010-9973-9.

114 Meng S., Cao J.T., Zhang B., Zhou Q., Shen C.X., Wang C.Q. Downregulation of microRNA-126 in endothelial progenitor cells from diabetes patients, impairs their functional properties, via target gene Spred-1 // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2012. – Vol. 53, Issue 1. – P. 64–72.

115 Huang M., Que Y., Shen X. Correlation of the plasma levels of soluble RAGE

and endogenous secretory RAGE with oxidative stress in prediabetic patients // *J. Diabetes Complicat.* – 2015. – Vol. 23, Issue 9. – P. 422–426. – DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2014.12.007.

116 Chistiakov D.A., Orekhov A.N., Bobryshev Y.V. The role of miR-126 in embryonic angiogenesis, adult vascular homeostasis, and vascular repair and its alterations in atherosclerotic disease // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2016. – Vol. 97. – P. 47–55. – DOI: 10.1016/j.yjmcc.2016.05.007.

117 Fernandez-Twinn D.S., Alfaradhi M.Z., Martin-Gronert M.S., Duque-Guimaraes D.E., Piekarz A., Ferland-McCollough D., Bushell M., Ozanne S.E. Downregulation of IRS-1 in adipose tissue of offspring of obese mice is programmed cell-autonomously through post-transcriptional mechanisms // *Mol. Metab.* – 2014. – Vol. 3, Issue 3. – P. 325–33. – DOI: 10.1016/j.molmet.2014.01.007.

118 Zhang T., Li L., Shang Q., Lv C.F., Wang C.Y., Su B. Circulating miR-126 is a potential biomarker to predict the onset of type 2 diabetes mellitus in susceptible individuals // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2015. – Vol. 463. – P. 60–63.

119 Al-Kafaji G., Al-Mahroos G., Abdulla Al-Muhtareh, H., Sabry M.A., Abdul Razzak R., Salem A.H. Circulating endothelium-enriched microRNA-126 as a potential biomarker for coronary artery disease in type 2 diabetes mellitus patients // *Biomarkers.* – 2017. – Vol. 22, Issue 3. – 38 p. – DOI.org/10.1080/1354750X.2016.1204004.

120 Zhang W., Wang Y., Kong Y. Exosomes derived from mesenchymal stem cells modulate miR-126 to ameliorate hyperglycemia-induced retinal inflammation via targeting HMGB1 // *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2019. – Vol. 60, Issue 1. – P. 294–303. – DOI: 10.1167/iovs.18-25617.

121 Zhu H., Leung S.W. Identification of microRNA biomarkers in type 2 diabetes: a meta-analysis of controlled profiling studies // *Diabetologia.* – 2015. – Vol. 58, Issue 5. – P. 900–911. – DOI 10.1007/s00125-015-3510-2

122 Olivieri F., Bonafè M., Spazzafumo L., Gobbi M., Praticchizzo F., Recchioni R., Marcheselli F., La Sala L., Galeazzi R., Ripponi M.R., Fulgenzi G., Angelini S., Lazzarini R., Bonfigli A.R., Brugè F., Tiano L., Genovese S., Ceriallo A., Boemi M., Franceschi C., Procopio A.D., Testa R. Age- and glycemia-related miR-126-3p levels in plasma and endothelial cells // *AGING.* – 2014. – Vol. 6, Issue 9. – P. 771–787. – DOI.org/10.18632/aging.100693

123 Togliatto G., Trombetta A., Dentelli P., Gallo S., Rosso A., Cotogni P., Granata R., Falcioni R., Delale T., Ghigo E., Brizzi M.F. Unacylated ghrelin induces oxidative stress resistance in a glucose intolerance and peripheral artery disease mouse model by restoring endothelial cell miR-126 expression // *Diabetes.* – 2015. – Vol. 64, Issue 4. – P. 1370–1382. – DOI.org/10.2337/db14-0991

124 Sekar D., Venugopal B., Sekar P., Ramalingam K. Role of microRNA 21 in diabetes and associated/related diseases // *Gene* – 2016. – Volume 582, Issue 1. – P. 14–18. – DOI: 10.1016/j.gene.2016.01.039.

125 Yang L., Wang B., Zhou Q., Wang Y., Liu X., Liu Z., Zhan Z. MicroRNA-21 prevents excessive inflammation and cardiac dysfunction after myocardial infarction through targeting KBTBD7 // *Cell Death Dis.* – 2018. – Vol. 9, Issue 7. – P. 769. – DOI:

10.1038/s41419-018-0805-5.

126 La Sala L., Mrakic-Sposta S., Tagliabue E., Prattichizzo F., Micheloni S., Sangalli E., Specchia C., Uccellatore A.C., Lupini S., Spinetti G. et al. Circulating microRNA-21 is an early predictor of ROS-mediated damage in subjects with high risk of developing diabetes and in drug-naïve T2D // *Cardiovasc. Diabetol.* – 2019. – Vol. 18. – P. 1–12. – DOI: 10.1186/s12933-019-0812-6

127 Meerson A., Najjar A., Saad E., Sbeit W., Barhoum M., Assy N. Sex Differences in Plasma MicroRNA Biomarkers of Early and Complicated Diabetes Mellitus in Israeli Arab and Jewish Patients // *Non-Coding RNA.* – 2019. – Vol. 5, Issue 2. – P.1-11. – DOI: 10.3390/ncrna5020032.

128 Jakubczyk K., Dec K., Kałduńska J., Kawczuga D., Kochman J., Janda K. Reactive oxygen species - sources, functions, oxidative damage // *Pol Merkur Lekarski.* – 2020. – Vol. 48, Issue 284. – P. 124-127.

129 Bai B., Yang Y., Wang Q., Li M., Tian C., Liu Y., Aung H.H., Li P.F., Yu T., Chu X.M. NLRP3 inflammasome in endothelial dysfunction // *Cell Death Dis.* 2020. – Vol. 11, Issue 9. – 776 p. – DOI: 10.1038/s41419-020-02985-x.

130 Ye Z.W., Zhang J., Townsend D.M., Tew K.D. Oxidative stress, redox regulation and diseases of cellular differentiation // *Biochim Biophys Acta.* – 2015. – Vol. 50, Issue 8. – P. 1607-1621. – doi: 10.1016/j.bbagen.2014.11.010.

131 Аметов А.С. Сахарный диабет 2 типа. Проблемы и решения. 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЕОТАР-Медиа, – 2013. – 1032 с.

132 Pitocco D., Zaccardi F., Di Stasio E. Oxidative stress, nitricoxide, and diabetes // *Rev Diabet Stud.* – 2010. – Vol. 7, Issue 1. – P. 15–25. – DOI: 10.1900/RDS.2010.7.15

133 Giovanni C., Daniela C., Rossella S., Guido G., Ersilia S., Dario P., Nicolina C., Antonio C., Giuliana Del C., Antonino S., Domenico S. Association of Higher Advanced Oxidation Protein Products (AOPPs) Levels in Patients with Diabetic and Hypertensive Nephropathy // *Medicina.* – 2019. – Vol. 55, Issue 10. –675 p. – DOI.org/10.3390/medicina55100675

134 Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Иванов В.В., Носарева О.Л., Дзюман А.Н., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. Свободнорадикальное окисление белков и липидов в адипоцитах в условиях окислительного стресса // *Молекулярная медицина Молекулярная медицина.* – 2014. №1. – С.59-64.

135 Giuseppe M., Bareket D., Ofir C., Yossef A., Shlomo S. Hormetic and regulatory effects of lipid peroxidation mediators in pancreatic beta cells // *Molecular Aspects of Medicine.*– 2016. – Vol. 49 – P. 49–77.

137 Savita B., Diwesh C., Manushi S., Basu D.B., Sri V. M., Ashok K. T. A study on serum advanced glycation end products and its association with oxidative stress and paraoxonase activity in type 2 diabetic patients with vascular complications // *Clinical Biochemistry.* – 2013. – Vol. 46, Issue 1. – P. 109–114. – DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2012.10.019.

