

әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті

ӘОЖ: 577:616.4(043.3)

Қолжазба құқығында

ДҮЙСЕНБЕК АЯУЛЫ АҒАБЕКҚЫЗЫ

**2-типті қант диабетіндегі қабыну және тамыр
жүйесінің күйімен байланысты плазмалық микроРНК рөлін зерттеу**

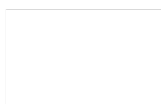
8D05102 – Биомедицина

Философия докторы (PhD)
дәрежесін алу үшін дайындалған диссертация

Отандық ғылыми кеңесші
б.ғ.к., проф.
Аблайханова Н.Т.

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

Қазақстан Республикасы
Алматы, 2025



МАЗМҰНЫ

НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР.....	4
БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР.....	5
КІРІСПЕ.....	8
1 ӘДЕБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ.....	13
1.1 2-типті қант диабетіндегі эндотелий дисфункциясының молекулалық механизмдері және олардың макротамырлық асқынулармен байланысы.....	13
1.1.1 Метаболикалық синдром және тамыр жүйесіне әсері.....	18
1.1.2 Тотығу стресінің биомаркерлері және олардың жүрек-қантамыр асқынуларымен байланысы.....	22
1.2 Қант диабеті және метаболикалық аурулар кезіндегі митохондриялық дисфункция.....	24
1.2.1 МикроРНК арқылы тотығу стресі мен қабынуды реттеу.....	30
1.2.2 Метаболикалық аурулар кезінде қолданылатын емдеу әдістерінің тотығу стресі мен микроРНК экспрессиясына әсері.....	35
2 ЗЕРТТЕУ НЫСАНЫ МЕН ӘДІСТЕРІ.....	40
2.1 Зерттеу нысаны және зерттеу жүргізу шарттары.....	40
2.2 Биохимиялық талдау.....	41
2.3 МикроРНК экспрессиясын талдау.....	42
2.4 Қабыну параметрлерін анықтау.....	45
2.5 Тотығу стресі көрсеткіштерін анықтау.....	46
2.5.1 Липидтердің асқын тотығуы (ЛАТ) деңгейін анықтау.....	46
2.5.2 Ақуыздардың алдыңғы тотыққан өнімдері (АОРР) деңгейі.....	46
2.5.3 Нитриттер мен нитраттардың концентрациясын анықтау.....	47
2.6 Антиоксиданттық ферменттер белсенділігін анықтау.....	48
2.6.1 Тотықсызданған және тотыққан глутатион деңгейлерін анықтау....	48
2.6.2 Супероксиддисмутаза ферментінің (SOD) белсенділігін анықтау..	52
2.6.3 Глутатионпероксидаза (GPx) белсенділігін анықтау.....	53
2.6.4 Глутатионредуктаза (GRd) белсенділігін анықтау.....	54
2.6.5 Каталаза (CAT) белсенділігін анықтау.....	55
2.6.6 Глюкоза-6-фосфатдегидрогеназа (G6PD) белсенділігін анықтау....	55
2.7 Нәтижелерді статистикалық талдау.....	56
3 ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ.....	58
3.1 Зерттелген популяциядағы микроРНК экспрессиясының және биохимиялық-клиникалық көрсеткіштердің айырмашылықтары....	58
3.2 Зерттелген үлгілердегі тотығу статусы маркерлері және антиоксиданттық ферменттердің белсенділігін анықтау	67
3.2.1 Тотығу статусы маркерлерін анықтау.....	67
3.2.2 Антиоксиданттық ферменттердің белсенділігін анықтау.....	69
3.3 Қабыну статусы көрсеткіштерін анықтау	74
3.4 Топтар арасындағы Пирсон корреляциялық талдауы нәтижелері...	77
3.5 2-типті қант диабеті және макротамырлық асқынулармен	

байланысты биомаркерлердің диагностикалық дәлдігін бағалау....	84
4 АЛЫНҒАН НӘТИЖЕЛЕРДІ ТАЛДАУ.....	92
ҚОРЫТЫНДЫ.....	100
ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ.....	102
ҚОСЫМША – А Экспериментке қатысушылардың жазбаша келісімі.....	120
ҚОСЫМША – Ә Зерттеу жобасының қатысушысына арналған ақпараттық парағы.....	121
ҚОСЫМША – Б Гранада провинциясының биомедициналық зерттеулер этикасы жөніндегі комитеті.....	123
ҚОСЫМША – В Этикалық комитет отырысының хаттамасы.....	126
ҚОСЫМША – Г Диссертациялық жұмыстың нәтижелерін оқу үрдісіне ендіру актісі.....	127

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
AFMK	- N1-ацетил-N2-формил-5-метоксикинурамин
AGO	- аргонавт (<i>Argonaute</i>)
Akt	- PI-3 киназа/Akt жолы
AMK	- N-ацетил-5-метоксикинурамин
ATMEXOs	- май тінінің макрофагтарынан алынған экзосомалар
ATMs	- май тінінің макрофагтары
AUROC	- операциялық жұмыстың сипаттамасы астындағы аудан (<i>area under the receiver operating characteristics</i>)
eNOS	- ажыратылған азот оксиді синтазасы
EMA	- Еуропалық дәрілік заттар агенттігі
EPC	- эндотелий прогениторлық жасушалары
EVs	- жасушадан тыс везикулалар
EXPO-5	- экспортин-5 (<i>Exportin 5</i>)
FDA	- АҚШ-тың Азық-түлік және дәрі-дәрмек басқармасы
FPG	- аш қарынға плазмадағы глюкозасының деңгейі (<i>fasting plasma glucose</i>)
GIP	- гастрингипирлеуші пептид
GLP-1	- глюкагонға ұқсас пептид-1
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
HO-1	- гемоксигеназа-1
hsCRP	- С-реактивті ақуыз
IDF	- Халықаралық диабет федерациясы (<i>International Diabetes Federation</i>)
IGT	- глюкозаға төзімділіктің бұзылуы
IκB	- каппа-В ингибиторы
IRS	- инсулин рецепторларының субстраты
MAO	- Моноаминоксидаза
MP	- Миелопероксидаза
mPTP	- митохондриялық өткізгіштіктің өтпелі тесігі
M2 Exos	- M2 типті макрофагтарынан бөлінген экзосомалар
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>)
NEM	- N-этилмалеймидпен (<i>N-Ethylmaleimide</i>)
NRF2	- эритроидка қатысты фактор 2
OPA	- орто-фталальдегид (<i>Ortho-phthalaldehyde</i>)
PAI-1	- плазминоген активаторының тежегіштері-1
PBS	- фосфатты-тұзды буфер (<i>Phosphate Buffer Saline</i>)
PDGF	- тромбоциттерден алынған өсу факторы
PECAM-1	- эндотелий жасушаларындағы тромбоциттердің адгезия-1 молекуласы (<i>Platelet endothelial cell adhesion molecule</i>)
PPAR γ	- гамма-рецепторлардың белсендірушісі
PKC	- протеинкиназа C
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
SIRT1	- сиртуин-2
Sp1	- спецификалық ақуыз 1
TNF- α	- ісік некрозының факторы- α (<i>Tumor necrosis factor α</i>)
TGF- β	- трансформациялық β өсу факторы
VCAM-1	- адгезия молекуласы-1
VEGF	- қан тамырларының эндотелийінің өсу факторы (<i>vascular endothelial growth factor</i>)
АОПП	- ақуыздың терең тотығу өнімдерінің жоғарылауы
Г-6-ФД	- глюкоза -6- фосфатдегидрогеназа
ГПО	- Глутатионпероксидаза
ГР	- Глутатионредуктаза
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
ҚД2Т	- қант диабетінің 2-типi
ЛАТ	- липидтің асқын тотығы
мРНҚ	- матрицалық рибонуклеин қышқылы
микроРНҚ	- микро рибонуклеин қышқылы
ОБТ	- оттегінің белсенді түрлері
ПТР	- полимеразды тізбекті реакция

РНҚ	- рибонуклеин қышқылы
СОД	- Супероксиддисмутаза
ЭДТА	- Этилендиаминтетрасірке қышқылы

КІРІСПЕ

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Бұл диссертациялық жұмыс 2-типті қант диабеті кезінде дамиды қабину процестері мен қан тамырларының дисфункциясымен тығыз байланысты плазмалық микроРНК экспрессиясын жан-жақты зерттеуге арналған. Зерттеу барысында микроРНК-лардың эндотелий қызметінің бұзылуына, тотығу стресінің күшеюіне және осы факторлардың тамырлы асқынулардың патогенезіне қосатын үлесіне ерекше назар аударылады. Сонымен қатар, микроРНК-лардың биомаркерлік және болжамдық маңыздылығы бағаланып, олардың диабетпен байланысты макро-және микротамырлық асқынуларды ерте диагностикалаудағы және алдын алуға әлеуеті қарастырылады.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. 2-типті қант диабеті - жүрек-қан тамырлары асқынулардың дамуымен сипатталатын ең көп таралған созылмалы аурулардың бірі. Жүректің ишемиялық ауруы, инсульт және перифериялық артериялық ауру сияқты макротамырлық бұзылулар 2-типті қант диабеті бар науқастар арасында өлім-жітім қаупін айтарлықтай арттырады [1]. Қазіргі қолданыстағы диагностикалық әдістер тамырлық асқынулардың даму қаупін ерте кезеңде анықтауға мүмкіндік бермейді, бұл аурудың асқынуына және науқастардың өмір сапасының төмендеуіне алып келеді. Осыған байланысты, 2-типті қант диабеті кезінде тамырлық асқынулардың даму механизмдерін зерттеу және жаңа биомаркерлік көрсеткіштерді анықтау өзекті ғылыми және клиникалық міндеттердің бірі болып табылады.

Соңғы жылдары микроРНК молекулаларына ерекше назар аударылуда. Олар жасушаішілік және жасушадан тыс деңгейде гендік экспрессияны реттеуде маңызды рөл атқарады. Зерттеулер микроРНК-ның қабину процестерімен, эндотелий дисфункциясымен және тотығу стресімен өзара байланысын дәлелдеп, олардың жүрек-қантамыр жүйесінің патогенезінде шешуші рөл атқаратынын көрсетті [2]. Атап айтқанда, NF-κB және NLRP3-инфламмасома сияқты негізгі сигналдық жолдар микроРНК арқылы реттеліп, қабину жауаптарының күшеюіне немесе бәсеңдеуіне ықпал етеді [3]. Тотығу стресі 2-типті қант диабеті дамуында маңызды рөл атқарады. Жасушалардағы антиоксиданттық жүйелердің теңгерімсіздігі липидтердің асқын тотығуын күшейтіп, супероксиддисмутаза және каталаза белсенділігінің төмендеуіне алып келеді. Бұл тамыр қабырғаларының зақымдануына және эндотелий дисфункциясының дамуына ықпал етеді [4]. Сонымен қатар, қабину медиаторлары 2-типті қант диабеті кезінде тұрақты жоғары деңгейде болады, бұл созылмалы қабину процестерінің дамуын және оның жүрек-қантамыр жүйесіне теріс әсерін растайды. Бұл зерттеулердің нәтижелері 2-типті қант диабеті бар науқастарда жүрек-қантамырлық асқынулардың даму қаупін бағалауға мүмкіндік беретін жаңа диагностикалық және прогностикалық әдістерді әзірлеуге негіз бола алады.

Зерттеудің мақсаты. 2-типті қант диабеті кезінде плазмалық микроРНК экспрессиясы, тотығу стресі және қабыну маркерлерінің макротамырлық асқынулардың дамуымен өзара байланысын зерттеу арқылы жаңа болжамдық критерийлерді анықтау.

Мақсатқа жету үшін келесі міндеттер қойылды

1. 2-типті қант диабеті бар науқастарда (қантамырлы асқынуларымен және асқынуларынсыз) және бақылау тобында негізгі микроРНК-лардың (hsa-miR-21-5p, hsa-miR-126-3p, hsa-miR-146a-3p, hsa-miR-155-5p, hsa-miR-210-3p, hsa-miR-484-5p және hsa-miR-27a-3p) салыстырмалы экспрессия деңгейін және биохимиялық көрсеткіштерін анықтау.

2. Қантамырлық асқынулардың болуымен байланысты тотығу стресі маркерлері (LPO, AOPP, NOx) мен антиоксиданттық ферменттердің (SOD, CAT, GPx, GRd, G6PD, GSSG-GSH арақатынасы) белсенділік деңгейлеріндегі айырмашылықтарды зерттеу.

3. 2-типті қант диабеті бар науқастардың қан плазмасындағы қабыну цитокиндерінің (ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-18, MCP-1, TNF- α) деңгейін бағалап, олардың қантамырлық асқынулардың дамуымен байланысын анықтау.

4. Қабыну және тотығу стресі маркерлерімен ең жоғары корреляция көрсететін микроРНК-ларды анықтап, олардың диагностикалық маңыздылығын бағалау.

5. 2-типті қант диабеті бар науқастарда жынысы, липидтік профиль және басқа клиникалық факторлардың микроРНК экспрессиясы мен қабыну маркерлерінің деңгейіне әсерін анықтау.

Зерттеу нысаны: Зерттеу нысандары ретінде 2-типті қант диабеті бар науқастардың (қантамырлық асқынуларымен және асқынуларынсыз) перифериялық қаны, сондай-ақ бақылау тобына енгізілген сау адамдардың қан үлгілері қолданылды.

Зерттеу әдістері. Зерттеуде глюкоза, креатинин, триглицеридтер, холестерин (жалпы, ТТЛП, ЖТЛП), инсулин және HbA1c деңгейлерін анықтау үшін биохимиялық әдістер қолданылды. Диссертациялық жұмыс барысында биоматериал үлгілері жинақталып, антропометриялық көрсеткіштер анықталды, 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 бағдарламалары арқылы жүргізіліп, деректердің қалыпты таралуын тексеру, дисперсиялық талдау, корреляциялық және логистикалық регрессиялық талдау, сондай-ақ ROC-қисығын құру әдістері қолданылды.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы

Диссертацияның ең маңызды ғылыми нәтижелері:

2-типті қант диабетімен ауыратын науқастарда макротамырлық асқынулардың дамуымен байланысқан плазмалық микроРНК экспрессиясының ерекшеліктері алғаш рет кешенді түрде зерттелді. Антиоксиданттық жүйе ферменттерінің белсенділігін төмендететін және тотыққан зақымдану өнімдерінің жиналуына әкелетін тотығу стресі мен созылмалы қабыну процестерінің микроРНК деңгейіне әсер ететіні анықталды.

Қабыну маркерлері және тотығу стресі көрсеткіштерімен тығыз байланыста болатын микроРНК-лар анықталып, олардың қантамырлық асқынулардың патогенезіндегі функционалдық рөлі негізделді. Алғаш рет молекулалық-биохимиялық көрсеткіштерді біріктіру арқылы диабеттік ангиопатиялардың даму қаупін болжауға арналған кешенді модель ұсынылды. Зерттеу барысында алынған деректер микроРНК-лардың диагностикалық және болжамдық биомаркер ретіндегі клиникалық маңыздылығын дәлелдеп, оларды 2-типті қант диабеті кезінде қантамырлық асқынуларды ерте анықтау мен алдын алу жүйесіне енгізу мүмкіндігін айқындайды.

Жұмыстың теориялық маңызы

МикроРНК тотығу стресі мен эндотелий дисфункциясын реттеуде маңызды рөл атқарады, сондықтан оларды 2-типті қант диабетінің даму деңгейін бағалайтын маркер ретінде қарастыру науқастарды дербес бақылауға және жүрек-қантамырлық асқынулардың алдын алу үшін оңтайлы емдеу әдісін таңдауға мүмкіндік береді.