138 Pisoschi A.M., Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. // *Eur J Med Chem.* – 2015. –Vol. 97. – P. 55-74. – DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040.

- 139 Мазо В.К., Гмошинский И.В., Ширина Л.И. Новые пищевые источники эссенциальных микроэлементов - антиоксидантов. – М.: Миклош, 2009. – 208 с.
- 140 Tavares A.M., Silva J.H., Bensusan C.O., et al. Altered superoxide dismutase-1 activity and intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) levels in patients with type 2 diabetes mellitus // PLoS One. – 2019. – Vol. 14, Issue 5. – P. 1-10. – DOI: 10.1371/journal.pone.0216256
- 141 Chen J., Wang Q., Li R., Li Z., Jiang Q., Yan F., Ye J. The role of sirtuins in the regulatin of oxidative stress during the progress and therapy of type 2 diabetes mellitus // Life Sci. – 2023. – Vol. 333. – P. 122187. – DOI: 10.1016/j.lfs.2023.122187.
- 142 Vašková J., Kočan L., Vaško L., Perjési P. Glutathione-Related Enzymes and Proteins: A Review // Molecules. – 2023. – Vol. 28, Issue 3. – P. 1447. – DOI: 10.3390/molecules28031447.
- 143 Minich D.M., Brown B.I. A Review of Dietary (Phyto)Nutrients for Glutathione Support // Nutrients. – 2019. – Vol.11. – P. 2073. – <https://doi.org/10.3390/nu11092073>
- 144 Averill-Bates D.A. The antioxidant glutathione // Vitam Horm. – 2023. – Vol.121. – P. 109-141. – DOI: 10.1016/bs.vh.2022.09.002.
- 145 Volodymyr I.L. Glutathione Homeostasis and Functions: Potential Targets for Medical Interventions // Journal of Amino Acids. – 2012. – 26 p.– DOI:10.1155/2012/736837
- 146 Ferreira M.J., Rodrigues T.A., Pedrosa A.G., Silva A.R., Vilarinho B.G., Francisco T., Azevedo J.E. Glutathione and peroxisome redox homeostasis // Redox Biol. – 2023. – Vol.67. – P. 102917. – DOI: 10.1016/j.redox.2023.102917.
- 147 Kalousova M., Skrha J., Zima T. Advanced glycation end- products and advanced oxidation protein products in patients with diabetes mellitus // Physiological Research. – 2002. – Vol. 51, Issue 6. – P. 597–604.
- 148 Sies H., Berndt C., Jones D.P. Oxidative Stress // Annu Rev Biochem. –2017. –Vol. 86. – P. 715-748. – DOI: 10.1146/annurev-biochem-061516-045037.
- 149 Ge T., Yang J., Zhou S., Wang Y., Li Y., Tong X. The Role of the Pentose Phosphate Pathway in Diabetes and Cancer // Front Endocrinol (Lausanne). – 2020. – Vol.1(365). – P. 1-11. – DOI: 10.3389/fendo.2020.00365.
- 150 Darenskaya M.A., Kolesnikova L.I., Kolesnikov S.I. Oxidative Stress: Pathogenetic Role in Diabetes Mellitus and Its Complications and Therapeutic Approaches to Correction // Bull Exp Biol Med. – 2021. – Vol.171, Issue 2. – P.179-189. DOI: 10.1007/s10517-021-05191-7.
- 151 Duisenbek A., Lopez-Armas G.C., Pérez M., Avilés Pérez M.D., Aguilar Benitez J.M., Pereira Pérez V.R., Gorts Ortega J., Yessenbekova A., Ablaihanova N., Escames G., et al. Insights into the role of plasmatic and exosomal microRNAs in metabolic diseases oxidative stress-related // Antioxidants 2023, – Vol.12, No 6, – P.1290. <https://doi.org/10.3390/antiox12061290>
- 152 Deng L., Du C., Song P., Chen T., Rui S., Armstrong D.G., Deng W. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetic Wound Healing // Oxid Med Cell Longev. – 2021. 8852759. – DOI: 10.1155/2021/8852759.

153 Ighodaro O.M. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother.* – 2018 – Vol. 108. –P. 656-662. – DOI: 10.1016/j.biopha.2018.09.058.

154 Mwiti K.C., Jide A.A. The Biochemical Role of Macro and Micro-Minerals in the Management of Diabetes Mellitus and its Associated Complications: A Review // *Int J Vitam Nutr Res.* – 2015. – Vol. 85(1-2). – P.88-103. DOI: 10.1024/0300-9831/a000226.

155 Pisoschi A.M., Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review // *Eur J Med Chem.* – 2015. – Vol. 97. – P. 55-74. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040.

156 Ighodaro O.M. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus // *Biomed Pharmacother.* – 2018 – Vol. 108. – P. 656-662. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.09.058.

157 Nordmann T.M., Dror E., Schulze F., Traub S., Berishvili E., Barbieux C., Böni-Schnetzler M., Donath M.Y. The Role of Inflammation in β -cell Dedifferentiation // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol.7. – P. 6285.

158 Malenica M., Šilar M., Dujčić T., Bego T., Semiz S., Škrbo S., Prnjavorac B., Čaušević A. Importance of inflammatory markers and IL-6 for diagnosis and follow up of patients with type 2 diabetes mellitus // *Med Glas (Zenica).* – 2017. – Vol.14. Issue 2. – P. 169-175. – DOI: 10.17392/920-17.

159 Tan Q., Huang Q., Ma Y.L., Mao K., Yang G., Luo P., Ma G., Mei P., Jin Y. Potential roles of IL-1 subfamily members in glycolysis in disease. *Cytokine Growth Factor // Rev.* – 2018. – Vol. 44. – P. 18-27. – DOI: 10.1016/j.cytogfr.2018.11.001.

160 Hameed I., Masoodi S.R., Mir S.A., Nabi M., Ghazanfar K., Ganai B.A. Type 2 Diabetes Mellitus: From a Metabolic Disorder to an Inflammatory Condition // *World J. Diabetes* – 2015. – Vol.6. – P. 598–612.

161 Dong C. Cytokine Regulation and Function in T Cells // *Annu Rev Immunol.* – 2021. – Vol.39. – P. 51-76. – DOI: 10.1146/annurev-immunol-061020-053702.

162 Luc K., Schramm-Luc A., Guzik T.J., Mikolajczyk T.P. Oxidative stress and inflammatory markers in prediabetes and diabetes // *J Physiol Pharmacol.* – 2019. – Vol. 70, Issue 6. – P. 809-824. DOI: 10.26402/jpp.2019.6.01.

163 Walter M.R. The Role of Structure in the Biology of Interferon Signaling. // *Front Immunol.* – 2020. – Vol.11. – P.1-12. DOI: 10.3389/fimmu.2020.606489.

164 Ma Y., Ren Y., Dai Z.J., Wu C.J., Ji Y.H., Xu J. IL-6, IL-8 and TNF- α levels correlate with disease stage in breast cancer patients // *Adv Clin Exp Med.* – 2017 – Vol. 26, Issue 3. – P. 421-426. DOI: 10.17219/acem/62120.

165 Josephs S.F., Ichim T.E., Prince S.M., Kesari S., Marincola F.M., Escobedo A.R., Jafri A. Unleashing endogenous TNF-alpha as a cancer immunotherapeutic // *J Transl Med.* – 2018. – Vol.16, Issue 242. – P. 1-8. DOI: 10.1186/s12967-018-1611-7.

166 Wronka M., Krzemińska J., Młynarska E., Rysz J., Franczyk B. The Influence of Lifestyle and Treatment on Oxidative Stress and Inflammation in Diabetes // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2022. – Vol. 23, Issue 24. – P.1-19. DOI: 10.3390/ijms232415743.

167 Persic V., Bastiancic A.L., Rosovic I., Rajjevic D., Samsa D.T., Bastiancic L., Miskulin R., Boban M., Laskarin G. Correlation between immunological-inflammatory markers and endothelial dysfunction in the early stage of coronary heart disease // *Med Hypotheses*. – 2018. – Vol.115. – P.72-76. DOI: 10.1016/j.mehy.2018.04.001.

168 Chen L., Deng H., Cui H., Fang J., Zuo Z., Deng J., Li Y., Wang X., Zhao L. Inflammatory Responses and Inflammation-Associated Diseases in Organs // *Oncotarget*. – 2017. – Vol.9. – P. 7204–7218.

169 Frostegård J. Immune Mechanisms in Atherosclerosis, Especially in Diabetes Type 2 // *Front. Endocrinol*. – 2013. – Vol. 4. – P. 162.

170 Weiyi C., Cailing Q., Hongyu Zh., Xiangyun Ch., Xuan Zh., Qingyong M., Jun W. Detection of circulating natural antibodies to inflammatory cytokines in type-2 diabetes and clinical significance // *Cai et al. Journal of Inflammation*. – 2017. – Vol.14. – P. 24.

171 American Diabetes Association. 2 Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in diabetes-2021 // *Diabetes Care* – 2021. – Vol. 44. Suppl. 1. – P. 15–33. – DOI.org/10.2337/dc21-S002

172 Nachimuthu Maithili K.S., Sivakumar N., Varatharajan S., Shanmugam L., Abu R.S., Saravanan S. Association of Triglyceride–Glucose Index (TyG index) with HbA1c and Insulin Resistance in Type 2 Diabetes // *Mellitus. MAEDICA – a Journal of Clinical Medicine* – 2021. – Vol. 16, Issue.3. – P. 375-381. – DOI: 10.26574/maedica.2021.16.3.375

173 Пупкова В.И. Определение гемоглобина в крови. Информационно-методическое пособие Кольцово, Новости “Вектор-Бест”. – 2001. – С. 4. http://www.technomedica.ru/site_files/docs/books/2-Pup.pdf

174 Hadwan M.H., Abed H.N. Data supporting the spectrophotometric method for the estimation of catalase activity // *Data in Brief*. – 2016. – Vol. 6. – P. 194–199.

175 Misra H.P., Fridovich I. The generation of Superoxide Radicla during the Autoxidation of Hemoglobin // *J Biological Chemistry*. – 1972. – Vol. 247, Issue 21. – P. 6960-6962.

176 Hissin P.J., Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues // *Anal. Biochem*. – 1976. – Vol. 74. – P. 214–226.

177 Dolphin D., Poulson R., Avramovic O. Glutathione: Chemical, Biochemical and Metabolic Aspects // *J. Wiley and Sons*. – 1989. – Vol.A and B. – P. 848. – DOI.org/10.1016/0014-5793(90)80739-6

178 Jaskot R.H., Charlet E.G., Grose E.C., Grady M.A., Roycroft J.H. An automatic analysis of glutathione peroxidasa, glutathione-S-transferase, and reductase activity in animal tissue // *Journal of Analytical Toxicology*. – 1983. – Vol. 7, Issue 2. – P. 86 – 88. – DOI:10.1093/JAT/7.2.86

179 Dolphin D., Poulson R., Avramovic O. Glutathione: Chemical, Biochemical and Metabolic Aspects // *J. Wiley and Sons*. – 1989. – Vol. A and B. – P. 848. – DOI.org/10.1016/0014-5793(90)80739-6

180 Lian-Jiu S., Jia-Hao Zh., Hernando G., Raghavan M., Xing H., Dongxue X., Fan J., Zhi-Yong P. Reactive Oxygen Species-Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis,

Autophagy, and Ferroptosis // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2019. – P. 4. – DOI.org/10.1155/2019/5080843

181 Esterbauer H., Cheeseman K.H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal // *Methods Enzymol.* – 1990. – Vol. 186. – P. 407– 421. – DOI: 10.1016/0076-6879(90)86134-h.

182 Witko-Sarsat V., Friedlander M., Capeillère-Blandin C., Nguyen-Khoa T., Nguyen A.T., Zingraff J., Jungers P., Descamps L.B. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia // *Kidney Int.* – 1996. – Vol. 49. – P. 1304 – 1313.

183 Pandey K.B., Mishra N., Rizvi S.I. Protein oxidation biomarkers in plasma of type 2 diabetes patients // *Clinical Biochemistry* – 2010. – Vol. 43, Issue 4. – P. 508-511. – DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2009.11.011

184 Zhang T., Lv C., Li L., et al. Plasma miR-126 is a potential biomarker for early prediction of type 2 diabetes mellitus in susceptible individuals // *Biomed Res Int.* – 2013. – 6 p. – DOI.org/10.1155/2013/761617

185 Emma L.T., Kenneth R.A., David P., Andrew T.H., Paul G.W. Optimisation of an Advanced Oxidation Protein Products Assay: Its Application to Studies of Oxidative Stress in Diabetes Mellitus // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2015. – 10 p. – DOI.org/10.1155/2015/496271

186 Giacco F., Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications // *Circulation Research*. – 2010. – Vol.107, Issue.9. – P. 1058–1070. – DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.110.223545.

187 Abou-Seif M.A., Youssef A.A. Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients // *Clinica Chimica Acta*. – 2004. – Vol. 346, Issue. 2. – P. 161–170. – DOI:10.1016/J.CCCN.2004.03.030

188 Kalousova M., Fialova L., Skrha J. Zima T., Soukupová J., Malbohan I. M., Štípek S. Oxidative stress, inflammation and autoimmune reaction in type 1 and type 2 diabetes mellitus // *Prague Medical Report*. – 2004. – Vol. 105, Issue.1. – P. 21– 28.

189 Jakus V., Sandorova E., Kalninova J., Krahulec B. Monitoring of glycation, oxidative stress and inflammation in relation to the occurrence of vascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus // *Physiological Research*. – 2014. – Vol. 63, Issue. 3. – P. 297– 309. – DOI: 10.33549/physiolres.932672.

190 Koçak H., Oner-Iyidoğan Y., Gürdöl F., Oner P., Süzme R., Esin D., Işsever H. Advanced oxidation protein products in obese women: its relation to insulin resistance and resistin // *Clinical and Experimental Medicine*. – 2007. – Vol. 7, Issue. 4. – P. 173–178. – DOI: 10.1007/s10238-007-0143-x.

191 Bansal S., Chawla D., Siddarth M., Banerjee B.D., Madhu S.V., Tripathi A.K. A study on serum advanced glycation end products and its association with oxidative stress and paraoxonase activity in type 2 diabetic patients with vascular complications // *Clinical Biochemistry*. – 2013. – Vol. 46, Issue. 1-2. – P. 109–114. – DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2012.10.019.

192 Pan H.Z., Zhang L., Guo M.Y. The oxidative stress status in diabetes mellitus and diabetic nephropathy // *Acta Diabetologica*. – 2010. – Vol. 47, Issue. 1. – P. 71–76. – DOI: 10.1007/s00592-009-0128-1.

193 Tabak O., Gelisgen R., Erman H., Erdenen F., Muderrisoglu C., Aral H., Uzun H. Oxidative lipid, protein, and DNA damage as oxidative stress markers in vascular complications of diabetes mellitus // *Clinical & Investigative Medicine*. – 2011. – Vol. 34, Issue. 3. – P. 163–171. – DOI: 10.25011/cim.v34i3.15189.

194 Piwowar A., Knapik-Kordecka M., Szczecinska J., Warwas M. Plasma glycooxidation protein products in type 2 diabetic patients with nephropathy // *Diabetes Metabolism Research and Reviews*. – 2008. – Vol. 24, Issue. 7. – P. 549–553. – DOI: 10.1002/dmrr.885.

195 Борисенок О.А., Бушма М.И., Басалай О.Н., Радковец А.Ю. Биологическая роль глутатиона // *Медицинские новости*. – 2019. – №7. – С. 3–8.

196 Ахминеева А.Х., Полунина О.С., Севостьянова И.В., Воронин Л.П. Патогенетические особенности дисфункции эндотелия при респираторно-кардиальной коморбидности // *Кубан. науч. мед. вестн.* – 2014. – № 4 (146). – С. 11–15.