Зерттеу нәтижелері тамырлы асқынулардың патогенезінің молекулалық механизмдері туралы түсініктерді кеңейтеді. Айналымдағы микроРНК мен тотығу стресі маркерлері гипергликемия және 2-типті қант диабетінің патофизиологиясы кезінде эндотелий дисфункциясының дамуына қатысады. Олар қантамырлық зақымданулар мен жүрек-қантамырлық асқынулардың болжаушысы бола алады. Бұл маркерлер қант диабетінің жүрек-қантамырлық асқынулар пайда болғанға дейінгі даму барысын болжауға мүмкіндік беріп, қантамырлық зақымданулардың алдын алуға және диабетпен ауыратын науқастар арасында жүрек-қантамырлық аурулардан болатын өлім қаупін төмендетуге ықпал етуі мүмкін. Эпигенетикалық зерттеулер қоршаған орта факторларының метаболизмдік процестерді реттеуге әсерін растайды. Осы тұрғыда микроРНК аурудың динамикасын және жүргізілетін терапияның тиімділігін көрсетуге қабілетті физиопатологиялық биомаркер ретінде әлеуетке ие. Бұл зерттеу молекулалық биомаркерлердің клиникалық тәжірибедегі маңыздылығын растап, 2-типті қант диабеті бар науқастарды дербес бақылау әдістерін одан әрі дамытуға теориялық негіз болады.

Жұмыстың практикалық құндылығы

Зерттеу нәтижелері 2-типті қант диабеті бар науқастар арасында макротамырлық асқыну қаупі жоғары топтарды ерте анықтау үшін пайдаланылуы мүмкін. Эндотелийдің қорғаныс механизмдерімен және қабыну процестерімен байланысты микроРНК экспрессиясының өзгерістері қантамырларының қызметін реттеуге бағытталған жаңа терапиялық тәсілдерді дамытуға негіз бола алады. Молекулалық және биохимиялық маркерлерді

камтитын болжамдық модель қантамырлық асқынулар қаупін дәлірек бағалауға көмектесіп, клиникалық тәжірибеде алдын алу стратегияларын жетілдіруге ықпал етеді.

Зерттеу нәтижелері әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, биология және биотехнология факультеті, биофизика, биомедицина және нейроғылым кафедрасының 1 курс «8D05102 – Биомедицина» білім беру бағдарламасы бойынша «Зат алмасу және энергияның реттелуі» және «7M05102-Биомедицина» білім беру бағдарламасы бойынша 2 курс манистратура студенттеріне «Қолданбалы эндокринология» оқу курсының бағдарламасына дәріс, семинар сабағы ретінде енгізілді.

Қорғауға ұсынылатын негізгі қағидалар

- 2-типті қант диабетімен ауыратын науқастарда miR-21-5p, miR-126a-3p, miR-146a-3p, miR-155-5p, miR-210-3p, miR-484-5p және miR-27a-3p микроРНК экспрессия деңгейлері зерттеліп, олардың макротамырлық асқынулардың дамуымен байланысы талданды;

- 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары жоқ және қан тамырлық асқынулары бар науқастар арасында тотығу стресі маркерлері (LPO, AOPP, NOx) мен антиоксиданттық ферменттердің (SOD, CAT, GPx, GRd, G6PD, GSSG-GSH арақатынасы) белсенділік деңгейлеріндегі айырмашылықтар анықталды;

- қабыну кезіндегі бұзылыстар мен микроРНК экспрессиясының өзгерістері арасындағы байланыс орнатылып, олардың қантамырлық асқынулардың дамуына қатысатыны дәлелденді;

- қабыну және тотығу стресі маркерлерімен жоғары корреляция көрсететін негізгі микроРНК анықталып, олардың патогенетикалық маңыздылығы расталды;

- молекулалық және биохимиялық көрсеткіштер негізінде қантамырлық асқынулар қаупін бағалауға мүмкіндік беретін болжамдық модель әзірленді.

Қорғауға ұсынылатын ғылыми жұмыс нәтижелерінің жинақталуына диссертанттың жеке үлесі. Диссертациялық жұмыстың нәтижелері автордың тікелей қатысуымен орындалды. Ізденуші зерттеудің тұжырымдамасын әзірлеуге, оның мақсаты мен міндеттерін анықтауға, сондай-ақ эксперименттерді жоспарлауға өз үлесін қосты. Автор зерттеулерді жүргізуге, алынған деректерді өңдеуге, талдауға, сонымен қатар, ғылыми жарияланымдарды дайындауға атсалысты.

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

Жұмыстың ғылыми зерттеу бағдарламасымен байланыстылығы

Диссертациялық жұмыс 2-типті қант диабеті жағдайында тамырлы асқынулардың патогенезін молекулалық және биохимиялық деңгейде зерттеуге бағытталған ғылыми бағдарламалар аясында орындалды. Зерттеу барысында тотығу стресінің, қабыну процестерінің және антиоксиданттық қорғаныс жүйесінің бұзылыстарының микроРНК экспрессиясына әсері, сондай-ақ олардың эндотелий дисфункциясы мен макротамырлық асқынулардың

дамуындағы рөлі қарастырылды. Жұмыс микроРНК-лардың биомаркерлік және болжамдық маңыздылығын бағалауға, сондай-ақ олардың негізінде қантамырлық асқынулардың даму қаупін болжауға мүмкіндік беретін диагностикалық модель әзірлеуге бағытталған ғылыми зерттеу міндеттерімен үйлеседі.

Диссертациялық жұмыс халықаралық жоба бойынша (Grant for the Research Project by the Fundación Eugenio Rodríguez Pascual, Call 2021, CIBERfes (CB16-10-00238, ISCIII) Гранада университеті, Биомедицина зерттеу орталығының «Жасушааралық байланыс CTS-101» зертханасында жүргізілді, ғылыми жобаның жетекшісі Гранада университетінің профессоры, PhD Русанова И., жұмыстың бір бөлігі отандық ғылыми жетекші профессор Н.Т.Аблайханованың жетекшілігімен әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-нің биология және биотехнология факультеті, биофизика, биомедицина және нейроғылым кафедрасының «Биофизика, биомедицина және хронобиология» зертханасы негізінде жүзеге асырылды.

Жұмыстың апробациясы

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

- «Фараби әлемі» студенттер мен жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференциясы (2021-2024 жж, Алматы, Қазақстан);
- EUROMIT 2023 (Bologna, Italy)
- BALS-2024 workshop (Granada, Spain)
- BIO Web of Conferences 100, 01008 (2024).

Басылымдар: Зерттеу жұмысының нәтижелері 14 ғылыми еңбекте жарияланды, оның ішінде Scopus және Web of science деректер базасына кіретін шетелдік Antioxidants IF-7.675, Q1; International Journal of Molecular Sciences IF 6.2, Q1 журналдарында жалпы саны 2 мақала; ҚР ҒЖБМ ҒЖБСҚК ұсынған басылымдарда 4 мақала; шет ел және халықаралық-республикалық конференция материалдары жинақтарында 8 тезис жарық көрді.

Диссертацияның құрылымы: Диссертациялық жұмыс 130 мәтіндік беттен және нормативтік сілтемелер, белгілеулер мен қысқартулар, кіріспе, әдебиеттерге шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері және оларды талқылау, қорытынды, 226 пайдаланылған әдебиеттер тізімінен тұрады, құрамында 37 сурет, 10 - кесте бар.

1 ӘДЕБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ

1.1 2-типті қант диабетіндегі эндотелий дисфункцияның молекулалық механизмдері және олардың макротамырлық асқынулармен байланысы

Қазіргі уақытта қант диабеті және онымен байланысты асқынулар бүкіл әлемде ауру мен өлімнің өте кең таралған себебі болып табылады. Қант диабеті көп жағдайда гипергликемиямен байланысты, бұл қандағы глюкозаның жоғарылауын білдіреді [5]. 2-типті қант диабетінің дамуында ұйқы безінің қызметі негізгі рөл атқарады, дәлірек айтсақ, 2-типті қант диабетінің себебі қандағы глюкоза деңгейінің жоғарылауымен сипатталатын, ұйқы безінің Лангерганс аралшықтарында орналасқан β -жасушалар бөліп шығаратын инсулиннің жеткіліксіздігі болуы мүмкін [6]. Нәтижесінде бұл зат алмасуының барлық түрлерінің бұзылуына, қан тамырларының зақымдалуына және қант диабетімен байланысты асқынуларға әкеледі. Мұндай микро-және макротамырлы асқынуларға мыналар жатады: жүрек-қан тамырлары асқынулары, диабеттік нейропатия, ретинопатия, нефропатия және бауыр, бүйрек және жүрек тарапынан болатын көптеген басқа да асқынулар [7]. Қант диабетінің дамуын және оның асқынуларының таралуын түсіну оңай емес, өйткені бұл механизмдер күрделі болып табылады. Қант диабетінің тамырлы асқынуларының патогенезінде эндотелиальды дисфункция маңызды рөл атқарады [8]. Осылайша, қант диабетінің патогенезіне қатысатын эндотелий дисфункциясының механизмін түсіну диабеттің әртүрлі асқынуларынан дамитын жүрек-қан тамырлары қатерлерінің алдын алу үшін қажет.

Тамырлы эндотелий - бұл қан тамырларының ішкі бетінде орналасқан құрылым. Ол жұқа әрі жалпақ пішінді болып келетін жасушалар - эндотелиоциттерден құралған. Тамырлы эндотелий бірқатар тіршілік үшін маңызы зор қызметтерді атқарады және көп қырлы мүше болып табылады. *Shalini Jamwal & Saurabh Sharma* өз зерттеулерінде тамырлы эндотелий өзінің тасымалдау және реттеу қызметтерінен басқа, метаболикалық белсенділікке ие екендігін және эндокриндік, сонымен қатар паракриндік бездер сияқты әрекет ете алатындығына дәлел келтірген [9]. Эндотелий өте сезімтал мүше, ол алғашқылардың бірі болып ағымдағы сұйықтықтың механикалық әсеріне, бұлшықет қабаты арқылы пайда болатын қан қысымына және басқа да өптеген сыртқы және ішкі факторларға жауап қайтарады [10]. Адам ағзасында тамырлы эндотелий қан мен тіндер арасында тосқауыл қызметін атқарады, сонымен қатар ангиогенезде маңызды рөл атқарады. Мұнымен қоса, эндотелий жасушалары үлкен қорғаныс қызметін атқарады, олар қан тамырларының қабырғасын әртүрлі сыртқы факторлардың қолайсыз әсерінен қорғайды. Олар бұл қорғаныс функциясын азот монооксидін (NO) өндіру арқылы іске асырады [11].

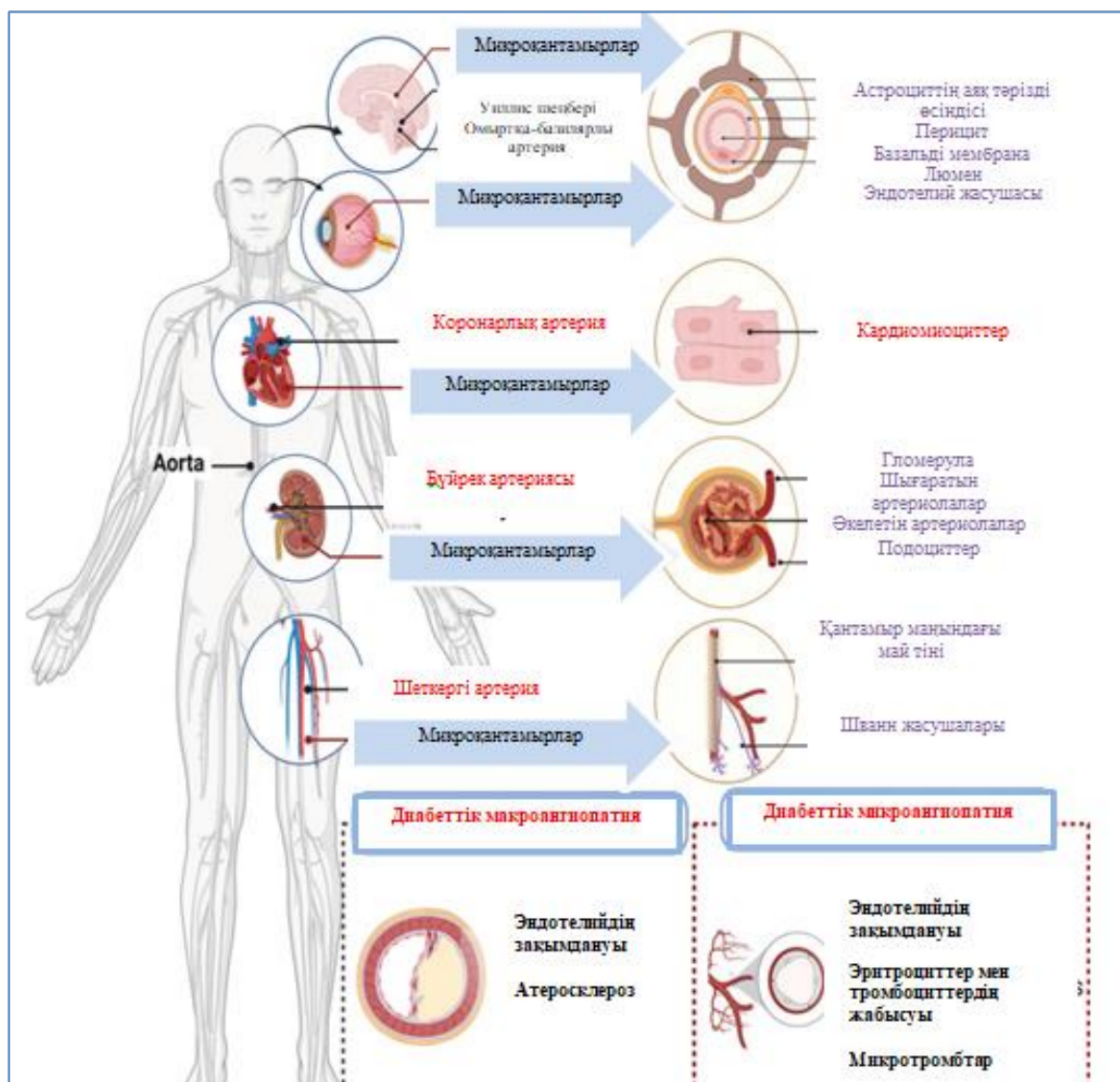
Эндотелий жасушаларымен (eNOS) синтезделетін NO тромбоциттер қызметін тежейді, осылайша тромбтың пайда болуына жол бермейді. Сонымен қатар, NO бөлінуінің әсерінен лейкоциттер артерия қабырғаларына еніп, қабыну үдерісін тудыра алмайды және NO синтезі тегіс бұлшықеттің

пролиферациясын тежейді, оның релаксациясына септігін тигізеді [12]. Жоғарыда айтылғандарға қосымша, NO вазодилацияға ықпал етеді, яғни қан тамырлары ішіндегі кеңістікті кеңейтеді, осылайша тіндерге оттегінің жеткізілуін қамтамасыз етеді. Бұл эндотелийдің вазомоторлы функциясы деп аталады. NO-дан басқа, эндотелий простациклин (PGI₂) және/немесе эндотелийдің гиперполяризация факторы сияқты бірқатар маңызды вазодилатациялық заттарды синтездейді [13]. Простациклиндер өз кезегінде қанның ұюын болдырмайды, қан тамырларын липидті түйіршіктердің (бляшкалардың) пайда болуынан қорғайды және жүрек-тамыр асқынуларының алдын алады. Эндотелий жасушалары бөліп шығаратын вазоконстрикторлы факторларға эндотелин, тромбоксан A₂, 20-НЕТЕ (20-гидрооксиэйкозотетраен қышқылы), ангиотензин II жатады [14]. Сонымен қатар, тамырлардың кеңу (вазодилация) мен тамырлардың тарылу (вазоконстрикция) белсенділігіне әсер ететін факторлар аз емес. Эндотелий қызметінің бұзылуы осы факторлар арасындағы тепе-теңдіктің жоғалуына әкеледі, мұның бәрі кешенді түрде эндотелий дисфункциясының пайда болуына себеп болады.