197 Kanwal R., Muhammad Sajid H.A., Aamira L., Shagufta K., Muhammad I.Q., Akhtar R. Role of Interleukin-6 in Development of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes Mellitus // *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*. – 2017. – Vol. 27, Issue 3. – P. 229 – 236. – DOI: 10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2017019712.

198 Conti P., Kempuraj D., Frydas S., Kandere K., Boucher W., Letourneau R., Theoharides T.C. IL-10 subfamily members: IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 and IL-26 // *Immunology Letters*. – 2003. – Vol. 88, Issue 3. – P. 171–174. – DOI:10.1016/s0165-2478(03)00087-7

199 De Melo P, Pineros Alvarez A.R., Ye X., Blackman A., Alves-Filho J.C., Medeiros A.I., Rathmell J., Pua H., Serezani C.H. Macrophage-Derived MicroRNA-21 Drives Overwhelming Glycolytic and Inflammatory Response during Sepsis via Repression of the PGE 2 /IL-10 Axis // *J. Immunol.* – 2021. – Vol. 207, Issue 3. – P. 902–912. – DOI 10.4049/jimmunol.2001251

200 Paneni F., Costantino S., Volpe M., Lüscher T.F., Cosentino F. Epigenetic signatures and vascular risk in type 2 diabetes: a clinical perspective // *Atherosclerosis*. – 2013. – Vol. 230, Issue 2. – P. 191–197. – DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.07.003

201 Xue Z., Xi Q., Liu H., Guo X., Zhang J., Zhang Z., Li Y., Yang G., Zhou D., Yang H., et al. miR-21 promotes NLRP3 inflammasome activation to mediate pyroptosis and endotoxic shock // *Cell Death Dis.* – 2019. – Vol. 10, Issue 6. – 461 p. – DOI: 10.1038/s41419-019-1713-z.

202 Yazdanpanah Z., Kazemipour N., Kalantar S.M., Vahidi Mehrjardi M.Y. Plasma miR-21 as a potential predictor in prediabetic individuals with a positive family history of type 2 diabetes mellitus // *Physiol. Rep.* – 2022. – Vol. 10, Issue 2. –P. 1-9. – DOI: 10.14814/phy2.15163.

203 Jiang Q., Lyu X.M., Yuan Y., Wang L. Plasma miR-21 expression: An indicator for the severity of Type 2 diabetes with diabetic retinopathy // *Biosci. Rep.* – 2017. – Vol. 37, Issue 2. – P. 1–22. – DOI: 10.1042/BSR20160589.

204 Ding X., Jing N., Shen A., Guo F., Song Y., Pan M., Ma X., Zhao L., Zhang H., Wu L. et al. MiR-21-5p in macrophage-derived extracellular vesicles affects podocyte pyroptosis in diabetic nephropathy by regulating A20 // *J. Endocrinol.*

Investig. – 2021. – Vol. 44, Issue 6. – P. 1175-1184. – DOI: 10.1007/s40618-020-01401-7.

205 Sims E.K., Lakhter A.J., Anderson-Baucum E., Kono T., Tong X., Evans-Molina C. MicroRNA 21 targets BCL2 mRNA to increase apoptosis in rat and human beta cells. // *Diabetologia* – 2017. – Vol. 60, Issue 6. – P. 1057–1065. – DOI:10.1007/s00125-017-4237-z

206 Olivieri F., Rippo M.R., Procopio A.D., Fazioli F. Circulating inflammatory miRs in aging and age-related diseases // *Front. Genet.* – 2013. – Vol. 4. – 121 p. – DOI.org/10.3389/fgene.2013.00121

207 La Sala L., Mrakic-Spota S., Micheloni S., Prattichizzo F., Ceriello A. Glucose-sensing microRNA-21 disrupts ROS homeostasis and impairs antioxidant responses in cellular glucose variability // *Cardiovascular Diabetology*. – 2018. – Vol. 17, Issue 1. – P.1-14. – DOI: 10.1186/s12933-018-0748-2.

208 Li J.X., Li Y., Xia T., Rong F.Y. miR-21 Exerts Anti-proliferative and Proapoptotic Effects in LPS-induced WI-38 Cells via Directly Targeting TIMP3. // *Cell Biochem. Biophys.* – 2021. – Vol. 79, Issue 4. – P. 781–790. – DOI: 10.1007/s12013-021-00987-w

209 Harris T.A., Yamakuchi M., Ferlito M., Mendell J.T., Lowenstein C.J. MicroRNA-126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* – 2008. – Vol. 105, Issue 5. – P. 1516 –1521. – DOI: 10.1073/pnas.0707493105

210 Gora I.M., Ciechanowska A., Ladyzynski P. NLRP3 inflammasome at the interface of inflammation, endothelial dysfunction, and type 2 diabetes // *Cells* – 2021. – Vol. 10, Issue 2. – 314 p. – DOI: 10.3390/cells10020314.

211 Venkat P., Cui C., Chopp M., Zacharek A., Wang F., Landschoot-Ward, J., Shen Y., Chen J. MiR-126 mediates brain endothelial cell exosome treatment-induced neurorestorative effects after stroke in type 2 diabetes mellitus mice // *Stroke* – 2019. – Vol. 50, Issue 10. – P. 2865–2874. – DOI: 10.1161/STROKEAHA.119.025371.

212 Liang M., Wang J., Xie C., Yang Y., Tian J.W., Xue Y.M., Hou F.F. Increased plasma advanced oxidation protein products is an early marker of endothelial dysfunction in type 2 diabetes patients without albuminuria // *J. Diabetes*. – 2014. Vol. 6, Issue 5. – P. 417–426. – DOI: 10.1111/1753-0407.12134.

213 Potra A.R., Kacso T.P., Gavrilas A.M., Rusu C.C., Rusu C.C., Rusu C.C., Moldovan D., Bondor C.I., Tirinescu D., Coman L.A., et al. SP457Adiponectin Is Related to Markers of Endothelial Dysfunction and Neoangiogenesis in Diabetic Patients // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2018. – Vol 33, Issue 1. 501 p. – DOI.org/10.1093/ndt/gfy104.SP457

214 Chawla D., Bansal S., Banerjee B.D., Madhu S.V., Kalra O.P., Tripathi A.K. Role of advanced glycation end product (AGE)- induced receptor (RAGE) expression in diabetic vascular complications // *Microvasc. Res.* – 2014. – Vol. 95. –P. 1–6.

215 Heidari F., Rabizadeh S., Ali Mansournia M., Mirmiranpoor H., Salehi S.S., Akhavan S., Esteghamati A., Nakhjavani M. Inflammatory, oxidative stress and anti-oxidative markers in patients with endometrial carcinoma and diabetes // *Cytokine*. – 2019. – Vol.120. – P.186–190. – DOI: 10.1016/j.cyto.2019.05.007.

216 Li X., Zhang T., Geng J., Wu Z., Xu L., Liu J., Tian J., Zhou Z., Nie J., Bai X. Advanced oxidation protein products promote lipotoxicity and tubulointerstitial fibrosis via CD36/ - Catenin pathway in diabetic nephropathy // *Antioxid. Redox Signal.* – 2019. – Vol.31, Issue 7. – P. 521–538. – DOI: 10.1089/ars.2018.7634.

217 Gunawardena H.P., Silva R., Sivakanesan R., Ranasinghe P, Katulanda P. Poor Glycaemic Control Is Associated with Increased Lipid Peroxidation and Glutathione Peroxidase Activity in Type 2 Diabetes Patients // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2019. – P. 1-10. DOI: 10.1155/2019/9471697.

218 Jiménez-Osorio A.S., Picazo A., González-Reyes S., Barrera-Oviedo D., Rodríguez-Arellano M.E., Pedraza-Chaverri J. Nrf2 and Redox Status in Prediabetic and Diabetic Patients // *Int. J. Mol. Sci.* – 2014. – Vol.15, Issue 11. – P. 20290–20305. – DOI: 10.3390/ijms151120290.

219 Huang M., Que Y., Shen X. Correlation of the plasma levels of soluble RAGE and endogenous secretory RAGE with oxidative stress in prediabetic patients. // *J. Diabetes Complicat.* – 2015. – Vol. 29, Issue 3 – P. 422 - 426. – DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2014.12.007.

220 Strom A., Kaul K., Brüggemann J., Ziegler I., Rokitta I., Püttgen S., Szendroedi J., Müssig K., Roden M., Ziegler D. Lower serum extracellular superoxide dismutase levels are associated with polyneuropathy in recent-onset diabetes // *Exp. Mol. Med.* – 2017. – Vol. 49, Issue 11. – P. 394. – DOI: 10.1038/emm.2017.173.

221 Muniroh M., Nindita Y., Karlowee V., Purwoko Y., Rahmah N.D., Widyowati R., Suryono S. Effect of garcinia mangostana pericarp extract on glial nf- κ levels and expression of serum inflammation markers in an obese-type 2 diabetes mellitus animal model // *Biomed. Rep.* – 2021. – Vol. 15, Issue 1. – 63 p. – DOI: 10.3892/br.2021.1439.

222 Gaetani G.F., Ferraris A.M., Rolfo M., Mangerini R., Arena S., Kirkman H.N. Predominant Role of Catalase in the Disposal of Hydrogen Peroxide Within Human Erythrocytes // *Blood.* – 1996. – Vol. 87, Issue 4. – P. 1595–1599.

223 Bhatia S., Shukla R., Madhu S.V., Gambhir J.K., Prabhu K.M. Antioxidant status, lipid peroxidation and nitric oxide end products in patients of type 2 diabetes mellitus with nephropathy // *Clin. Biochem.* – 2003. – Vol.36, Issue 7. – P. 557–562. – DOI: 10.1016/s0009-9120(03)00094-8.

224 Hadwan M.H., Altuhafi A., Altun M. The Correlation between Selenium-Dependent Glutathione Peroxidase Activity and Oxidant/Antioxidant Balance in Sera of Diabetic Patients with Nephropathy // *Rep. Biochem. Mol. Biol.* – 2021. – Vol. 10, Issue 2. – P.164-172. – DOI: 10.52547/rbmb.10.2.164.

225 Malik A., Morya R.K., Saha S., Singh P.K., Bhadada S.K., Rana S.V. Oxidative stress and inflammatory markers in type 2 diabetic patients // *Eur. J. Clin. Investig.* – 2020. – Vol. 50. – P. 2–7.

226 Bigagli E., Lodovici M. Circulating Oxidative Stress Biomarkers in Clinical Studies on Type 2 Diabetes and Its Complications // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2019. – P.17.– DOI: 10.1155/2019/5953685.

227 Gawlik K., Naskalski J.W., Fedak D., Pawlica-Gosiewska D., Grudzien U., Dumnicka P., Mabecki M.T., Solnica B. Markers of Antioxidant Defense in Patients

with Type 2 Diabetes // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2016. – P. 1-6. – <https://doi.org/10.1155/2016/2352361>

228 Picu A., Petcu L., Stefan S., Mitu M., Lixandru D., Ionescu-Tîrgoviste C., Pîrcalabioru G.G., Ciulu-Costinescu F., Bubulica M.V., Chifiriuc M.C. Markers of oxidative stress and antioxidant defense in romanian patients with type 2 diabetes mellitus and obesity // *Molecules.* – 2017. – Vol. 22. – 714 p. – DOI:10.3390/molecules22050714

229 Agarkov A.A., Popova T.N., Verevkin A.N., Matasova L.V. Activity of the glutathione antioxidant system and NADPH generating enzymes in blood serum of rats with type 2 diabetes mellitus after administration of melatonin-correcting drugs // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2014. – Vol. 157, Issue 2. – P. 198–201. – DOI: 10.1007/s10517-014-2524-y.

230 Seo J.A., Jung S.H., Jeon H.Y., Lee Y.J., Lee J.Y., Han E.T., Park W.S., Hong S.H., Kim Y.M., Ha K.S. Activity-expression profiling of glucose-6-phosphate dehydrogenase in tissues of normal and diabetic mice // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2020. – Vol. 524, Issue 3. – P. 750–755. – DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.01.165.

231 López-Armas G.C., Yessenbekova A., González-Castañeda R.E., Arellano-Arteaga K.J., Guerra-Librero A., Ablaihanova N., Florido J., Escames G., Acuña-Castroviejo D., Rusanova I. Role of c-miR-21, c-miR-126, Redox Status, and Inflammatory Conditions as Potential Predictors of Vascular Damage T2DM Patients // *Antioxidants* 2022, – Vol.11, No 9. – P. 1675. DOI:10.3390/antiox11091675

332 Rovira-Llopis, S., Apostolova N., Bañuls C., Muntané J., Rocha M., Victor, V.M. Mitochondria, the NLRP3 inflammasome, and sirtuins in type 2 diabetes: New therapeutic targets. *Antioxid. Redox Signal.* – 2018. – Vol.29. – P.749–791.

233 Darwish N.M., Elnahas Y.M., AlQahtany F.S. Diabetes induced renal complications by leukocyte activation of nuclear factor -B and its regulated genes expression. // *Saudi J. Biol. Sci.* – 2021. – Vol. 28, Issue 1. – P. 541–549. – DOI: 10.1016/j.sjbs.2020.10.039.

234 Rehman K., Akash M.S.H., Liaqat A., Kamal S., Qadir M.I., Rasul A. Role of interleukin-6 in development of insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. // *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* – 2017. – Vol. 27. Issue 3. – P. 229–236. – DOI: 10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2017019712.

235 Wang Y., Zhai W.L., Yang Y.W. Association between NDRG2/IL-6/STAT3 signaling pathway and diabetic retinopathy in rats // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2020. – Vol. 24, Issue 7. – P. 3476–3484. – DOI: 10.26355/eurrev_202004_20806.

236 Shinouchi R., Shibata K., Hashimoto T., Jono S., Hasumi K., Nobe K. SMTP-44D improves diabetic neuropathy symptoms in mice through its antioxidant and anti-inflammatory activities // *Pharmacol. Res. Perspect.* – 2020. – Vol. 8, Issue 6. – P. 1-13. – DOI: 10.1002/prp2.648.

ҚОСЫМША А

Зерттеуге қатысуға берілетін ақпараттық келісім

COMITÉ ETICO DE INVESTIGACION CLÍNICA

2019-
2020

Título del Estudio: *Determinación de los MicroRNAs circulantes y el estado Redox como biomarcadores y predictores de la gravedad de Diabetes Mellitus Tipo II en pacientes adultos del estado de Jalisco, México.*

HOJA DE INFORMACION AL PACIENTE O PARTICIPANTE

Objetivos.

La Universidad de Guadalajara, Mexico, y la Universidad de Granada, España, unen sus esfuerzos para realizar un estudio sobre la diabetes mellitus tipo II (T2DM). Esta enfermedad afecta a un gran número de personas en todo el mundo. Durante varios años la persona puede permanecer sin síntomas, mientras la enfermedad está produciendo daños significativos en el organismo, afectando a varios órganos. Enfermedad cardiovascular es la complicación de mayor prevalencia relacionada con la diabetes y alrededor del 75% de los pacientes diabéticos mueren debido a las consecuencias cardiovasculares incluyendo la afectación de las arterias coronarias. El propósito general del estudio es analizar las moléculas que podrían servir como posibles marcadores de la T2DM y predictores de las complicaciones relacionadas con la salud cardiovascular.

Los microRNAs son reconocidos como una nueva clase de biomarcadores que tienen una alta especificidad para el estado de la enfermedad y pueden considerarse unos buenos indicadores de patogénesis y progresión de la enfermedad. En este estudio se pretende analizar la expresión de los miRNAs relacionados con el metabolismo de glucosa y la disfunción endotelial en pacientes mejicanos diagnosticados con DM2 al menos 5 años previos a la extracción de sangre. Además, se evaluará el estado oxidativo e inflamatorio de los participantes, y se hará la correlación entre el estado de su salud cardiovascular y los parámetros analizados.