Жалпы ағзаның тұрақтылығының бұзылуына және эндотелий дисфункциясына әкеп соқтыратын бірнеше ынталандырушы факторлар бар: созылмалы ауырсыну жағдайлары, 2-типті қант диабеті, семіздік, дислипидемия, темекі шегу және қан айналымының бұзылуы. Эндотелий жасушаларының (ЭЖ) дисфункциясының өзіне тән бес негізгі механизм анықталған [15]. Оларға қан тамырларының тұтастығын жоғалтуы, адгезия молекулаларының белсенділігінің жоғарылауы, протромботикалық фенотип, цитокиндердің өндірісі және адам лейкоциттерінің антиген молекулаларының реттелуінің жоғарылауы жатады [16]. Белгілі болғандай, ЭЖ дисфункциясы жалғыз жүретін патологиялық жағдай емес, эндотелийдің гомеостатикалық функцияларын жоғалтуға әкелетін тамырлы тонустың, өткізгіштіктің, қабынудың патофизиологиялық гетерогенді өзгерістерімен байланысты фенотиптердің кең спектрі екені мәлімделген. Өткізгіш және резистивті артерия тамырларының эндотелиальды дисфункциясы вазомоторлық реакцияларға әсерін тигізеді (сурет 1). Эндотелий дисфункциясы трансэндотелий ағынының реттелуінің бұзылуына себеп болады, бұл интимдегі молекулалар мен жасушалардың қалыптан тыс тұндырылуына әкеледі. Сонымен қатар, ерте атеросклерозға тән белгілер, яғни, интиманың кеңеюі және жергілікті қабыну байқалады. Инсулинге резистенттілік және 2 типті қант диабеті ең көп таралған метаболикалық бұзылулардың бірі және атеросклерозды және оның мерзімінен бұрын асқынуын тездететін негізгі факторлар болып табылады [17]. Эксперименттік зерттеулер көрсеткендей, eNOS тапшылығы бар жануарларда қант диабетіне тән инсулинге резистенттілік және метаболикалық бұзылулар, оның ішінде триглицеридтер мен бос май қышқылдарының деңгейінің жоғарылауымен сипатталатын митохондриялық дисфункция сияқты белгілер пайда болған [18, 19]. Семіздік, дислипидемия, гипертония және глюкоза алмасуының бұзылуы сияқты

метаболикалық синдромдардың жиынтығы эндотелиальды дисфункциямен де, жүрек-тамыр аурулары және 2-типті қант диабеті қаупінің жоғарылауымен де байланысты болып келеді. Кең мағынада инсулинге резистенттілік - бұл инсулинге тәуелді әртүрлі тіндердегі, соның ішінде гепатоциттер, миоциттер, май тіндері және эндотелийдегі инсулиннің метаболикалық әсеріне сезімталдықтың төмендеуі [20]. Инсулинге резистенттілік эндотелий дисфункциясының бірқатар күрделі және өзара байланысты патофизиологиялық механизмдерімен сипатталады. Осы механизмдердің бірі eNOS-ті іске қосуды реттейтін сигналдық жолдарды өзгерту болып табылады. Инсулинге резистенттілік эндотелий жасушаларында және басқа жасуша түрлерінде PI-3 киназа/Akt сигналдарының селективті бұзылуымен сипатталады [21]. Инсулинге резистенттілік кезінде Pi-3 киназасы/Akt арқылы eNOS активтенуі инсулинге жауап ретінде ғана емес, сонымен қатар сұйықтықтың ығысу кернеуі сияқты басқа да физиологиялық ынталандыруларға жауап ретінде де бұзылатынын атап өткен жөн, сонымен бірге инсулиннің қолайсыз вазоконстрикторлы, протромботикалық және қабынуға қарсы әсерлері шектелмеген болып қалады, бұл тамырлы аурулардың дамуына ықпал етуі мүмкін [22]. Тотығу стресі және қабыну инсулинге резистенттілік кезіндегі эндотелий дисфункциясының маңызды механизмдері болып табылады. Эндотелий жасушаларына гипергликемияның, висцеральды май тінінен босатылған май қышқылдарының, ангиотензин II және гликирленудің соңғы өнімдерінің әсер етуі супероксидтің және оттегінің белсенді түрлерінің (ОБТ) басқа белсенді формаларының пайда болуына әкеледі. Оттегінің белсенді формалары NO-мен өзара әрекеттесе отырып, пероксинитрит түзеді, ол липидтер, ақуыздар және ДНҚ-ны қоса алғанда әртүрлі жасушалық компоненттерге зиянды әсер ететін улы қосылыс болып табылады [23]. Пероксинитрит сонымен қатар, eNOS белсенділігін тежейді және қан тамырларының тегіс бұлшықетті жасушаларының NO-ға сезімталдығын төмендетеді. Тетрагидробиптериннің тотығуы (eNOS үшін негізгі кофактор) eNOS-тің синтезіне әкеледі және оның ОБТ генераторына айналуына жағдай жасайды. Бұл тотығу стресінің күшеюін ынталандырады, ал ОБТ деңгейінің жоғарылауы эндотелий дисфункциясы мен апоптозды тудырады, қабынуға ықпал етеді және қан тамырларының тегіс бұлшықетті жасушаларының пролиферациясын белсендіреді [24]. Цитокиндер, атап айтқанда, α ісік некрозының факторы, эндотелин-1 өндірісін және NF- κ B экспрессиясын жоғарылату арқылы eNOS белсенділігін төмендететіні анықталған [25]. NF- κ B ядролық факторы -эндотелий жасушаларының фенотипін қабынуға қарсы және протромботикалық түрге айналдыруда маңызды рөл атқаратын ген экспрессиясының негізгі реттегіші болып табылады. Бір қызығы, NF- κ B белсендірілуі инсулинге бұрыннан қалыптасқан резистенттілікті одан әрі күшейтуі мүмкін. Гипергликемия NADPH-оксидазаның және ОБТ түзілуіне жауапты басқа да ферменттердің белсенділігін арттырады. Сонымен қатар, созылмалы гипергликемия жасушалық рецепторлармен өзара әрекеттесетін қанттардың, липидтердің және

акуыздардың қайтымсыз өзара байланысқан гетерогенді туындыларының, соның ішінде ең көп зерттелгені, гликирленудің соңғы өнімдерінің пайда болуына әкеледі [26].



Сурет 1 - 2-типті қант диабетінің асқынулары
(сурет Luo және басқ. мақаласынан бейімделіп алынған)

Ескерту – Дереккөз [27]

Көптеген жағдайларда инсулинге резистенттілік семіздікпен және липопротеин метаболизмінің протерогенді бұзылуымен сипатталады.

Тотығу стресі инсулинге резистенттіліктің дамуында және қант диабетінің микро және макро- тамырлы асқынуларында маңызды рөл атқарады. Сонымен қатар, диабеттің пайда болуы жасуша компоненттерінің деградациясына қатысатын жасушалық аутофагияның бұзылуымен де байланысты болып келеді. Аутофагия және тотығу стресі бір-бірімен тығыз байланысты, өйткені аутофагия ОБТ түзілетін орындардың, яғни, митохондрия сияқты органеллалардың деградациясына жауап береді. Аутофагияның бұзылуы іс

жүзінде дисфункционалды митохондриялардың жинақталуын тудырады, бұл ОБТ өндірісінің ұлғаюына әкеледі [28]. Демек, қант диабетімен байланысты аутофагияның бұзылуы ОБТ мөлшерін жоғарылатуда негізгі рөл атқарады [29].

Диабеттік жағдайларда, шын мәнінде, үлкен және кіші тамырлардың эндотелий жасушаларында, сондай-ақ миокардта митохондриялық супероксидтің шамадан тыс көбеюі байқалады [30]. Супероксид өндірісі қант диабетінің асқынуларының патогенезіне қатысатын бес негізгі жолды белсендіруге жауап береді: полиол жолының ағымы, гликирленудің соңғы өнімдерінің түзілуі, олардың рецепторларының және оны белсендіруші лигандтардың жоғарылауы, протеинкиназа сизоформаларының активтенуі және гексозамин жолының гиперактивтілігі [31]. Осы жолдар арқылы жасушаішілік ОБТ-ның ұлғаюы ишемияға жауап ретінде ангиогенездің бұзылуын тудырады, бірқатар қабынуға қарсы жолдарды белсендіреді және ұзақ эпигенетикалық өзгерістерді тудырады. 2-типті қант диабеті кезіндегі атеросклероз және кардиомиопатия ішінара инсулинге селективті резистенттіліктен туындайды, бұл бос май қышқылдарынан митохондриялық ОБТ-ның өндірілуін арттырады [32]. Шынында да, қант диабеті бар трансгенді егеуқұйрықтарға жүргізілген зерттеулер супероксидті дисмутазаының шамадан тыс экспрессиясы диабеттік ретинопатия, нефропатия және кардиомиопатияның алдын алатындығын көрсеткен [33, 34]. Инсулинге резистенттілікті қалыптастыруда Nrf2 факторымен байланысты NF-E2 транскрипцияның тотығу факторы маңызды рөл атқарады [35]. Диабеттік ретинопатия бүкіл әлемдегі еңбекке қабілетті жастағы ересектер мен қарт адамдар арасында диабетпен байланысты асқынулардың немесе көру қабілетінің жоғалуының негізгі себебі болып табылады. ОБТ шамадан тыс жинақталуы митохондрияның дисфункциясына, жасушалық апоптозға, қабынуға, липидтердің асқын тотығуына, сондай-ақ көздің торлы қабығындағы құрылымдық және функционалдық өзгерістерге әкеледі [36]. Диабеттік ретинопатияның дамуына әкеп соқтыратын тотығу стресімен байланысты механизмдер күрделі болып табылады. Торлы қабықтың тотығу стресіне сезімтал болып келуі тек қана жарық немесе ультрафиолет сәулелерінің тұрақты әсеріне ғана байланысты емес, сонымен қатар торлы фоторецепторлардың сыртқы сегменттерінің мембраналарында оңай тотығатын полиқанықпаған май қышқылдарының көптеп кездесуіне байланысты [37]. Адам көзінің торлы қабығында фоторецепторлардың сыртқы сегменттерінде орналасқан негізгі полиқанықпаған май қышқылдары құрамында докозагексаен қышқылы, арахидон қышқылы және олеин қышқылы болады және осы үш ПМК сәйкесінше май қышқылдарының жалпы мөлшерінің шамамен 50%, 8% және 10% құрайды [38]. Демек, ОБТ өндірісін тежеу торлы қабықты гипергликемия әсерінен туындайтын тотығу стресінен қорғайды. Көптеген дәлелдер гипергликемия тотығу стресінің жоғарылауына әкелетінін дәлелдейді, бұл өз кезегінде, эндотелий, тор, мезангиальды және жүйке жасушаларына зақым келтіру арқылы диабеттік нейропатияның дамуында маңызды рөл атқарады [39]. Митохондриядағы

глюкозаның тотығуының бұзылуы қант диабеті кезінде ОБТ түзілуінің негізгі көзі болып табылады деп саналады. Алайда, диабеттік жағдайда глюкоза метаболизмінің бұзылуы глюкозаны немесе аралық гликолиз өнімдерін басқа метаболикалық және метаболикалық емес жолдарға ауыстырады, нәтижесінде митохондрияға протондардың митохондрияға оралу жылдамдығы жоғарылап, АТФ түзілуі тежеледі. Аксондар жүйкелерді қанмен тікелей қамтамасыз ете алатын митохондрияға бай болып келеді. Нейронның артық ОБТ-ын детоксикациялай алмауы, АТФ-тің жеткіліксіз өндірілуімен қатар, аксондарды гипергликемия кезінде АФК-мен туындаған зақымға сезімтал етеді, бұл өз кезегінде аксондардың дегенерацияға ұшырауын тездетеді [40]. Тотығу стресінің нәтижесінде эндотелий жасушаларының өзгеруі және NO өндірісі төмендейді, бұл көптеген метаболикалық бұзылыстарды, соның ішінде қант диабетінің түрлі асқынуларын тудырады [41].

2-типті қант диабеті мен оның асқынуларының дамуы көбіне генетикалық факторлар мен қоршаған ортаның әсерлерінің, атап айтқанда тамақтану мен өмір салтының күрделі өзара әрекеттесуіне байланысты болып табылады. Бұл факторлар аурудың өршуін тездетуі де, баяулатуы да мүмкін. ҚД2Т-нің дамуына ықпал ететін аталған факторлардың ортақ белгісі - олардың қабыну жауабын қоздыру қабілеті, бұл өз кезегінде қабыну арқылы туындайтын инсулинге резистенттілік пен эндотелийдің дисфункциясына алып келеді.

1.1.1 Метаболикалық синдром және тамыр жүйесіне әсері

Метаболикалық синдром - бұл семіздік, инсулинге төзімділік, артериялық гипертензия, көмірсу алмасуының бұзылуы, холестерин мен триглицеридтер деңгейіндегі ауытқулар сияқты қан тамырлары қаупімен байланысты факторлардың жиынтығын қамтитын күрделі патологиялық жағдай [42]. Бұл жүрек-қан тамырлары аурулары мен 2-типті қант диабетінің даму ықтималдығын едәуір арттырады, сонымен қатар тамырлар мен ішкі мүшелердің зақымдануымен қатар жүретін созылмалы қабыну және тотығу стресімен байланысты болып келеді. Метаболикалық синдром бүкіл әлем бойынша ересектердің шамамен 20-30%-да кездеседі және 2-типті қант диабеті, жүрек-қан тамырлары аурулары мен бауырдың алкогольсіз майлы ауруы қаупін арттырады [43]. Оның пайда болуының нақты себептері толық зерттелмегенімен, бұл жағдай генетикалық факторлар мен өмір салтының жиынтығына байланысты деп саналады. Дұрыс емес тамақтану, қимыл-қозғалыстың аздығы және кортикостероидтар мен антипсихотиктер сияқты кейбір дәрі-дәрмектерді қабылдау да қозғаушы рөл атқарады. Сондай-ақ, метаболикалық синдром созылмалы қабынумен, эндотелий дисфункциясымен және метаболикалық бұзылулармен байланысты, бұл қан тамырлары асқынуларының қаупін одан әрі арттырады [44].

Ағзаның сыртқы ортамен өзара әрекеттестігінің айқын мысалдарының бірі - соңғы гликация өнімдерінің (AGEs) ағзаға түсуі. Тамақты термиялық өңдеу, сондай-ақ консервілеу және азық-түлік қауіпсіздігін қамтамасыз ету сияқты технологиялар әртүрлі тағамдық соңғы гликация өнімдерінің, яғни

гликотоксиндердің түзілуіне ықпал етеді [45]. Бұл экзогенді AGEs ағзадағы жалпы соңғы гликация өнімдерінің қорын арттырып, метаболикалық жадының қалыптасуына әкеледі. AGEs-тің ұзақ мерзімді жинақталуы созылмалы қабыну, тотығу стресі және қан тамырларының зақымдалуымен байланысты, бұл метаболикалық синдромның туындауын және оның асқынуларының дамуын тездетеді [46].

Эпигенетика бұл ДНҚ тізбегінің өзін өзгертпестен кодталмаған нуклеин құрылымдарына әсер ететін гендердің экспрессиясы мен жұмысындағы тұқым қуалайтын өзгерістер механизмі болып табылады. Негізгі эпигенетикалық модификацияларға ДНҚ метилденуі, посттрансляциялық гистон өзгерістері және қоршаған орта факторларына жауап ретінде гендердің транскрипциялық белсенділігіне әсер ететін кодталмаған РНҚ реттелуі жатады [47]. Бұл процестер жасушалық метаболизмді бақылауда, қолайсыз жағдайларға бейімделуде және әртүрлі аурулардың, соның ішінде метаболикалық синдромның, 2-типті қант диабетінің және жүрек-қан тамырлары асқынуларының патогенезінде маңызды рөл атқарады. Ұзақ мерзімді адамдарға жүргізілген зерттеулер көрсеткендей 1 типті қант диабетінің ерте сатысында қарқынды терапияны қолдану дәстүрлі емдеу әдістерімен салыстырғанда микроаурулық асқынулардың (ретинопатия, нейропатия және нефропатия), сондай-ақ макроаурулық (инсульт, атеросклероз және жүректің ишемиялық ауруы) аурулардың пайда болуы мен дамуын айтарлықтай баяулататыны анықталды [48]. Науқастарға жүргізілген 10 жылға жуық зерттеу нәтижелері глюкоза деңгейін ерте кезде бақылауға алудың макроаурулық өзгерістердің өршуіне және фульминантты миокард инфарктісі, цереброваскулярлық аурулар немесе жүрек-қан тамырлары асқынуларының салдарынан өлімге ұшырау қаупінің айтарлықтай төмендеуіне тұрақты оң әсерін көрсетті [49]. Бұл нәтижелер зерттелген топтардағы орташа гликемиялық бақылау үдерісі (HbA1c) көрсеткіштерінің ұқсастығына қарамастан гликемия деңгейіне ерте және қатаң бақылау жүргізудің микро- және макроциркуляторлық жүйеге оң әсер ететінін көрсетеді. «Метаболикалық жады» феномені 2-ші типті қант диабетінде декездеседі, бұл United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) зерттеуінде дәлелденген [50]. Аталған зерттеуге жаңа диагностикаланған 2-ші типті қант диабеті бар 5102 науқас қатысқан. Орташа есеппен 10 жылға созылған зерттеу барысында HbA1c деңгейі жоғарылайтын болса да, ерте гликемиялық бақылау нәтижесінде қант диабетінің тамырлы асқынуларының қаупі төмендейтіні анықталды. Екінші жағынан, адам өмірінің алғашқы кезеңдерінде "метаболикалық бағдарламалау" құбылысы байқалады, бұл болашақта метаболикалық бұзылулардың дамуына әсер етуі мүмкін. Демек, зат алмасу процестері қалыптасуының маңызды кезеңдеріндегі сыртқы және ішкі факторлардың ағзаға әсері ересек жастағы метаболикалық ауруларға бейімділікті алдын ала анықтай алатынын білдіреді. Сонымен қатар, метаболикалық аурулардың ерте кезеңдерінде пайда болатын өзгерістер жиі қайтымсыз және диагноз қойылғаннан кейін емделуі күрделі болып табылады, бұл өз кезегінде, ерте алдын алу шаралары мен ауруды уақытылы анықтаудың

маңыздылығын көрсетеді [51]. Мысалы, созылмалы гипергликемияның эндотелий жасушаларына ұзақ уақыт әсер етуі эндотелий дисфункциясының дамуына әкеледі, бұл 2-типті қант диабетінің клиникалық диагнозына дейінгі "метаболикалық есте сақтау" құбылысымен байланыстырылады [52]. Яғни, бұл одан әрі гликемиялық бақылауды тұрақты жүргізіп отырғанмен науқастарда әлі де тамырлы асқынулардың даму қаупі жоғарылауы мүмкін екенін білдіреді. Мұндай өзгерістер қандағы глюкоза деңгейі қалыпқа келгеннен кейін де тамыр жүйесіне әсер етуді жалғастыратын тотығу стресінің, қабыну процестерінің және эпигенетикалық модификациялардың жинақталуымен байланысты болып табылады [52, р. 157]. Метаболикалық жадының қалыптасуына және тамырлы асқынулардың дамуына қатысатын әртүрлі метаболикалық жолдардағы эпигенетикалық өзгерістерді зерттеу өзекті мәселеге айналуда. Бұл зерттеулер глюкоза деңгейін қалыпқа келтіргеннен кейін де гипергликемияның жасушалар мен тіндерге ұзақ мерзімді әсер ету механизмдерін айқындайды.

Эпигенетикалық посттрансляциялық гистон модификациялары DCCT/EDIC зерттеулеріне қатысушылардың лейкоциттерінде зерттелді. Талдауға DCCT стандартты терапия тобынан 30 науқас іріктеліп алынды, оларда орташа HbA1c деңгейі жоғары болып, 10 жылдық бақылау барысында ретинопатия немесе нефропатияның прогрессиясы байқалды. Бақылау тобына 31 науқас кірді, олар қарқынды гликемиялық терапия алып отырды және EDIC зерттеуінің 10 жылдық кезеңінде асқынулар болмады. Асқынулары бар науқастардың моноциттерінде H3 гистонының лизин-9 ацетилденуіне (H3K9Ac) ұшыраған промоторлық аймақтарының санының статистикалық тұрғыдан едәуір артқаны анықталды [53]. Бұл эпигенетикалық маркер гендердің транскрипциялық белсенділігінің жоғарылауымен байланысты болып келеді, осылайша метаболикалық жады механизмдері мен тұрақты қабыну жағдайының қалыптасуына ықпал етіп, қан тамырлары асқынуларының дамуына әсер етуі мүмкін. Гистондардың гиперацетилденуі хроматиннің босатылуына және гендердің белсенді экспрессиясына ықпал ететіндігін ескере отырып, бұл промоторлық аймақтарда транскрипцияның жоғарылауына әкелетін белсендіруші белгі болды. 15-тен астам ген иммундық жауап пен қабыну процестерін реттеуде шешуші рөл атқаратын каппа-В ядролық факторының (NF-κB) қабыну жолымен байланысты қызмет атқарады [54]. Бұл HbA1c мен аурудың өршуіне қатысатын гендердің промоторлық аймақтарындағы эпигенетикалық өзгерістер арасындағы байланысты ашып көрсеткен алғашқы адамдарға жүргізілген зерттеулердің бірі болып табылады.

Бірнеше зерттеулер глюкозаның әсерінен туындаған ген экспрессиясының өзгеруі қант диабетімен ауыратын науқастарда гликемия деңгейі қалыпқа келгеннен кейін де сақталатынын көрсетеді. Атап айтқанда, Al-Dabet және бірлескен авторлар р21 ақуызы диабеттік бүйрек ауруы (ДБА) кезінде гипергликемиялық жадының медиаторы және биомаркері ретінде шешуші рөл атқаратынын анықтады [55, 56]. Бұл деректер метаболикалық жады тұжырымдамасымен сәйкес келеді, яғни ұзақ уақытқа созылған гипергликемия молекулалық деңгейде тұрақты өзгерістердің туындауына әкеледі, осылайша,

кандағы қант деңгейі реттелгеннен жағдайда да диабеттік асқынулардың өршуіне ықпал етеді. p21 экспрессиясының жоғарылауы жануарлардың әртүрлі үлгілерінде, адам тіндерінде және *in vitro*-да анықталды, тіпті SGLT2 немесе инсулин ингибитрлерінің көмегімен глюкоза деңгейі төмендеген жағдайда да тұрақты болып қалды [57]. Бүйрек түтікшелерінің жасушаларында тұрақты p21 экспрессиясын реттеудің болжамды механизмі ДНҚ метилтрансфераза 1 (DNMT1) экспрессиясының төмендеуіне байланысты оның промоторының деметилденуімен байланысты болды [58]. DNMT1 p21 промоторының метилденуіне және оның экспрессиясының төмендеуіне ықпал етеді. Бұл механизмнің маңыздылығы p21 ақуызы жасушалық қартаюмен және оның маркерлерімен тығыз байланысты болуында. Оған қартаюға байланысты секреторлық фенотип (SASP) гендерінің, соның ішінде IL-1 β және IL-6 және циклин-тәуелді киназа тежегіштерінің (p15, p16, p19) белсендірілуі жатады [59].

Деректер ДНҚ метилденуі және трансляциядан кейінгі гистон модификациялары сияқты эпигенетикалық механизмдер гипергликемиялық жадыны қалыптастыруда шешуші рөл атқаратынын көрсетеді. Эпигенетикалық өзгерістерге хроматиннің қайта құрылуы ғана емес (мысалы, ДНҚ мен гистон метилденуі, гистон ацетилденуі және N6-метиладенозин (m6A) модификациясы), сонымен қатар кодталмаған РНҚ модификациялары (ncRNA) жатады. Реттеуші ncRNA ұзындығына қарай екі топқа бөлінеді: қысқа ncRNA (микроРНҚ және т.б.) және ұзын кодталмаған РНҚ (lncRNA) [60].

Созылмалы төмен дәрежелі қабыну процесі семіздікпен қатар жүретіні белгілі және метаболикалық аурулардың дамуының жалпы факторы болып табылады. Жинақталған деректерге сәйкес, созылмалы қабыну мен тотығу стресінің жоғары деңгейі организмнің метаболикалық гомеостазын бұзатындығы, инсулинге төзімділіктің дамуына және әртүрлі органдардың метаболикалық қайта құрылуына ықпал ететіндігі дәлелденген. Ұйқы безі деңгейінде бұл өзгерістер β -жасушаларында инсулин өндірісінің бұзылуына, ал инсулинге тәуелді тіндерде инсулинге сезімталдықтың төмендеуіне әкеледі [61]. Нәтижесінде көмірсулар алмасуының жүйелік теңгерімсіздігі дамиды, бұл 2-типті қант диабетінің өршуіне және онымен байланысты асқынуларға себеп болады.

Сонымен қатар, инсулинге тәуелді емес жасушаларда, әсіресе эндотелийде бұл өзгерістер эндотелий дисфункциясына және жүрек-қан тамырлары асқынуларының дамуына әкеледі. Зерттеулер макрофагтардың метаболикалық қайта құрылуын, олардың бауыр, ми, ұйқы безі және май тіні сияқты метаболикалық белсенді органдарға инфильтрациясын, сондай-ақ байланысты аурулардың дамуына ықпалын көрсетеді [62]. Осы тұрғыда тамақтану мен май тінінің рөлінің өзара байланысы байқалады, өйткені ол қабынуға қарсы гендердің экспрессиясының өзгеруі арқылы қайта құрылымдалады. Семіздік кезінде май тінінде эпигеномдық өзгерістер мен макрофагтар бөлетін өнімдер тіндік макрофагтардың қабынуға қарсы (M1-поляризацияланған) фенотипке ауысуына ықпал етеді, бұл инсулинге төзімділіктің дамуына әсер етеді [63]. «Мета-қабыну» (metaflammation) термині метаболикалық ауруларды

сүйемелдейтін қабынуды білдіреді және қоректік заттардың артық мөлшерінен туындаған созылмалы қабыну процесімен сипатталады. Қазіргі уақытта «мета-қабыну» тұжырымдамасы кеңінен танылған [64].

Метаболикалық аурулар кезінде тотығу стресінің жоғарылауы мен созылмалы қабыну арасында тығыз байланыс бар, сонымен қатар митохондрия шешуші рөл атқарады. Кейбір зерттеулер митохондриялық дисфункция мен тотығу стресінің метаболикалық синдромның дамуына қатысатынын және әртүрлі тіндер мен мүшелердегі инсулинге төзімділіктің, қабынудың және жасуша өлімінің өршуіне ықпал ететінін көрсетеді. Бұл процестер әсіресе қант диабеті кезінде және бауыр, бұлшықет пен май тіндері сияқты тіндерде глюкоза мен майлар жиналатын метаболикалық бұзылулар үшін маңызды болып табылады. Инсулинге төзімділік метаболикалық синдромның және 2-типті қант диабетінің негізгі ерекшелігі болып табылады, ол қандағы глюкозаның жоғарылауына әкеледі [65].

Осы мәліметтерге сүйенсек, тотығу стресі мен созылмалы қабыну метаболикалық аурулардың патогенезінде күшейтетін факторлар ретінде бірігіп әрекет етеді. Митохондриялық дисфункция бұл процестерді дамытып, инсулинге төзімділік пен метаболикалық синдромның, соның ішінде 2-типті қант диабетінің дамуына және асқынуына ықпал етеді.

1.1.2 Тотығу стресінің биомаркерлері және олардың жүрек-қантамыр асқынуларымен байланысы

Жасушаларда оттегінің белсенді түрлерінің көптеген көздері бар, соның ішінде митохондриялық дисфункция және NADPH оксидазалары (NOX), ксантиноксидаза (ХО), липооксигеназа, миелопероксидаза (МР) және ажыратылған азот оксиді синтазасы (eNOS) сияқты прооксидантты ферменттердің белсендірілуі [65, р. 2611]. Сонымен қатар, антиоксиданттық жүйелердің белсенділігінің төмендеуі қарастырылады, бұл ROS түзілуі мен оларды бейтараптандыру арасындағы теңгерімсіздікке әкеледі. Аталған теңгерімсіздік метаболикалық аурулардың, соның ішінде қант диабеті, жүрек-қан тамырлары аурулары және нейродегенеративті бұзылулардың патогенезінде маңызды рөл атқаратын тотығу стресіне ықпал етеді [66].

Митохондриялар - электрондарды тасымалдау тізбегі (ЭТТ) жұмысы кезінде электрондардың босап шығуынан туындайтын оттегінің белсенді түрлерінің негізгі көзі болып табылады. Бұл процесс NADH және FADH₂ электрондарының I және III кешендер деңгейінде босатылуы арқылы жүзеге асады. Гипергликемия жағдайында жасушаның тотығу метаболизмі күшейіп, қалпына келтіретін эквиваленттердің (NADH+H, FADH₂) жиналуы тыныс алу тізбегін электрондармен қамтамасыз етеді, бұл олардың көп мөлшерде босап шығуына және супероксидтік радикалдың (O₂—•) түзілуінің күшеюіне әкеледі [67]. ОБТ басқа молекулалармен әрекеттесіп немесе екінші реттік белсенді оттегі түрлерін түзіп, тотығу стресінің күшеюіне және жасушалық құрылымдардың зақымдалуына ықпал етуі мүмкін. Супероксид митохондриялық матрицада кездесетін Mn-тәуелді супероксид дисмутаза

ферментінің әсерінен сутегі асқын тотығына (H_2O_2) айналуы жүзеге асырылады [68]. Артық H_2O_2 митохондриядан таралады және одан әрі цитозолдық SOD, каталаза және глутатион пероксидаза сияқты басқа антиоксидантты ферменттермен метаболизденеді. Егер антиоксиданттық ферменттер H_2O_2 -ны метаболиздемесе, ол супероксидтік радикалмен ($\text{O}_2^{\bullet-}$) әрекеттесіп, жоғары реактивті және зиянды гидроксил радикалын ($\text{OH}^{\bullet}$) түзеді. Аталған радикал азот оксидімен (NO) әрекеттесіп, жоғары реактивті пероксинитритті (ONOO^-) түзеді, бұл қан тамырларында азот оксидінің биожетімділігін төмендетіп, вазоконстрикторлық әсерлерге әкеледі. Жақында жүргізілген зерттеулер митохондрияның сыртқы мембранасында орналасқан моноаминоксидаза (MAO) ферменттерінің гипергликемия және қабыну жағдайларында H_2O_2 түзетінін анықтады [69]. ОБТ түзілуінің артуы, әсіресе супероксидтік радикалдың ($\text{O}_2^{\bullet-}$) көбеюі, протеинкиназа C (PKC) іске қосылуын ынталандырып, NOX арқылы тотығу стресінің және NF- κ B арқылы қабыну процестерінің белсендірілуіне әкеледі. 2-типті қант диабетінің модельдерінде жүргізілген зерттеулер NOX-тың қалыптан тыс белсенділігі eNOS-тың ажырауына, вазоконстрикцияға және эндотелий дисфункциясына ықпал ететінін көрсетті [70]. Екінші жағынан, метаболикалық аурулар кезінде антиоксиданттық белсенділіктің төмендеуі байқалады. Супероксид дисмутаза митохондриядағы (Mn/SOD) және цитозолдағы (Cu/Zn/SOD) жасушаларды антиоксиданттық қорғау жүйесінің негізгі элементі болып табылады. SOD белсенділігінің төмендеуі жануарлар үлгілеріне жүргізілген зерттеуде, сондай-ақ адам зерттеулерінің көпшілігінде анықталды [71]. Біздің зерттеуде қан тамырлары асқынулары жоқ және 2-типті қант диабетімен ауыратын асқынулары бар науқастарда цитозолдық SOD белсенділігін бағаладық және оның белсенділігі бақылау тобымен салыстырғанда науқастардың екі тобында да төмендегенін анықтадық [72].