Metodología empleada

Si usted acepta participar en el estudio, ocurrirá lo siguiente:

Usted será citado a un centro hospitalario, indicado por el personal especializado. Deberá acudir en ayunas. El personal cualificado del laboratorio clínico le sacará una muestra de sangre de aproximadamente 8 ml, utilizando tubos EDTA-Na₂. La sangre se guardará a 4°C y se utilizará para los análisis descritos en este estudio, con fines de investigación.

Se le preguntará sobre el tiempo que lleva después de que fue diagnosticado de diabetes tipo II, y si tiene alguna complicación de tipo cardiovascular: tensión arterial alta, insuficiencia cardíaca, arritmia diagnosticada, cardiopatía coronaria, accidente cerebrovascular. Si toma de forma habitual algún tipo de medicamento prescrito.

Su participación no tiene ningún tipo de riesgo para la salud.

A cambio, los **beneficios** esperados son:

CONSENTIMIENTO POR ESCRITO DEL REPRESENTANTE

Título del estudio: Determinación de los MicroRNAs circulantes y el estado Redox como biomarcadores y predictores de la gravedad de Diabetes Mellitus Tipo II en pacientes adultos del estado de Jalisco, México.

Yo, (nombre y apellidos), con D.N.I. n°.....

en calidad de (relación con el participante)

de (nombre del participante)

He hablado con el investigador responsable del estudio.....

.....

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio. /profesional responsable del estudio

He recibido respuestas satisfactorias a mis preguntas.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

Comprendo que la participación es voluntaria.

Comprendo que puede retirarse del estudio:

4. Cuando quiera.
5. Sin tener que dar explicaciones.
6. Sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.

Y presto mi conformidad con que (nombre del participante)

..... **participe en este estudio.**

Fecha

Firma del representante

**Fecha
D.N.I.**

Firma del profesional responsable del estudio y

CONSENTIMIENTO POR ESCRITO DEL PACIENTE O PARTICIPANTE

Título del estudio: Determinación de los MicroRNAs circulantes y el estado Redox como biomarcadores y predictores de la gravedad de Diabetes Mellitus Tipo II en pacientes adultos del estado de Jalisco, México.

Yo, (nombre y apellidos), con D.N.I. nº.....

He hablado con el profesional responsable del estudio

.....
.....

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1. Cuando quiera.
2. Sin tener que dar explicaciones.
3. Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Las muestras obtenidas en este estudio sólo serán utilizadas para los fines específicos del mismo.

Fecha

Firma del paciente o participante

Fecha

Firma del profesional responsable del estudio y D.N.I.

En primer lugar, aportará una información valiosa para la comunidad científica sobre el pronóstico de T2DM en el tema de salud cardiovascular. Conocerá de forma general sobre el estado oxidativo e inflamatorio de su organismo en el momento de toma de muestra (se le entregará un informe escrito sobre estos parámetros).

Su **participación es voluntaria** (muy importante) y tendrá la posibilidad de revocar su consentimiento, en cualquier momento, y sin necesidad de tener que dar explicaciones.

Confidencialidad: Toda la información que Usted nos proporcione para el estudio será de carácter estrictamente confidencial, será utilizada únicamente por el equipo de investigación del proyecto y no estará disponible para ningún otro propósito. Usted quedará identificado(a) con un número y no con su nombre. Los resultados de este estudio serán publicados con fines científicos, pero se presentarán de tal manera que no podrá ser identificado(a).

Participación Voluntaria/Retiro: La participación en este estudio es absolutamente voluntaria. Usted está en plena libertad de negarse a participar o de retirar su participación del mismo en cualquier momento. Su decisión de participar o de no participar no le afectará de ninguna manera.

Números a Contactar: Si usted tiene alguna pregunta, comentario o preocupación con respecto al proyecto, por favor comuníquese con la investigadora responsable del proyecto: la Dra. Gabriela del C. López Armas 3335086200 en un horario de 8:00 am a 18:00 pm, o con la dra. Iryna Rusanova: +34 685263421.

Si usted acepta participar en el estudio, le entregaremos una copia de este documento que le pedimos sea tan amable de firmar.

ҚОСЫМША Ә

Хуан И. Менчаканың Жаңа азаматтық ауруханасының этика комитеті

FORMATO PARA LA EVALUACIÓN DE PROYECTOS COMITÉ DE INVESTIGACIÓN OPD HOSPITAL CIVIL DR. JUAN I. MENCHACA

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN:

Estudio de la expresión de los micrnas circulantes y marcadores del estado redox como predictores de complicaciones cardiovasculares en diabetes mellitus tipo II en pacientes del Nuevo Hospital Civil de Guadalajara México

RESPONSABLE: Médico Especialista Kevin Javier Arellano Arteaga

Colaboradores: Iryna Rusanova Rusanova, Dr. Martin Robles Figueroa, Dra. Roció Elizabeth González Castañeda

Fecha de Evaluación: 28 feb/2020

Estructura del Protocolo: correcto

TITULO:

MARCO TEÓRICO

- Antecedentes: correcto
 - Definición del Problema: correcto
 - Justificación: correcto
 - Hipótesis: correcto
- Varios

OBJETIVOS

- General: correcto
 - Específicos: correcto
- Varios

DISEÑO:

- Definición del Universo: correcto
 - Tamaño de la muestra: correcto
 - Definición de unidades de observación: correcto
 - Definición de grupo control: correcto
 - Criterios de Inclusión: correcto
 - Criterios de exclusión: correcto
 - Definición de variables: correcto
 - Fuentes y Métodos de colección de datos: correcto
 - Prueba Piloto: correcto
 - Plan de tabulación de datos: correcto
 - Instrumentos de capacitación de datos: correcto
 - Bibliografía: correcto
- Varios

CONSIDERACIONES ÉTICAS

ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD

ORGANIZACIÓN

- Cronograma: correcto
- Recursos materiales: correcto
- Presupuestos: correcto
- Actividades de difusión No aplica Varios

CRITERIOS:

- 1.- ORIGINALIDAD Contribuye al avance general del conocimiento en el área en cuestión.
- 2.- CALIDAD CIENTÍFICA Consistencia metodológica de la fundamentación y diseño de la investigación:
- 3.- FACTIBILIDAD Posibilidad de realización dentro de los límites de infraestructura y los recursos humanos, materiales u financieros disponibles u tiempos propuestos:
- 4.- RELEVANCIA Y OPORTUNIDAD Adecuación a intereses y lineamientos nacionales, estatales e institucionales:
- 5.- VIABILIDAD DE LA APLICACIÓN Vinculación con los posibles usuarios de los resultados del proyecto:
- 6.- PRESENTACIÓN Estructura del Proyecto:
- 7.- ORGANIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN:

Favor de indicar en el recuadro de la derecha la calificación en la escala del 0 al 10 y que vaya más de acuerdo con si apreciación del anunciado presentado.

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Los objetivos son claros y aseguran la contribución esperada del proyecto											
Existe congruencia entre los objetivos propuestos y las metas que se desean alcanzar											X
La metodología propuesta permite alcanzar los objetivos planteados										X	
La infraestructura disponible favorece 4 de los objetivos establecidos											X
Los logros del grupo de trabajo favorecen los objetivos propuestos											X
Las metas del proyecto pueden alcanzar en el tiempo propuesto											X

¿La calidad académica y el planteamiento es el adecuado?