Гипергликемия жағдайында глюкоза метаболизмінің 30%-ға дейінгі бөлігі альдозоредуктаза ферментінің әсерінен сорбитол түзілуі арқылы жүреді, бұл глутатионредуктаза (GRd) мен eNOS қызметі үшін қажет никотинамидадениндинуклеотидфосфаттың (NADPH) таусылуына әкеледі [73]. ОБТ түзілуінің артуы және антиоксиданттық жүйелердің (SOD, GRd) белсенділігінің төмендеуі тотығу стресін тудырып, эндотелий дисфункциясының дамуына ықпал етеді, бұл диабеттің макроваскулярлық асқынуларының пайда болуына ерте кезеңде себеп болатын негізгі факторларға жатады. Бірқатар зерттеулерде глутатионпероксидаза (GPx) белсенділігінің қант диабетімен ауыратын және гликемиялық бақылауы нашар науқастарда преддиабет жағдайымен салыстырғанда жоғарылағаны анықталды, бұл бос радикалдардың артық түзілуіне бейімделген жауап реакциясы ретінде қарастырылады [74]. Сонымен қатар, біз GPx белсенділігі 40 жастан асқан кем дегенде 5 жыл бұрын 2-типті қант диабеті диагнозы қойылған науқастарда қан тамырлары асқынуларының дамуында жоғары және маңызды болжамды мәнге ие екенін анықтадық [75]. Соңғы зерттеулер көрсеткендей, Nrf2-Kear1 жүйесінің («эритроидты ядролық фактор 2-мен байланысты фактор» және

«Kelch тәрізді ECH-пен ассоциацияланған ақуыз») белсенділігінің төмендеуі метаболикалық аурулардың дамуына да әсер етеді. Nrf2 - антиоксиданттық гендердің экспрессиясын реттейтін және жасушаларды тотығу стресінен қорғауда маңызды рөл атқаратын транскрипциялық фактор [76]. Ол кері байланыс механизмі арқылы тотығу стресін шектейді, супероксидті детоксикациялауға, зақымдалған ДНҚ-ны қалпына келтіруге және жасушалардың өмір сүруін жақсартуға ықпал етеді [77]. Сонымен қатар, Nrf2 NF-kB сигнал беру жолын шектеу және қабынуға қарсы цитокиндердің өндірісін азайту арқылы қабыну процесінің қарқындылығын реттейді. Тотығу стресі жағдайында Nrf2 ОБТ бейтараптандыруға және жасушаларды тотығу зақымдануынан қорғауға көмектесетін SOD, CAT және GPx сияқты әртүрлі антиоксиданттық ферменттердің экспрессиясын белсендіріп, күшейте алады [78]. Nrf2 қан тамырларын зақымданудан қорғап, гемоксигеназа-1 (HO-1) сияқты атеропротекторлық гендердің белсендірілуіне ықпал етеді. Сондай-ақ, Nrf2 темір мен ОБТ тәуелді жасушалық өлімнің бір түрі – ферроптоздың алдын алатыны туралы мәліметтер бар [79]. Соңғы гликация өнімдерінің (AGEs) жинақталуы олардың рецепторын (RAGE) белсендіру арқылы Nrf2 сигналдық жолын тежеп, нәтижесінде тотығу стресі мен қабынудың дамуына ықпал етеді. Бұл Nrf2 мақсатты гендерінің экспрессиясының төмендеуіне әкеледі, осылайша тотығу стресіне қарсы қорғаныс реакциясын әлсіретеді, сонымен қатар диабеттік және метаболикалық асқынуларға бейімділікті арттырады [80].

Тотығу стресінің биомаркерлерін талдау олардың қант диабетімен байланысты жүрек-қан тамыр асқынуларының патогенезіндегі маңызды рөлін көрсетеді. Негізгі антиоксиданттық ферменттердің белсенділігінің өзгеруі және липидтердің асқын тотығу өнімдерінің жоғарылауы прооксиданттық және антиоксиданттық жүйелер арасындағы теңгерімнің бұзылуына әкеліп соқтырып, эндотелийдің дисфункциясы мен тамырлардың зақымдануына ықпал етеді.

1.2 Қант диабеті және метаболикалық аурулар кезіндегі митохондриялық дисфункция

Митохондриялық дисфункция, өз кезегінде, митохондриялық функцияның және энергия алмасуының бұзылуымен, митохондриялық динамиканың өзгеруімен және прооксиданттық күймен сипатталатын процесс. Митохондриялық биогенез олардың саны мен мөлшерін сақтауға жауап береді [81]. Бұл процесс бірқатар транскрипциялық факторлар мен ферменттермен реттеледі және жасушалық стресске немесе температура, физикалық белсенділік, тамақтануды шектеу және бұлшықет метаболизмі сияқты физиологиялық тітіркендіргіштерге жауап ретінде белсендіріледі. Калорияны шектеу немесе физикалық жүктеме кезінде SIRT1 ақуызы (silent information regulator 2) және АМФ белсендірілген протеинкиназа (AMPK) деацетилдену және фосфорлану арқылы пролифератор пероксисімен (PGC-1 α) белсендірілген рецептор- γ байланысқан коактиватор-1 α реттейді [82].

PGC-1 α белсендірілуі глюкозаның сіңірілуінің жоғарылауына, митохондриялық биогенезге, май қышқылдарының тотығуына және оттегінің белсенді түрлерінің бейтараптандырылуына әкеледі. Екінші жағынан, митохондриялардың бөлінуі мен бірігу процестері арасындағы тепе-теңдікті сақтау қажет [83]. Артық қоректік заттармен бұл тепе-теңдік бұзылады, бұл дисфункционалды митохондриялардың жинақталуына әкеледі. Нәтижесінде ОБТ түзілуі күшейеді, кальций гомеостазы бұзылады және АТФ өндірісі төмендейді. Митохондриялық динамиканың бұзылуы жасқа байланысты аурулардың дамуында маңызды рөл атқарады. Метаболикалық аурулар ересек жасқа тән болғандықтан, олар митохондриялық дисфункцияны және тотығу стресін одан әрі күшейтеді [84]. Митохондриогенез семіздік пен қант диабеті кезінде төмендейтіні көрсетілген. Митохондриялардың динамикасының бұзылуы мтДНК мутацияларының жиналуына әкеледі, антиоксиданттық қорғанысты әлсіретеді және метаболикалық бұзылуларды, соның ішінде метаболикалық ауруларға себеп болады. ОБТ өндірісінің жоғарылауы иммундық жасушалардағы RSS сезімтал TRPM2 (transient receptor potential melastatin 2) арнасын белсендіріп, кальций иондарының ағынын тудырады [85]. Бұл қант диабетімен байланысты митохондриялық фрагментацияға әкеліп, жасушалардың, әсіресе иммундық жүйе жасушаларының қызметін бұзады. Бірқатар зерттеулер митохондриялық дисфункция мен NLRP3 қабынуының белсендірілуі арасындағы тығыз байланысты көрсетеді [86].

Семіздік кезінде AMP белсендірілген протеинкиназа (AMPK) белсенділігінің төмендеуі митофагияның тежелуіне, зақымдалған митохондриялардың және жасушаішілік митохондриялық белсенді оттегі түрлерінің (mtROS) жиналуына, митохондриялық ДНК (mtDNA) бөлінуіне және NLRP3 қабынуының белсендірілуіне әкеледі. Нәтижесінде IL-1 β және IL-18 секрециясы жүреді, бұл IRS-1 сериндік фосфорлануы және инсулиндік сигнал беру жүйесінің бұзылуы арқылы инсулинге төзімділіктің дамуына ықпал етеді [87]. Митохондриялық дисфункция ОБТ деңгейін және АТФ өндірісін өзгерту арқылы инсулиндік сигнал беру жүйесінің қызметін нашарлатуы мүмкін. Сонымен қатар, ОБТ инсулин рецепторы-1 (IRS-1) субстратын фосфорлайтын және инсулиндік сигнал беру жүйесін басатын JNK және IK сияқты ақуыз киназаларын белсендіреді [88]. Бұдан бөлек, АТФ өндірісінің төмендеуі инсулиндік сигнал беруді тежеп, GLUT4 сияқты глюкоза тасымалдаушылардың жасуша бетіне шығуын шектеуі мүмкін.

Митохондриялық ферменттер мен май қышқылдарының β -тотығуына қатысатын ферменттердің посттранскрипциялық деңгейде реттелуі митохондриялардың қызметін бақылауда маңызды рөл атқарады [89]. Митохондриялық дисфункция АТФ пен ацетил-КоА өндірісі мен пайдаланылуына әсер етіп, инсулиндік сигналдық жолдарға ықпал етуі мүмкін. Әсіресе, митохондриялық ақуыздардың гиперацетилденуі олардың белсенділігін төмендетіп, митохондриялық дисфункция мен АТФ өндірісінің азаюына әкеледі [90]. Мысалы, АТФ өндірісінің төмендеуі Akt активациясын тежесе, ал ацетил-КоА деңгейінің өзгеруі инсулиндік сигнализацияға

катысатын негізгі ақуыздардың ацетилденуіне әсер етуі мүмкін. Мұндай өзгерістер липоуыттылық жағдайында, яғни тамақтану режимінің өзгеруіне байланысты немесе митохондриялық NAD-тәуелді SIRT3 ақуызының белсенділігі бұзылған кезде пайда болады. Атап айтқанда, SIRT3 нокаутты тышқандарында қаңқа бұлшықеттерінде инсулинге тәуелді глюкоза сіңірілуі бұзылып, инсулинге төзімділік жоғарылағаны байқалған [91]. Митохондриялардың басқа органеллалармен өзара әрекеттесуінің өзгеруі көбіне митохондриялық дисфункция мен инсулинге төзімділікпен қатар жүреді.

Сонымен қатар, митохондрия мен липидті тамшылар арасындағы байланыстардың бұзылуы липидтердің эктопиялық жиналуына, липоуыттылыққа және инсулинге төзімділіктің дамуына ықпал етеді. Бұл құбылыстар семіздік пен 2-типті қант диабеті сияқты метаболикалық бұзылулар кезінде байқалады [92].

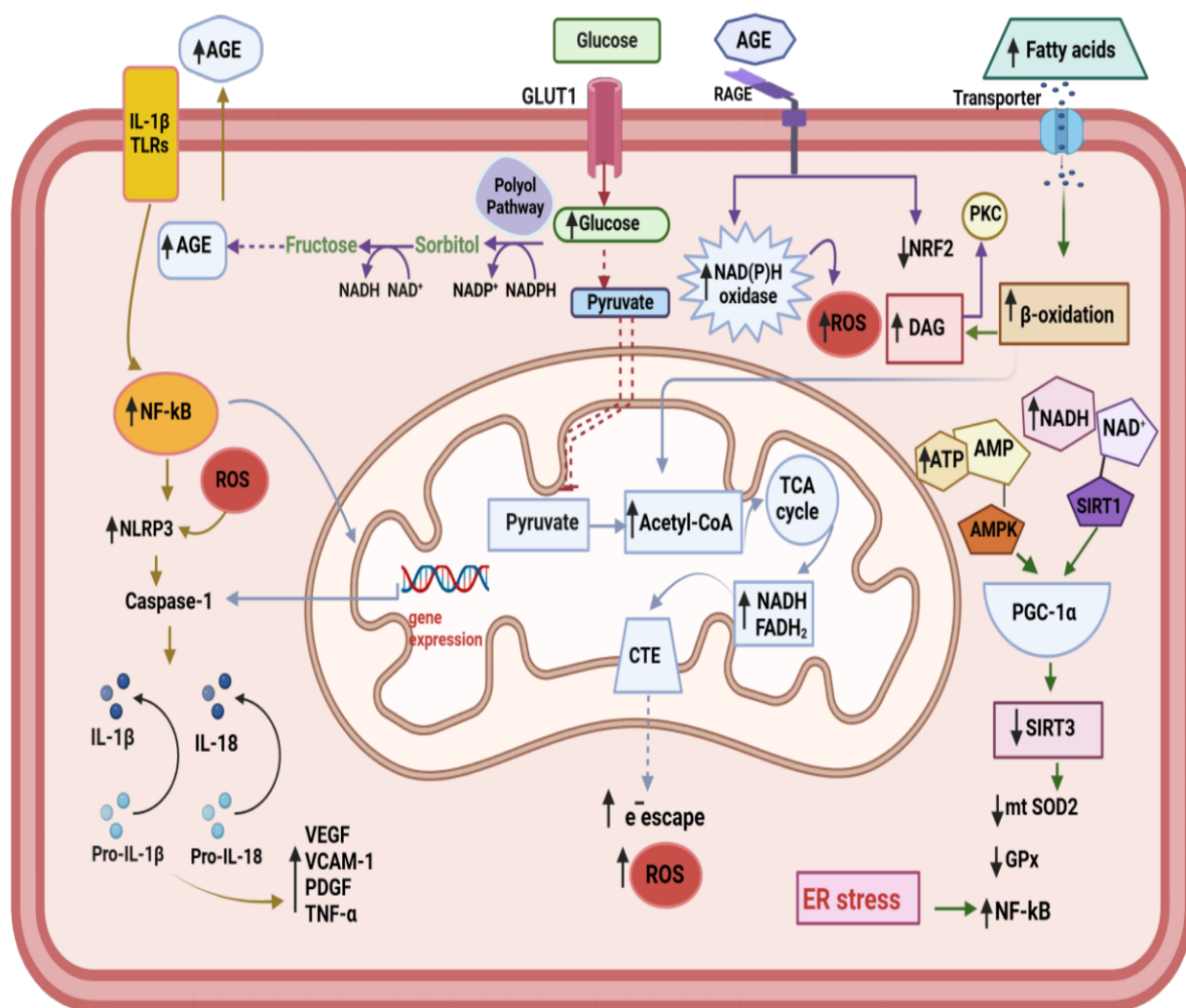
Созылмалы төмен деңгейлі қабыну артық май жиналу мен метаболикалық бұзылыстар, соның ішінде инсулинге төзімділік арасындағы байланыстырушы фактор ретінде қарастырылуда. Бұл процеске қатысатын бірнеше сигналдық жолдардың ішінде (NF-κB, p38 MAPK, JNK/SAPK), метаболикалық аурулардың патогенезінде ядролық фактор каппа-В транскрипциялық факторы мен NLRP3 инфламмасомасының (нуклеотидтерді байланыстыру және олигомеризация, лейцинге бай қайталанулар және пирин домені) белсендірілуі негізгі рөл атқарады [93]. Бұл сигналдық жол тотығу стресін, май тінінің жинақталуын және созылмалы төмен деңгейлі қабынуды инсулинге төзімділікпен және метаболикалық аурулар кезіндегі қабынудың күшеюімен байланыстырады. Қазіргі зерттеулер көрсеткендей, жоғары глюкоза деңгейі мен бос май қышқылдары сияқты стресстік факторлар NF-κB-ның дәстүрлі емес сигналдық жолын белсендіруі мүмкін, бұл цитокиндер мен хемокиндердің бөлінуіне, қабынудың күшеюіне және β-жасушалар функциясының бұзылуына алып келеді [94]. NF-κB - қабыну реакциялары мен ауруларының негізгі реттеушісі, ол метаболикалық, тотығу, иммундық және қабыну жүйелерін байланыстырады. NF-κB - иммундық жүйе қызметін, қабыну реакцияларын және жасушалық стресс жауаптарын реттейтін транскрипциялық реттеуші фактор. Қалыпты жағдайда NF-κB цитоплазмада каппа-В ингибиторы (IκB) деп аталатын ақуыздық кешенмен байланысып, белсенді емес күйде болады [95].

Алайда, тотығу стресінің әсерінен белсенді оттегі түрлері IκB киназа (IKK) кешенін белсендіре алады, бұл IκB-ның фосфорлануына, оның убиквитинизациясына және протеасомада ыдырауына әкеледі. Нәтижесінде NF-κB ядроға өтіп, мақсатты гендердің транскрипциясын іске қосады. Метаболикалық аурулар кезінде NF-κB белсенуі қабынуға қарсы цитокиндердің, соның ішінде про-IL-1β және про-IL-18 экспрессиясының күшеюіне әкеледі. NLRP3-ASC-pro-CASP1 кешенінің белсенуі pro-CASP1-дің белсенді CASP1 формасына өтуіне ықпал етеді, бұл IL-1β және IL-18-дің белсенді түрлерге айналуына себеп болады [96]. Әрі қарай, IL-18 TNFα өндірісін ынталандырады, бұл өз кезегінде IL-6 және C-реактивті ақуыздың синтезі мен бөлінуін күшейтеді [97].

Семіздік, митохондриялық дисфункция және NF-κB NLRP3 сигналдық жолының белсендірілуі арасында нақты байланыс бар (2-сурет). NLRP3 жетіспеушілігі бар тышқандар майлы диетаның әсерінен болатын семіздік пен инсулинге төзімділіктен қорғалған [98]. Көп мөлшерде майларды қамтитын диеталар ішек микробиотасында өзгерістер тудырады және оның өткізгіштігін арттырады, бұл айналымдағы LPS деңгейінің жоғарылауына, сондай-ақ керамидтер мен қаныққан май қышқылдарының көбеюіне әкеледі. NF-κB-NLRP3 қабынуының сигналдық жолын эндогендік цитокиндер белсендіреді, олардың деңгейі семіздік кезінде жоғарылайды және бұл белсендірілу Toll тәрізді рецепторлар (TLR) арқылы жүзеге асырылады [99]. Бұл молекулалардың барлығы TLR арқылы әрекет етеді. Екінші жағынан, митохондриялық дисфункция цитозолдағы тотыққан mtДНК және ОБТ деңгейін жоғарылатады. Аталған молекулалар NLRP3 қабынуын белсендіру үшін екінші реттік сигналдық жүйелер ретінде қызмет ете алады. IL-1β глюкоза деңгейін бақылау үшін қажетті инсулиндік сигнал беру жолын тежеу және инсулинге төзімділіктің дамуына ықпал ету арқылы IRS-1 генінің тирозин-фосфорлануын және экспрессиясын төмендетеді [100].

IL-6 және TNF-α инсулинге төзімділіктің дамуына ықпал ететін механизм күрделі және бірнеше сигналдық жолдарды қамтиды [101]. Ұсынылған механизмдердің бірі - осы цитокиндердің серин/треонинкиназа фосфатидилинозитол 3-киназа/ақуыз киназа B (PI3K/AKT), сондай-ақ Janus киназа/транскрипциялық активатор 3 (JAK/STAT) сигнал беру жолын белсендіруі. Екі жағдайда да инсулин рецепторы-1 (IRS-1) субстратының фосфорлануы инсулиндік сигнал беруді тежейді және инсулинге төзімділіктің дамуына ықпал етеді [102]. Жануарлар моделінде жүргізілген зерттеуде JAK/STAT жолының арнайы ингибиторын қолдану диабет индуцирленген тышқандарда, сондай-ақ *in vitro* жағдайда өсірілген жасушаларда тор қабықтың тамырлық өткізгіштігін айтарлықтай төмендететіні көрсетілді. Зерттеу авторлары бұл сигналдық жолды тежеу диабеттік ретинопатияны емдеудің перспективті әдісі болуы мүмкін деп болжады [103].

Сонымен қатар, IL-6 және TNF-α моноциттік хемоаттрактантты ақуыз-1 (MCP-1) және фракталин сияқты басқа цитокиндердің өндірісін тудыруы мүмкін. Жануарлар моделінде жүргізілген зерттеу нәтижесінде диабетпен индуцирленген тышқандарда және *in vitro* жағдайында өсірілген жасушаларда JAK/STAT сигналдық жолының арнайы ингибиторын қолдану арқылы тор қабықтағы тамырлардың өткізгіштігі айтарлықтай төмендегені анықталды [104]. Зерттеу авторлары бұл жолды тежеу диабеттік ретинопатияны емдеудің перспективті әдісі болуы мүмкін деп болжады. Сонымен қатар, IL-6 және TNF-α моноциттерді хемоаттрактантты ақуыз-1 (MCP-1) және фракталин сияқты басқа цитокиндердің түзілуін ынталандыруы мүмкін [105].



Сурет 2 - Эндотелий жасушасындағы метаболикалық өзгерістер
(сурет BioRender.com сайтында жасалған)

Эндогенді цитокиндердің жоғары деңгейі Toll тәрізді рецепторлар (TLRs) арқылы NF-κB- NLRP3 инфламасома сигналық жолын белсендіреді [106]. Гипергликемия жағдайында қалпына келтіргіш эквиваленттердің (NADH+H, FADH₂) жиналуы тыныс алу тізбегіне электрондардың көптеп берілуіне әкеледі, бұл электрондардың ағып кетуін және супероксид радикалының (O₂–•) түзілуін арттырады. Полиол жолының белсенділігі гликирленудің соңғы өнімдерінің (AGEs) жинақталуына әкеледі, олар AGEs рецепторларымен (RAGE) байланысып, NAD(P)H оксидаза сияқты прооксидантты ферменттерді белсендіреді және жасушаның антиоксиданттық жүйесінің негізгі компоненті NRF2 деңгейін төмендетеді [107]. Май қышқылдарының артық β-тотығуы D-ацилглицеролдың жиналуына ықпал етіп, протеинкиназа C (PKC) белсенділігін күшейтеді. NF-κB ядроға өтеді және про-IL-1, про-IL-18 және про-каспаза-1 сияқты мақсатты гендердің транскрипциясын белсендіреді. NLRP3 инфламасомасының белсенділігі про-каспаза-1-дің Caspase 1-дің белсенді түріне айналуына ықпал етеді, ол өз кезегінде IL-1β және IL-18-ді олардың белсенді түріне айналдырады. IL-18 TNF-λ өндірісін күшейтеді, ал бұл өз

кезегінде IL-6 және С-реактивті белоктың (CRP, суретте көрсетілмеген) синтезі мен бөлінуін ынталандырады [108]. Сонымен қатар, адгезия молекулаларының түзілуі күшейеді: тамырлық адгезия молекуласы-1 (VCAM-1), тромбоциттерден алынған өсу факторы (PDGF) және тамыр эндотелийінің өсу факторы (VEGF). Эндоплазмалық тордың стресі NLRP3 инфламмасомасын белсендіруге және тотығу стресін күшейтуге қосымша ықпал етеді [109].

Басқа механизм бойынша TLRs белсендірілуі сигналдық іс-әрекеттер каскадын іске қосады, бұл қабыну цитокиндерінің, хемокиндердің және басқа да эффекторлы молекулалардың экспрессиясын күшейтеді [110]. Нәтижесінде, бұл патогендерге қарсы күресуге немесе тіндерді қалпына келтіруге қатысатын иммундық жасушалардың белсенуі мен тартылуына ықпал етеді. Мысалы, TLR4 инсулин сигналын жеткізу мен адипоциттердегі глюкозаны сіңіруді бұзатыны анықталса, TLR2 және TLR9 β -жасушаларда инсулин секрециясын модуляциялайды. TLR4 қабыну реакцияларының туындауында маңызды рөл атқарады. Оның белсендірілуі адаптерлік MyD88 ақуызының тартылуына және NF- κ B сигналдық жолының белсенуіне әкеледі [111].

Деректер эндоплазмалық тордың стресінің NLRP3 инфламмасомасының белсендірілуінде негізгі фактор болып табылатынын және ол ЭТ-да дұрыс қатталмаған немесе қатталмаған ақуыздардың жиналуына жасушалық жауап ретінде пайда болатын тотығу стресімен күшейетінін көрсетеді [112]. Алайда, ЭТ стресі тым күшті немесе ұзаққа созылған жағдайда, ақуыздарды қаттау реакциясы (UPR) проапоптотикалық жолдарды белсендіріп, β -жасушалардың өліміне ұшыратады. Бұл өзара байланысты процестер тотығу және ЭТ стресінің бір-бірін күшейтуіне әкеліп, жүрек-қантамыр ауруларының дамуына ықпал етуі мүмкін [113].

Нәтижесінде IL-1 β , IL-18, IL-6 және TNF- α өндірілуі артады. Бұл цитокиндер жасушадан тыс кеңістікке бөлініп, эндотелий жасушаларына паракриндік молекулалар ретінде әсер етеді, эндотелий адгезия молекулаларының, соның ішінде ICAM-1 және VCAM экспрессиясын күшейтіп, прокоагулянттық белсенділікті арттырады [114]. IL-1 β IRS-1 тирозиндік фосфорлануын және оның гендік экспрессиясын төмендетіп, инсулинге төзімділіктің дамуына ықпал етеді. Соңғы зерттеулер көрсеткендей, қабынуға қарсы (IL-1 β , IL-6, TNF- α , VEGF) және фиброзға бейім (ICAM-1, VCAM-1) гендердің артық экспрессиясы қант диабетімен ауыратын науқастарда нефропатияның пайда болуымен байланысты.

Митохондрия қызметінің бұзылуы, оттегінің белсенді түрлерінің шамадан тыс түзілуі және одан әрі тотығу стресін, қабыну үдерістерін және инсулинге төзімділікті арттырады. Бұл патологиялық өзгерістер метаболикалық тепе-теңдіктің бұзылуын күшейтіп қана қоймай, қантамырлық асқынулардың туындауына да арттырады. Митохондриялық дисфункция механизмдерін түсіну митохондриялық денсаулықты қалпына келтіруге және ұзақ мерзімді асқынулардың алдын алуға бағытталған нысаналы терапиялық шараларды әзірлеуге мүмкіндік береді.

1.2.1 МикроРНК арқылы тотығу стресі мен қабынуды реттеу

МикроРНК - шамамен 18-22 нуклеотидтен тұратын шағын кодталмайтын молекулалар, олар өздерінің нысана мРНК экспрессиясын посттранскрипциялық деңгейде реттей алады. Олардың экспрессиясы сыртқы факторлар мен дәрілік заттардың әсерінен өзгеруі мүмкін. Біз тотығу стресін және NF- κ B-NLRP3 инфламмасома жолын реттеуге қатысатын микроРНК қарастырамыз [115].

МикроРНК-ға арналған зерттеулер соңғы жылдары олардың ауруларды диагностикалаудағы және жасушааралық байланыстағы маңызды рөліне назар аудартады. Жасушадан тыс микроРНК тіндер арасындағы сигналдарды жеткізуде маңызды рөл атқарады және әртүрлі ауруларды диагностикалауда маңызды биомаркер ретінде әлеуетке ие [116]. Әрбір жасушадағы микроРНК мөлшері жасуша ішінде жүретін эндогенді өнім мен жасушадан тыс ортадан экзогенді микроРНК-ның сіңірілуінің үйлесімі арқылы анықталады. Бұл екі фактор жасушадағы жалпы микроРНК деңгейіне әсер етіп, өз кезегінде жасушалық функциялар мен ген экспрессиясына ықпал етуі мүмкін.

Жинақталған деректерге сәйкес, жасушадан тыс везикулалар, әсіресе экзосомалар, қабынудың таралуына ықпал етіп, тамырлық зақымданудың дамуына қатысуы мүмкін. Соңғы зерттеулерде қабыну ошағындағы эндотелий жасушалары бөліп шығаратын EVs-тің моноциттердің қабыну фенотипіне ауысуына әсері зерттелуде. *In vitro* зерттеулер гипергликемиялық жағдайға ұшыраған ЭЖ-де EVs саны мен өлшемінің өзгеретінін, сондай-ақ олардың прокоагулянттық белсенділігі артып, эндотелийдің прогрессивті зақымдалуына ықпал ететінін көрсетті [117]. Қызығы, қартаю да EVs-тің қасиеттері мен олардың микроРНК құрамына осындай әсер етеді. Zhang зерттеулерінде семіздікке ұшыраған тышқандардың адипоциттерінен бөлінген жасушадан тыс везикулалар макрофагтардың қабыну фенотипін айтарлықтай күшейтетінін анықтады, бұл, miR-155 экспрессиясының жоғарылауымен байланысты болуы да ықтимал. Castaño және басқа да зерттеушілер семіздікке ұшыраған тышқандардың қан плазмасынан бөлінген EVs қалыпты тышқандарда глюкозаға төзімсіздік пен дислипидемияның дамуына әкелетінін көрсетті [118]. Бұл бұзылулар экзосомалық miR-122, miR-192 және miR-27 деңгейінің жоғарылауымен байланысты деп болжанады.

Бірқатар зерттеулер тотығу стресінің көптеген микроРНК экспрессия деңгейлерін өзгерте алатынын көрсетті, бұл олардың жасушалардың тотығу стресіне реакциясына қатысуы мүмкін екенін білдіреді [119]. Сонымен қатар, кейбір микроРНК жүрек-қан тамыр жүйесіндегі тотығу стресінің реттеушілері ретінде анықталды, олар ОБС түзушілерге, антиоксиданттық сигнал жолдарына және жекелеген антиоксиданттық эффекторлық ақуыздарға әсер етеді. Мысалы, miR-21 тотығу стресіне қатысы бар бірнеше гендердің, соның ішінде SOD және гемоксигеназа-1 (HO-1) экспрессиясын реттейтіні көрсетілген. miR-126 SIRT1 және SOD2 экспрессиясын индукциялап, эндотелий жасушаларын ОБТ түзілуінен және мерзімінен бұрын қартаюдан қорғайды [120]. miR-140-5p тотығу стресі мен ОБТ деңгейін ядролық эритроидқа қатысты фактор 2 (NRF2),

SIRT-2 және HO-1 ақуыздарының экспрессиясын арттыру арқылы төмендетеді. Бұрын сипатталғандай, қабыну метаболизмдік аурулардың дамуында маңызды рөл атқарады. Соңғы жылдары микроРНК қабынудың негізгі реттеушілері ретінде танылып, оның басталуы мен аяқталуын бақылайтын сигналдық жолдарды модуляциялауда белсенді факторға айналуға [121]. Бірқатар микроРНК қабыну ауруларының патогенезінде маңызды орын алатыны анықталды, ал олардың экспрессия деңгейін реттеу клиникалық терапияның перспективті бағыты ретінде қарастырылуда. Ең көп зерттелген микроРНК қатарына miR-21, miR-146a, miR-10a, miR-9 және miR-155 жатады, олар митохондриялық дисфункция мен қабынуды әртүрлі деңгейде эпигенетикалық реттеуге қатысады [122]. miR-21 және miR-9 қабынуға қарсы әсер көрсетіп, NF- κ B және NLRP3 сигналдық жолдарын белсендіру қабілетімен байланысты болуы мүмкін.

miR-146a митохондриялық деңгейде энергия алмасуына тікелей әсер етеді, ал оның төмен экспрессиясы макрофагтардағы созылмалы қабыну деңгейімен байланысты. miR-155 қабыну процестерін, соның ішінде семіздік, атеросклероз және диабет кезінде реттеуге қатысады. miR-126 май тініндегі инсулин рецепторын реттеумен, сондай-ақ тамырлардың тұтастығын сақтау және ангиогенезбен байланысты [123]. Жакында жүргізілген зерттеулердің бірінде айналымдағы miR-21, miR-126, сондай-ақ GPx және AOPP деңгейлерінің болжамдық маңызы бар екені көрсетіліп, оларды ықтимал биомаркерлер ретінде қарастыруға болатыны анықталды [124].