DICTAMEN:
APROBADO SIN MODIFICACIONES
APROBADO CON MODIFICACIONES
RECHAZADO

OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES DEL COMITÉ:

APROBADO

REVISADO POR: Comité de Investigación




HOSPITAL CIVIL DE GUADALAJARA
"DR. JUAN I. MENCHACA"

Médico Internista Kevin Javier Arellano Arteaga
Investigador Principal
Presente

Por medio de la presente se le informa que el día 28 de febrero de 2020, se reúne el Comité de Investigación del OPD Hospital Civil de Guadalajara Dr. Juan I. Menchaca, dictamina para su revisión el protocolo de investigación: "Estudio de la expresión de los micrnas circulantes y marcadores del estado Redox como predictores de complicaciones cardiovasculares en diabetes mellitus tipo II en pacientes del Nuevo Hospital Civil de Guadalajara" presentado por usted donde lo recibe la Coordinación de Investigación con el folio 00017 con fecha de recibido el 30 de enero de 2020, donde lo presenta para su Línea de Investigación, teniendo como colaboradores al Dra. Irina Rusanova Rosanova, Dr. Martín Robles Figueroa, Dra. Roció Elizabeth González Castañeda, se le informa el siguiente dictamen:

Dictamen: Aprobado

COMITÉ DE INVESTIGACIÓN
Registró Número 17 CI 14 039 116 COFEPRIS
OPD HOSPITAL CIVIL DE GUADALAJARA DR. JUAN I. MENCHACA


Dr. J. Jesús Pérez Molina
Presidente del Comité de Investigación


Fecha 03/08/2020



OPD HOSPITAL CIVIL DE
GUADALAJARA DR. JUAN I. MENCHACA
Registro CONBIOÉTICA-14-CEI-008-20161212

EVALUACIÓN DE DOCUMENTOS DE PROTOCOLOS ACTIVOS

Investigador: Médico Internista Kevin Javier Arellano Arteaga
Colaborador: Dra. Irina Rusanova Rosanova, Dr. Martin Robles Figueroa,
Dra. Rocio Elizabeth González Castañeda, Dra. Gabriela del Carmen López
Armas

Título del Proyecto :

Estudio de la expresión de los micromas
circulantes y marcadores del estado
Redox como predictores de
complicaciones cardiovasculares en
diabetes mellitus tipo II en pacientes del
Nuevo Hospital Civil de Guadalajara Dr.
Juan I. Menchaca

Documentación


Protocolo para Línea de Investigación

Fecha de este dictamen: 20 de julio 2020

DICTAMEN :

Folio No. 00017 recibido 30 enero de 2020 en la Coordinación de Investigación

Aprobado


Dr. Jorge Enrique Aguilar Arreola
Presidente del Comité de Ética en Investigación


Nuevo Hospital de Guadalajara
Subdirección de Enseñanza e Investigación
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN



UNIVERSIDAD
DE GRANADA

Vicerrectorado de Investigación y Transferencia

**COMITE DE ETICA EN INVESTIGACION
DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA**

La Comisión de Ética en Investigación de la Universidad de Granada, visto el informe preceptivo emitido por la Presidenta del Comité en Investigación Humana, tras la valoración colegiada del Comité en sesión plenaria, en el que se hace constar que la investigación propuesta respeta los principios establecidos en la legislación internacional y nacional en el ámbito de la biomedicina, la biotecnología y la bioética, así como los derechos derivados de la protección de datos de carácter personal,

Emite un Informe Favorable en relación a la investigación titulada: 'DETERMINACIÓN DE LOS MICRORNAS CIRCULANTES Y EL ESTADO REDOX COMO BIOMARCADORES Y PREDICTORES DE LA GRAVEDAD DE DIABETES MELLITUS TIPO II EN PACIENTES ADULTOS DEL ESTADO DE JALISCO, MÉXICO.' que dirige D./Dña. IRYNA RUSANOVA RUSANOVA, con NIF 77.771.457-Q, quedando registrada con el nº: 940/CEIH/2019.

Granada, a 17 de Octubre de 2019.

EL PRESIDENTE
Fdo: Enrique Herrera Viedma



EL SECRETARIO
Fdo: Francisco Javier O'Valle Ravassa

ҚОСЫМША Б

Этикалық комитет отырысының хаттамасы

**«ӘЛ-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ
ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ»**
КОММЕРЦИЯЛЫҚ ЕМЕС АКЦИОНЕРЛІК ҚОҒАМЫ

ҒЫЛЫМ ЖӘНЕ ИННОВАЦИЯЛЫҚ
ҚЫЗМЕТ ЖӨНІНДЕГІ ДЕПАРТАМЕНТІ
ЖЕРГІЛІКТІ ЭТИКАЛЫҚ КОМИТЕТ



НЕКОММЕРЧЕСКОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
**«КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АЛЬ-ФАРАБИ»**

ДЕПАРТАМЕНТ ПО НАУКЕ
И ИННОВАЦИОННОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ
ЛОКАЛЬНЫЙ ЭТИЧЕСКИЙ КОМИТЕТ

От _____ № 312

На № _____ от _____

Жергілікті Этикалық комитетінің қорытындысы

1	Докторанттың Т.А.Ә.	Есенбекова Арайлым Есенбекқызы
2	Докторантура мамандығы (білім беру бағдарламасы)	«8D05102 - Биомедицина»
3	Докторантурада оқу кезені	2019-2022 жж.
4	Диссертация тақырыбы, бекіту мерзімі	«Қант диабетінің 2 типімен ауыратын науқастардың жүрек-қан тамырлары асқинуларының биомаркері ретінде микроРНК экспрессиясын және тотығу стресінің статусын зерттеу» Докторлық диссертацияның тақырыбын түзету: 14.01.2021 ж. №4-121
5	Ғылыми кеңесшілер туралы деректер – Т.А.Ә. (болған жағдайда), жұмыс орны және лауазымы, ғылыми дәрежелері, азаматтығы	Отандық ғылыми кеңес беруші: әл-Фараби атындағы ҚазҰУ, биология ғылымдарының кандидаты, профессор м.а., Аблайханова Нуржанят Татухановна; Шетелдік ғылыми кеңес беруші: Гранада университеті (Гранада қ., Испания), PhD, профессор Русанова Ирина
6	Зерттеу объектілері	Адамның перифериялық қаны, қан плазмасы және сарысуы.
7	Ғылыми зерттеулерді жоспарлау, бағалау, іріктеу және жүргізу процесіндегі бұзушылықтар	Анықталған жоқ
8	Ғылыми зерттеулер нәтижелерін тарату процесіндегі бұзушылықтар	Анықталған жоқ
9	Зерттеу объектілерінің (тірі табиғат объектілері мен мекендеу ортасы болған жағдайда) теориялық, тәжірибелік сұрақтары, құқықтарын, қауіпсіздігі мен әл-ауқатын қорғау қалай жүргізілді?	Зерттеуге қатысу үшін алынған биологиялық материал үлгілері тек қатысушылардың зерттеуге қатысуға берілетін ақпараттық келісіммен және ерікті ақпараттандырылған келісімге қол қойылғаннан кейін ғана жинақталды. Материалды жинау медицина қызметкерлерінің көмегімен жүргізілді. Зерттеу (зерттеу материалдары) нәтижесінде алынған ақпараттар конфиденциальды болып есептелді және тиісті жағдайда сақталды.
10	Мақұлдау нөмірі	IRB - A582
11	Мақұлдау күні	08.02.2024

ЖЭК төрағасы _____ Т. М. Усатаева

ЖЭК хатшысы _____ М. А. Шаухарова



ҚОСЫМША В

Диссертациялық жұмыстың нәтижелерін оқу үрдісіне ендіру актісі

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
ӘЛ-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ

БЕКІТІЛДІ

Академиялық мәселелер жөніндегі
проректор

Жақыпова Ф.Н.
« 20/05 2023 ж.

Аяқталған ғылыми-зерттеу жұмысын (кезеңін) оқу процесіне енгізу туралы
АКТ

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің комиссия құрамы: төрағасы: Басқарма мүшесі – Академиялық мәселелер жөніндегі проректор Жақыпова Фатима Надырқызы, мүшелері: академиялық мәселелер жөніндегі департамент директоры Байғараев Нұрлан Алиевич, ғылыми және инновациялық қызмет жөніндегі департамент директоры Кақимжанов Еркін Хамитұлы, биология және биотехнология факультетінің деканы Заядан Болатхан Қазыханович, биология және биотехнология факультетінің академиялық кеңес төрайымы Гончарова Алла Владимировна, биофизика, биомедицина және нейроғылым кафедрасының меңгерушісі Кустубаева Альмира Мәлсовна, осы акт оқытушысы б.ғ.к., доцент Сраилова Гульзия Тураповна сабағына докторант Есенбекова Арайлым Есенбекқызының «Қант диабетінің 2 типімен ауыратын науқастардың жүрек-қан тамырлары асқинуларының биомаркері ретінде микроРНҚ экспрессиясын және тотығу стресінің статусын зерттеу» тақырыбындағы ғылыми-зерттеу жұмыстарының нәтижелері енгізілді.