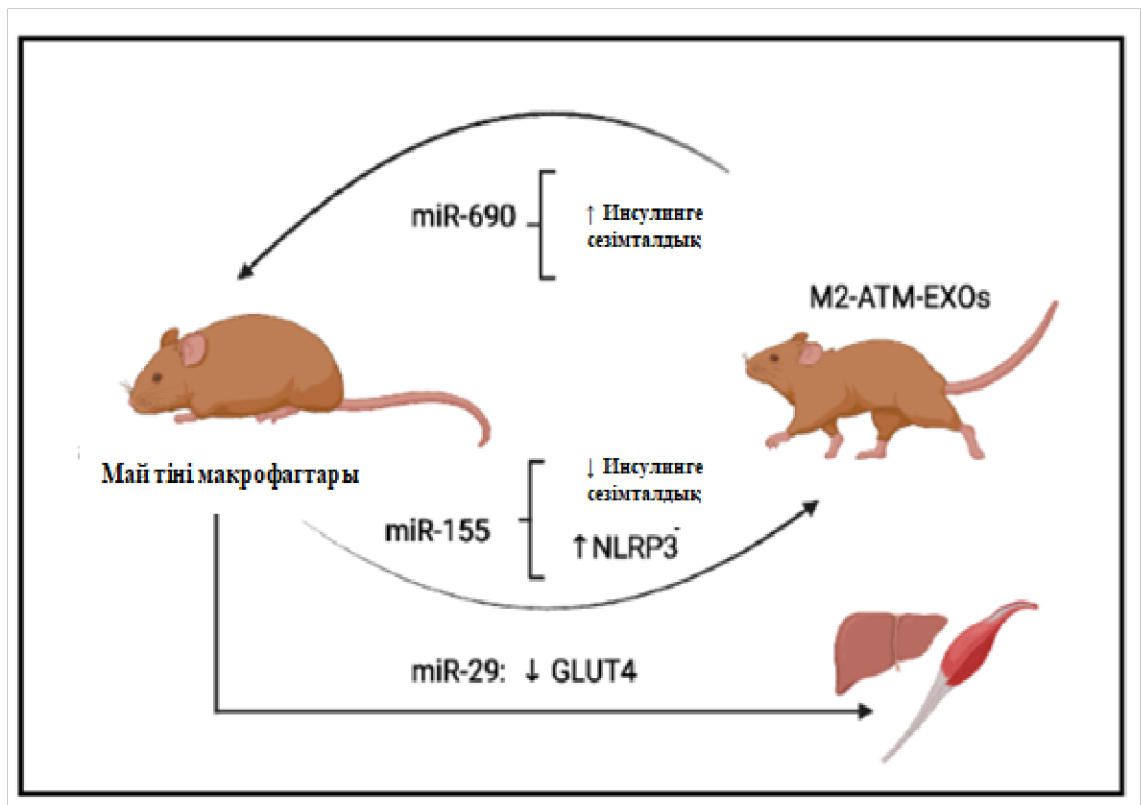
Соңғы зерттеулер семіздік жағдайы жасушадан тыс везикулалардың, соның ішінде экзосомалардың құрамына әсер ете алатынын көрсетті. Бұл везикулалар май тіндері арқылы бөлініп шығып, микроРНК-ны тасымалдай алады [125]. Мысалы, семіз және қалыпты адамдардың май тіндерінен алынған EVs құрамындағы микроРНК профильдері әртүрлі екені анықталған. Сонымен қатар, афроамерикандық әйелдерде бариатриялық хирургияға дейін және кейін EVs құрамындағы микроРНК деңгейлерінің өзгеретіні байқалған, бұл семіздік пен оның емдеу тәсілдерінің EVs ішіндегі микроРНК құрамына әсер ететінін көрсетеді [126]. Семіз және қалыпты жағдайдағы тышқандарға жүргізілген зерттеулер де EVs пен микроРНК құрамындағы өзгерістерді анықтады. Әсіресе, семіз тышқандардың май тініндегі макрофагтардан бөлінетін экзосомалар (ATMEXOs) қалыпты тышқандарға енгізілген кезде, олардың инсулинге төзімділігі мен глюкозаға төзімсіздігін арттырғаны ерекше назар аудартады. Бұл семіздік кезінде май тіндері арқылы бөлінетін EVs нысана жасушалар мен тіндердің метаболикалық гомеостазына ықпал ете алатынын көрсетеді [127].

Бұдан бөлек, қалыпты тышқандардан алынған ATM-EXO-ларды семіз тышқандарға енгізген кезде инсулинге төзімділіктің жақсарғаны байқалды. Зерттеу барысында семіз тышқандардан бөлінген ATM-EXO-ларда miR-155 деңгейі қалыпты тышқандарға қарағанда жоғары болғаны анықталды, ал оның тежелуі глюкозалық гомеостазға кері әсерін азайтты [128]. Сонымен қатар, miR-155 деңгейі төмен қалыпты тышқандардан алынған ATM-EXO-ларды семіз тышқандарға енгізу инсулинге төзімділікті төмендетті. Бұл EV құрамындағы

miR-155 семіздіктің метаболикалық әсерлеріне ықпал етуі мүмкін екенін және оны модуляциялау семіздікпен байланысты метаболикалық бұзылуларға қарсы терапиялық стратегия бола алатынын көрсетеді. Май тінінің макрофагтары miR-155 деңгейі жоғары EV-ларды бөлетіні анықталды [129]. Семіз тышқандарда miR-155 генін жою бақылау тобымен салыстырғанда инсулинге сезімталдық пен глюкозаға толеранттылықты жақсартты, бұл miR-155 инсулиннің нысана-жасушаларына тасымалданып, инсулинге сезімталдыққа айтарлықтай әсер етуі мүмкін екенін көрсетеді. Дегенмен, miR-155-тің NLRP3 инфламмасомасын реттеудегі рөлі әлі толық зерттелмеген. Жақында жүргізілген *in vitro* және атеросклероз моделі (ApoE^{-/-} тышқандар) бойынша зерттеу miR-155-тің тотықан LDL (ox-LDL) әсерінен белсендірілген макрофагтардағы NLRP3 инфламмасомасының белсендірілуіне ERK1/2 сигналы арқылы қатысатынын көрсетті [130].

Керісінше, miR-690 сүйек кемігінің қабынуға қарсы M2-типті макрофагтарынан (M2 Exos) бөлінген экзосомалардағы ең көп кездесетін микроРНК болды. Бұл зерттеудің авторлары M2 Exos-тың *in vitro* және *in vivo* модельдеріндегі әсерін бағалап, олардың қолданылуы май тінінің макрофагтарының (ATMs) белсендіру күйінің қабынуға қарсы M2 тәрізді фенотипке ауысуына ықпал ететінін анықтады [131]. Сонымен қатар, miR-690 миметиктерін қолдана отырып, зерттеушілер miR-690-ға байытылған экзосомалар семіз тышқандардағы инсулинге сезімталдықты жақсартатынын көрсетті. Өз кезегінде, басқа микроРНК-лар эпигенетикалық деңгейде метаболикалық жадты сақтауға қатысады [132].

MiR-29a - семіздікпен байланысты инсулинге төзімділіктің ықтимал реттеушілерінің бірі. Оның деңгейі май тінінің макрофагтарынан бөлінетін экзосомаларда жоғарылап, миоциттерге, гепатоциттерге және адипоциттерге тасымалдана алады, бұл өз кезегінде *in vitro* және *in vivo* жағдайларында инсулинге төзімділікке әкеледі (сурет 3).



Сурет 3 - Экзосомалық микроРНК-лардың метаболикалық аурулардың патогенезіне қатысуының мысалдары

MiR-29 тобына үш микроРНК кіреді: miR-29a, miR-29b және miR-29c. Зерттеулер miR29a және miR-29c қаңқалық бұлшықеттерде GLUT4 рецептор экспрессиясын реттейтінін көрсетті [133]. Бұл микроРНК-лардың мөлшерден тыс экспрессиясы глюкозаның жасушаға енуін бастапқы жағдайда төмендетіп, ал инсулиннің әсерінен гликолиз және глюконеогенез процестерін әлсіретеді. Гипергликемия диабеттік жануарлар моделінің эндотелий жасушаларында метаболикалық жадыны тудырады, бұл miR-27a-3p экспрессиясының жоғарылауына, NRF2 экспрессиясының төмендеуіне, β түрлендіргіш өсу факторы (TGF- β) сигналының күшеюіне, сондай-ақ ОБТ түзілуінің артуына әкеледі [134]. Осы өзгерістердің барлығы диабет кезіндегі жүрек дисфункциясының дамуына ықпал етеді және глюкоза деңгейі төмендетілгеннен кейін де бұл жағдай сақталады. Бұл *in vitro* зерттеуге сәйкес, miR-27a-3p гипергликемия әсерінен болған NRF2 экспрессиясының төмендеуінің негізгі реттеушісі болып табылады және метаболикалық жадының қалыптасуына қатысады. Сондай-ақ, NRF2 белсендірушісі мен miR-27a-3p тежегішін қолдану диабеттік тышқан моделінде миокард функциясын жақсартатыны көрсетілді. Осыған байланысты NF- κ B/miR-27a-3p/NRF2/ROS сигналдық жолы метаболикалық жадыны бұғаттаушы нысанасы ретінде ұсынылды [135].

Семіздік жағдайындағы тышқандардан алынған май тінінің макрофагтарынан бөлінген экзосомалар қалыпты тышқандарға енгізілген кезде инсулинге төзімділік пен глюкозаға толеранттылықтың бұзылуын тудырады

(бұл miR-155-пен байланысты) [136]. АТМ экзосомаларындағы miR-29 миоциттерге, гепатоциттерге және адипоциттерге тасымалданып, *in vivo* жағдайында инсулинге төзімділікке әкелуі мүмкін. Ал miR-690, қабынуға қарсы M2-типті макрофагтардың экзосомаларында көп мөлшерде кездесетін микроРНК, АТМ-ЕХО-ның M2-типті қабынуға қарсы фенотипке қайта бағдарлануына ықпал етеді [137].

MiR-10a NF-κB сигналдық жолына қатысатын бірнеше нысана гендердің жұмысын тежейді. Оның экспрессиясының төмендеуі қабыну жағдайларында байқалады, бұл miR-10a синтетикалық аналогын қолдану арқылы қабыну реакцияларын модуляциялау тиімді терапиялық стратегия болуы мүмкін екенін көрсетеді. Жануарлар модельдерінде жүргізілген зерттеулер miR-10a мимикасы қабынуды әртүрлі ауруларда, соның ішінде диабеттік нефропатияда бәсеңдететінін көрсетті [138]. MiR-10a мимикасының клиникалық қолданудағы, соның ішінде метаболикалық ауруларды емдеудегі терапиялық әлеуетін зерттеу үшін әлі де қосымша зерттеулер қажет.

MiR-9 - қабынуды реттеуге қатысатын тағы бір микроРНК. NF-κB белсендірілген кезде оның экспрессиясы адам моноциттері мен нейтрофилдерінде артады және NF-κB-ге тәуелді жауаптарды кері реттеу функциясын орындайды [139]. Сондай-ақ, miR-9 NLRP3 инфламмасомасының түзілуін тежейтіні анықталды, бұл, JAK1/STAT1 сигналдық жолына әсер ету арқылы жүзеге асады деп болжанады. MiR-9-дың қабынуды реттеудегі нақты механизмдерін анықтау және оның терапиялық әлеуетін зерттеу үшін қосымша зерттеулер қажет [140].

MiR-146a-5p экспрессиясының төмендеуі гипергликемия жағдайында адамның эндотелий жасушаларында (HAECs) анықталады. Сонымен қатар, оның төмендеуі ұзаққа созылған жоғары глюкоза деңгейінің салдары болды. MiR-146a TRAF6 және IRAK1 нысана гендеріне бағытталып, NF-κB байланысу белсенділігін тежейді, сондай-ақ MCR-1 және IL-6 сияқты проатерогендік гендердің экспрессиясына қатысады [141]. Циркуляциядағы miR-146a деңгейінің айтарлықтай жасқа байланысты төмендеуі сау адамдарда да, 2-типті қант диабетімен ауыратын науқастарда да тіркелді. Сонымен қатар, miR-146a қартаюдың денсаулыққа әсерін және жасқа байланысты ауруларға бейімділікті бағалауға арналған жаңа биомаркер ретінде ұсынылады [142].

Циркуляциядағы микроРНК профилі мен экзосомалардағы микроРНК аурудың табиғи ағымының әртүрлі кезеңдерінде айтарлықтай өзгереді және қолданылатын терапияның әсеріне де біршама өзгеріске ұшырауы мүмкін. Сонымен қатар, жаңа деректер микроРНК деңгейін реттейтін әртүрлі емдеу әдістері мен қоспаларды стандартты терапиямен бірге қолдану науқастың жағдайын жақсартудың және тамырлық асқынулардың алдын алудың тиімді тәсілі болатынын көрсетеді [143].

МикроРНК тотығу стресі мен қабыну процестерін реттеуде маңызды молекулалық көпір ретінде әрекет етеді. Олар антиоксиданттық жүйенің қызметін, қабыну цитокиндерінің экспрессиясын және жасушааралық сигнал беру жолдарын модуляциялау арқылы патологиялық процестердің дамуына

тікелей ықпал етеді. МикроРНК деңгейлерінің өзгеруі тотығу стресінің күшеюіне, созылмалы қабынудың артуына және қантамырлық зақымданудың көбеюіне әкелуі мүмкін.

1.2.2 Метаболикалық аурулар кезінде қолданылатын емдеу әдістерінің тотығу стресі мен микроРНК экспрессиясына әсері

Метформин - 2-типті қант диабетін емдеуде кеңінен қолданылатын бірінші қатардағы дәрілік зат. Оның қолжетімділігі мен 60 жылдан астам уақыт бойы клиникалық қолданылуы, сондай-ақ ағзаға кешенді әсер етуі оны жаһандық деңгейде маңызды терапиялық агентке айналдырды [144]. Алдыңғы зерттеулер көрсеткендей, метформин эндотелийдің негізгі биологиялық процестеріне, соның ішінде ангиогенезге, жасушалық қартаюға, пролиферацияға, миграцияға және капиллярлық құрылымдардың түзілуіне ықпал етеді. Сонымен қатар, оның микроРНК экспрессиясын реттеуге әсері анықталған.

Метформиннің әсер ету механизмдерінің бірі - miR-146a және miR-99b деңгейін жоғарылату, сондай-ақ miR-155 экспрессиясын төмендету. Зерттеулер көрсеткендей, метформинмен ем қабылдаған 2-типті қант диабеті науқастарында miR-146a экспрессиясы айтарлықтай артқан [145]. Бұл микроРНК NF- κ B сигналының төмендеуіне қатысады, ал оның экспрессиясының жоғарылауы метформиннің қабынуға қарсы және қартаюға қарсы әсерлерін күшейтуі мүмкін [146].

Сонымен қатар, miR-99b және miR-155 жүрек гипертрофиясын АКТ сигналы арқылы реттейді, бұл метформиннің гипертрофияға қарсы әсерін көрсетеді. Препараттың цитопротекторлық әсері Nrf2/НО-1 сигналының белсенділігі арқылы жүзеге асатыны дәлелденген, бұл процесс АКТ арқылы реттеледі [147].

Клиникалық зерттеулерде метформинмен үш айлық емдеу гликацияны тежейтінін, RAGE арқылы жүретін қабыну реакцияларын төмендететінін және антиоксиданттық деңгейді арттыратынын көрсетті [148]. Алайда, метформиннің метаболикалық ауруларды емдеудегі толық механизмі, әсіресе оның митохондриялық дисфункцияны қалпына келтірудегі, тотығу стресін төмендетудегі және қабыну медиаторларының түзілуін реттеудегі рөлі қосымша зерттеулерді қажет етеді.

Эмпаглифлозин - бұл натрий-глюкоза котранспортері 2 тежегіші болып табылатын және 2-типті қант диабеті мен созылмалы симптоматикалық жүрек жеткіліксіздігі бар науқастарға тағайындалатын антигипергликемиялық әсері бар препарат. Бірқатар *in vitro* зерттеулері оның эндотелий функциясына қорғаныс әсерін көрсеткен [149].

Клиникалық зерттеулерде эндотелий функциясымен байланысты микроРНК-лардың толық жиынтығының экспрессиясы зерттелді. Зерттеуге екі топ қатысты: бірінші топ - 2-типті қант диабеті бар науқастар, қарттық әлсіздік синдромы бар науқастар және эжекция фракциясы сақталған жүрек жеткіліксіздігі (HFpEF) бар науқастар, олар үш ай бойы эмпаглифлозин, метформин немесе инсулинмен ем қабылдады. Екінші топ - жасы сәйкес

келетін дені сау адамдар. Зерттеу нәтижелері HFpEF-пен байланысты жаңа микроРНК сигнатурасын анықтады: HFpEF бар науқастарда дені сау бақылау тобымен салыстырғанда бес микроРНК деңгейінің айтарлықтай өзгергені байқалды - miR-21 және miR-92 экспрессиясы жоғарылап, ал miR-126, miR-342-3p және miR-638 деңгейлері төмендеген [150]. Бұл деректер эмпаглифлозиннің эндотелий функциясын жақсартып, қант диабетінің 2 типі кезінде макротамырлық асқынулардың даму бағытын өзгертуі мүмкін екенін көрсетеді.

DPP-4 ингибиторлары (глиптиндер) - 2-типті қант диабетін емдеуде қолданылатын препараттар тобы. 2006 жылы бұл дәрілерді метформин және сульфонилмочевина туындыларынан кейінгі екінші немесе үшінші қатардағы терапия ретінде қолдануға АҚШ-тың Азық-түлік және дәрі-дәрмек басқармасы (FDA) мен Еуропалық дәрілік заттар агенттігі (EMA) рұқсат берді [151]. Олардың әсер ету механизмі инкретин гормондарының катаболизмін тежеуге негізделген, соның ішінде глюкагонға ұқсас пептид-1 (GLP-1) және гастринингибирлеуші пептид (GIP). GLP-1 аш ішектің дистальді бөлігінде нейроэндокринді L-жасушалармен, ал GIP асқазан мен аш ішектің проксимальді бөлігінде нейроэндокринді K-жасушалармен бөлінеді [152]. Қазіргі таңда DPP-4 ингибиторларының микроРНК деңгейіне әсері жеткілікті зерттелмеген. Бұл бағыттағы зерттеулер негізінен *in vitro* және жануарлар модельдерінде жүргізілген [153].