№	Енгізу түрі (жаңа курс, арнайы курс, дәріс бөлімінің атауы, зерттеу жұмыстары, енгізулер, оқу құралдары және т.б.); курс, мамандық.	Енгізу көлемі (жұмыс, дәрістік сағат саны)	Енгізілген жұмыстың мазмұны
1	Қант диабетінің 2 типімен ауыратын науқастардың жүрек-қан тамырлары асқинуларының биомаркері ретінде микроРНҚ экспрессиясын және тотығу стресінің статусы» ҒЗЖ нәтижелері 7М05102-«Биомедицина» мамандығы бойынша 2 курс магистранттарының «Молекулалық эндокринология»	Дәріс – 1 сағат 1. Ұйқы безінің гормондарының әсер ету механизмдері. МикроРНҚ-лардың құрылымы, ерекшеліктері. МикроРНҚ-лардың әсер ету механизмі. МикроРНҚ және β-жасушалар. Семинар сабақ- 2 сағат Инсулиннің әсер ету механизмі: инсулин рецепторы, жасушаішілік медиаторлар, ақуыздың фосфорлануы - дефосфорлануы, м-РНҚ трансляциясына әсері, гендердің экспрессиясына әсері.	2 типті қант диабеті кезіндегі асқынған аурулардың биомаркерлері ретінде микроРНҚ экспрессиясын зерттеуде алынған нәтижелер қолданылады.

	курсына (5 кредит) (5 кредит) енгізілді.	
2	Қант диабетінің 2 типімен ауыратын науқастардың жүрек-қан тамырлары асқынуларының биомаркері ретінде микроРНК экспрессиясын және тотығу стресінің статусы» ҒЗЖ нәтижелері 7М05101-«Биология» мамандығы бойынша 2 курс магистранттарының «Ген экспрессиясының реттелуі және гормондардың әсер ету механизмдері» курсына (5 кредит) енгізілді.	Дәріс – 1 сағат МикроРНК-ның ген экспрессиясын реттеудегі рөлі және оның қант диабеті ауруына әсері. Семинар сабақ- 2 сағат МикроРНК экспрессиясының қант диабетімен ауыратын науқастар қанындағы глюкозаның реттелуіне әсері.


Осы актінің материалдары биология және биотехнология факультетінің әдістемелік бюросының отырысында қаралады (Хаттама № _____ 2023 ж.)

Комиссия мүшелері:

Академиялық мәселелер
жөніндегі департамент
директоры

 Байгараев Н.А.

Ғылыми және
инновациялық қызмет
жөніндегі департамент
директоры


16.03.2023

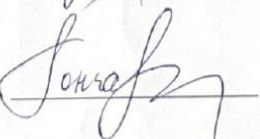
Какимжанов Е. Х.

Биология және
биотехнология
факультетінің деканы




Заядан Б. К.

Биология және
биотехнология
факультетінің академиялық
кеңес төрайымы



Гончарова А. В.

Биофизика, биомедицина
және нейроғлым
кафедрасының меңгерушісі



Кустубаева А. М.



**ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
ӘЛ-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ**

БЕКІТІЛДІ

Академиялық мәселелер жөніндегі
проректор

«*Ф.Н.*» Жақыпова Ф.Н.
«*26*» 2023 ж.

**Аяқталған ғылыми-зерттеу жұмысын (кезеңін) оқу процесіне енгізу туралы
АКТ**

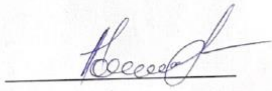
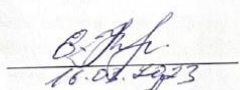

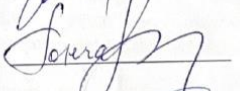

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің комиссия құрамы:
төрағасы: Басқарма мүшесі – Академиялық мәселелер жөніндегі проректор Жақыпова Фатима Надырқызы, мүшелері: академиялық мәселелер жөніндегі департамент директоры Байғараев Нұрлан Алиевич, ғылыми және инновациялық қызмет жөніндегі департамент директоры Кақимжанов Еркін Хамитұлы, биология және биотехнология факультетінің деканы Заядан Болатхан Қазыханович, биология және биотехнология факультетінің академиялық кеңес төрайымы Гончарова Алла Владимировна, биофизика, биомедицина және нейроғылым кафедрасының меңгерушісі Кустубаева Альмира Мэлсовна, осы акт 2022-2023 күзгі оқу жылында биофизика, биомедицина және нейроғылым кафедрасының оқытушысы б.ғ.д., профессор Мурзахметова Майра Кабдрашевна сабағына докторант Есенбекова Арайлым Есенбекқызының «Қант диабетінің 2 типімен ауыратын науқастардың жүрек-қан тамырлары асқынуларының биомаркері ретінде микроРНҚ экспрессиясын және тотығу стресінің статусын зерттеу» тақырыбындағы ғылыми-зерттеу жұмыстарының нәтижелері енгізілді.

№	Енгізу түрі (жаңа курс, арнайы курс, дәріс бөлімінің атауы, зерттеу жұмыстары, енгізулер, оқу құралдары және т.б.); курс, мамандық.	Енгізу көлемі (жұмыс, дәрістік сағат саны)	Енгізілген жұмыстың мазмұны
1	Қант диабетінің 2 типімен ауыратын науқастардың жүрек-қан тамырлары асқынуларының биомаркері ретінде микроРНҚ экспрессиясын және тотығу стресінің статусы» ҒЗЖ нәтижелері 7М05102-«Биомедицина» мамандығы бойынша 2 курс магистранттарының «Молекулалық мембранология»	Дәріс – 2 сағат 1. Оттегі және бос радикалдардың пайда болу механизмдері. Оттегінің белсенді түрлері. Бос радикалдардың мембраналарға әсері. Реактивті оттегі түрлерінің биомолекулаларға тигізетін зиянды әсері. 2. Бос радикалдарды бейтараптау жолдары, антиоксиданттар. Клетканың антиоксидантты	Тотығу стресі нәтижесінде туындайтын эндотелий дисфункциясы көптеген қантамыр аурулардың пайда болуын тудырады. Тотығу стресі көрсеткіштерін анықтау әдістері мен глутатиондық жүйе, жасушадан тыс және жасушаішілік тотығу-тотықсыздану көрсеткіштерінен алынған нәтижелері практикалық сабақта және статистикалық

курсина (5 кредит) енгізілді.	жүйесінің құрылымы мен қызметі туралы түсініктер. Антиоксиданттардың әсер ету механизмі. Практикалық сабақ- 4 сағат 1. Тотығу стрестің механизмдері. Тотығу стресс және оның ағзаға әсері. Ақуыздар мен нуклеин қышқылдарының метаболизміндегі оттегінің белсенді түрлерінің рөлі. Май қышқылдарының тотығуы, жасуша мембраналарының қасиеттеріне әсері. Липидтердің асқын тотығу процестері және олардың клетка тіршілігіндегі мәні.	өңдеу жұмыстарын жүргізуге қолданады.
-------------------------------	--	---------------------------------------

Осы актінің материалдары биология және биотехнология факультетінің академиялық кеңес отырысында қаралады (Хаттама № _____ 2023 ж.)

Комиссия мүшелері:

- Академиялық мәселелер жөніндегі департамент директоры  Байгараев Н.А.
- Ғылыми және инновациялық қызмет жөніндегі департамент директоры  Какимжанов Е. Х.
- Биология және биотехнология факультетінің деканы  Заядан Б. К.
- Биология және биотехнология факультетінің академиялық кеңес төрайымы  Гончарова А. В.
- Биофизика, биомедицина және нейроғылым кафедрасының меңгерушісі  Кустубаева А. М.