Адамдардағы әсерін зерттеу мақсатында Catanzaro және оның әріптестері 65 жастан асқан, метформинді базалық терапия ретінде қабылдаған және гликирленген гемоглобин (HbA1c) деңгейі 7,5–9,0% аралығында болған 40 науқастарға зерттеу жүргізді [154]. Бұл зерттеуде науқастарға қосымша түрде ситаглиптин (100 мг тәулігіне бір рет) тағайындалды. 3 және 15 айлық бақылаудан кейін олар екі топқа бөлінді: емге жауап бермегендер (NR) – 15% және оң нәтиже көрсеткендер (R) – 85%. Жіктеу критерийі ретінде HbA1c деңгейінің 7,5%-дан төмен болуы немесе бастапқы мәннен 0,5%-дан артық төмендеуі алынды. Зерттеу нәтижелері көрсеткендей, ситаглиптин терапиясына екі микроРНК – miR-126-3p және miR-223 оң әсер етті. MiR-223 T-жасушалар, нейтрофилдер және моноциттер қызметін реттеуде маңызды рөл атқарады, ал оның айналымдағы деңгейінің жоғарылауы ҚД2Т науқастарында иммундық жауаптың жақсаруына, жасушалардың өміршеңдігіне және жаралардың тез жазылуына ықпал етуі мүмкін. Сонымен қатар, авторлар miR-338-ді глиптиндерге төзімділікті анықтайтын әлеуетті биомаркер ретінде қарастыруды ұсынды. Younis және әріптестері жүргізген тағы бір зерттеуде 2-типті қант диабеті және жүректің ишемиялық ауруы (ЖИА) бар 60 науқас зерттелді [155].

Оларды 2:1 арақатынасында екі топқа бөлді: 40 науқасқа вилдаглиптин мен метформиннің біріктірілген терапиясы қолданылды, ал 20 науқас тек метформин қабылдады. Зерттеудің басында және 12 аптадан кейін интерлейкин-1 β (IL-1 β), гликирленген гемоглобин (HbA1c) және жоғары сезімтал С-реактивті ақуыз (hsCRP) деңгейлері бағаланды. Негізгі нәтижелер көрсеткендей, вилдаглиптин/метформин тобында IL-1 β , hsCRP және HbA1c деңгейлері айтарлықтай төмендеген, ал тек метформин қабылдаған топта

керісінше, бұл биомаркерлердің деңгейі жоғарылаған. FDA глиптиндерді жүрек-қантамыр жүйесі үшін қауіпсіз препараттар ретінде таниды [156]. Олардың кардиопротекторлық әсерінің ықтимал механизмі miR-223 экспрессиясының артуымен байланысты болуы мүмкін, бұл IL-1 β сияқты қабыну цитокиндерінің төмендеуіне ықпал етеді. Тиазолидиндиондар (ТЗД), соның ішінде розиглитазон мен пиоглитазон, пероксисома пролиферациясын белсендіретін гамма-рецепторлардың (PPAR γ) агонисттері болып табылады. Олардың негізгі әсер ету механизмі – инсулинге сезімталдықты арттыру. Бұл препараттар ерекше қасиеттерге ие, ал олардың экспрессиясы негізінен май тінінде жоғары болады [157].

Сонымен қатар, олар басқа тіндерде ісік жасушаларынан алынған жасушадан тыс везикулалардағы микроРНК-ны өзгертуі мүмкін. PPAR γ липогенез бен липидтердің биосинтезінде маңызды рөл атқарады, ал оның ең жоғары белсенділігі ақ май тінінде байқалады. Бұл дәрілік заттар 1990-жылдардың соңынан бастап қолданылып келеді және қазіргі таңда 2-типті қант диабетін емдеуде екінші қатардағы препараттар ретінде кеңінен пайдаланылады [158]. Бірқатар клиникалық зерттеулер кейбір микроРНК мен ТЗД терапиясына жауаптың арасындағы байланысты анықтады. 2015 жылы жүргізілген зерттеуде диабетсіз 93 науқас инсулинге төзімді және инсулинге сезімтал топтарға бөлінді [159].

Инсулинге төзімділік критерийі ретінде плазмадағы тұрақты глюкоза деңгейінің ≥ 180 мг/дл болуы, ал инсулинге сезімталдық үшін <120 мг/дл мәні алынған. Инсулинге төзімді 75 адамның тобында бес микроРНК-ның дифференциалды экспрессиясы анықталды: miR-193b, miR-22-3p, miR-320a, miR-375 және miR-486. Кейіннен барлық қатысушыларға әртүрлі дозада розиглитазон және пиоглитазон тағайындалды. 55 науқас 4 мг розиглитазон қабылдады: алдымен 4 апта бойы, содан кейін 8 мг дозада 8 апта бойы. 38 науқас пиоглитазон қабылдады: алдымен 15 мг – 2 апта, кейін 30 мг – 2 апта, содан соң 45 мг – 8 апта. Зерттеу соңында 36 науқаста инсулинге сезімталдықтың жақсаруы байқалды (жауап беруші топ), ал 11 науқаста (жауап бермейтін топ) айтарлықтай өзгерістер болған жоқ. Осы екі топтың микроРНК экспрессиясын салыстырмалы талдау барысында алты микроРНК деңгейлерінде ерекшеліктер анықталды: miR-20b-5p (1,20 еселік өзгеріс), miR-21-5p (0,92 еселік өзгеріс), miR-214-3p (1,13 еселік өзгеріс), miR-22-3p (1,14 еселік өзгеріс), miR-320a (0,98 еселік өзгеріс) және miR-486-5p (1,25 еселік өзгеріс). Алайда, тек miR-320a және miR-486-5p тиазолидиндиондармен емдеуге оң жауап берген инсулинге төзімді науқастарды анықтауға мүмкіндік берді. Бұл микроРНК-лар инсулинге төзімділік механизмдерімен тығыз байланысты [160,161].

Nunez және әріптестерінің соңғы зерттеуінде пиоглитазон терапиясы жасушадан тыс везикулалардың құрамына әсер ететіні көрсетілді. Бұл зерттеуде 2-типті қант диабетімен ауыратын 24 науқастың плазмалық экзосомаларынан және май тінінен микроРНК бөлініп алынды [162]. Қатысушылар үш ай бойы 45 мг пиоглитазон немесе плацебо қабылдады.

Пиоглитазон қабылдағаннан кейін плазмадағы экзосомаларда бес микроРНК экспрессиясының төмендеуі байқалды: EV-miR-374b-5p, EV-miR-195-5p, EV-miR-20a-5p, EV-miR-7-5p және EV-miR-92a-3p. Алайда, препараттың негізгі нысаналарының бірі болып табылатын май тінінде miR-195-5p деңгейі, керісінше, жоғарылады. Сонымен қатар, EV-miR-374b-5p пен EV-miR-195-5p арасында өзара байланыс анықталды, бұл олардың бірлескен реттелуін көрсетеді. Бұл микроРНК-ның нысана гендерінің ішінде RAF1 экспрессиясы пиоглитазон қабылдағаннан кейін май тінінде төмендеді. Бұл фермент адипоциттердегі липолиздің оң реттеушісі болып табылады. Осылайша, май тініндегі miR-195-5p деңгейінің жоғарылауы липолиздің тежелуіне ықпал етуі мүмкін, бұл дене салмағының артуына әкеледі, бірақ сонымен бірге инсулинге сезімталдықты жақсартады [163].

Мелатонин (N-ацетил-5-метокситриптами́н) митохондрияға ене алады, онда ол электрон-тасымалдау тізбегінің белсенділігін арттырып, АТФ синтезін күшейтеді. Бұл митохондрия мембранасының потенциалын реттеуге және митохондриялық өткізгіштіктің өтпелі тесігінің (mPTP) ашылуын болдырмауға ықпал етеді [164, 165]. Нәтижесінде цитохром С шығуы шектеліп, апоптоздың белсенуі тежеледі. Митохондрияда түзілетін оттегінің белсенді түрлерінің мелатониннің өзі арқылы да, оның метаболиттері - N1-ацетил-N2-формил-5-метоксикинурамин (AFMK) және N-ацетил-5-метоксикинурамин (AMK) арқылы да бейтараптандырылады. Сонымен қатар, мелатонин генетикалық деңгейде антиоксиданттық ферменттердің экспрессиясын арттырып, iNOS және басқа да қабынуға қарсы молекулалардың экспрессиясын төмендетеді [166]. Тотығу стресінің төмендеуі қабынуды азайтады, сондай-ақ мелатониннің NF-κB сигналдық жолы мен NLRP3 кешенін тежеу қабілетін күшейтеді. Бұдан бөлек, ол қартаю кезінде Nrf2 антиоксиданттық әлеуетін қалпына келтіруге ықпал етеді [167].

Соңғы зерттеулер, мелатониннің микроРНК экспрессиясына, соның ішінде қабыну және митохондриялық микроРНК-ларға әсер ететінін көрсетеді. Қант диабетінің жануарлар модельдерінде жүргізілген зерттеулерде мелатониннің жүректі қорғаушы әсері бар екені анықталды, сондай-ақ оның нейрондарды апоптоздан қорғайтыны көрсетілді [168].

Сонымен қатар, ол бүйректегі қабыну мен фиброзды азайтады, бұл NF-κB және TGF-β1/Smad3 сигнальдық жолдарын тежеу арқылы жүзеге асады. Бұл әсер жануарлар модельдерінде де, мезенхималық жасушаларда да байқалған [167,р. 194]. Адамның кіндік венасының эндотелий жасушаларында (HUVEC) жоғары глюкоза концентрациясы (HG) жағдайында мелатонин PI3K/Akt, Bcl-2 және oxLDL/LOX-1 сигналдық жолдары арқылы антиапоптотикалық әсер көрсетті. Сондай-ақ, ол жоғары глюкоза концентрациясында (25 mM) өсірілген, сау донорлардан алынған эндотелий прогениторлық жасушаларына (EPC) әсер етті. Бұл жағдайда мелатонинмен емдеу eNOS фосфорлануын және HO-1 экспрессиясын арттырды [169,170].

Метаболикалық ауруларды емдеуде қолданылатын терапиялық тәсілдер тотығу стресі деңгейіне және микроРНК экспрессиясына айтарлықтай ықпал

етеді. Сонымен қатар, олар қабыну мен жасушалық тұрақтылықты реттеуге қатысатын микроРНК-ның экспрессиясын да қалыпқа келтіреді. Бұл процестер өз кезегінде емдеу нәтижелілігін арттырып қана қоймай, аурудың үдеуін баяулатып, асқынулардың алдын алуға мүмкіндік береді.

Метаболикалық аурулар күрделі патологиялар, олар метаболикалық процестердің бұзылуымен сипатталады, тотығу стресінің жоғарылауымен және микроРНК реттеуіндегі теңгерімсіздікпен қатар жүреді. Қазіргі терапевтикалық тәсілдер негізгі метаболикалық бұзылуларды түзетуге ғана емес, сонымен қатар аурудың дамуының негізінде жатқан молекулалық механизмдерді модуляциялауға бағытталған. Әр түрлі емдеу әдістері тотығу стресінің деңгейіне айқын әсер етеді, оттегінің белсенді түрлерінің жиналуын және молекулалардың зақымдануын азайтады.

Бұл кезекте қабыну процестерінің, апоптоздың және жасушалық тұрақтылықтың негізгі реттегіштері ретінде әрекет ететін микроРНК экспрессиясының өзгерістері ерекше маңызды рөл атқарады. Олардың экспрессиясын қалыпқа келтіру молекулалық гомеостазды қалпына келтіруге, созылмалы қабынуды азайтуға және жасушалардың зақымдаушы факторларға төзімділігін арттыруға көмектеседі. Осылайша, терапевтикалық әсер клиникалық нәтижелерді жақсартып қана қоймайды, сонымен қатар аурудың дамуын бәсеңдетеді, асқынулардың даму ықтималдығын төмендетеді.

2 ЗЕРТТЕУ НЫСАНЫ МЕН ӘДІСТЕРІ

2.1 Зерттеу нысаны және зерттеу жүргізу шарттары

Бұл зерттеуде ҚД2Т-і бар науқастардағы микроРНК экспрессиясы, тотығу стресі маркерлері, қабыну параметрлері, сондай-ақ демографиялық және клиникалық көрсеткіштер арасындағы күрделі өзара байланысты зерттеу үшін көлденең зерттеу дизайны қолданылды.

Қатысушылар Андалусиядағы үш аурухананың амбулаторлық клиникаларынан іріктелініп алынды, олардың ішінде Гранада қаласындағы Сан-Сесилио университеттік ауруханасының эндокринология және тамақтану бөлімі, сондай-ақ Алькала-ла-Реаль және Алькаудете қалаларындағы Жоғары мамандандырылған ауруханалары таңдалды.

Зерттеуге барлығы 92 адам қатысып, олар үш топқа бөлінді:

(1) 30 адам - бақылау тобы;

(2) 34 науқас - ҚД2Т-мен ауыратын, бірақ қан тамырлық асқынулары жоқ науқастар;

(3) 28 науқас - ҚД2Т-мен ауыратын, қан тамырлық асқынулары бар науқастар.

Барлық науқастарға стандартты емдеу шаралары жүргізілді. Қатысушыларды іріктеу зерттеушілер белгілеген енгізу және шеттету критерийлері негізінде жүргізілді.

Зерттеу екі аурухананы қамтитын Андалусия үкіметінің этикалық комитетімен мақұлданды (Тіркеу нөмірі: 1653-N-21). Барлық қатысушылар зерттеуге қатысуға ақпараттандырылған келісімін берді. Зерттеу топтарына 40 жастан асқан және ҚД2Т диагнозы кемінде 5 жыл бұрын Америкалық диабет қауымдастығының (ADA) критерийлеріне сәйкес расталған науқастар енгізілді. Зерттеуге ерлер де, әйелдер де қатысты.

Бақылау тобы: Глюкоза мен инсулинге қалыпты реакциясы бар, 1-дәрежелі қант диабетінің отбасылық анамнезі жоқ, эндокриндік, жүрек-қан тамырлық, тамырлық немесе қабыну патологиялары анықталмаған, сондай-ақ ешқандай қосалқы дәрілік терапия қабылдамайтын дені сау еріктілер.

Қан тамырлық асқынулары жоқ ҚД2Т-і бар науқастар: ҚД2Т бақыланатын, креатинин деңгейі қалыпты және клиникалық немесе зертханалық түрде расталған тамырлық асқынулары жоқ науқастар.

Қан тамырлық асқынулары бар ҚД2Т ауыратын науқастар: ҚД2Т ауыратын, микроангиопатиялық (диабеттік ретинопатия, нефропатия, нейропатия) немесе макроангиопатиялық (инсульт, ишемиялық жүрек ауруы, перифериялық артериялық жеткіліксіздік) асқынулары бар науқастар. Барлық тамырлық асқынулар медициналық құжаттамада немесе клиникалық бағалауда тіркелген. Науқастар дәрігер тағайындаған стандартты ем қабылдайды, оның ішінде қант диабетіне қарсы препараттар қолданылды.

Жалпы шеттету критерийлеріне бауырдың ауыр жеткіліксіздігі, жүйелік аурулар, қатерлі ісіктер, ампутациялар, KDIGO классификациясы бойынша созылмалы бүйрек жеткіліксіздігінің III–V сатылары, сондай-ақ қабыну,

инфекциялық, аутоиммундық аурулар немесе эпилепсияның ҚД2Т диагнозына дейін анықталуы кірді [171].

Қажетті таңдау көлемін бағалау үшін пропорция формуласы қолданылды:

$n = [(1,96)^2 \times p \times (1 - p)] / d^2$, мұнда 1.96 - стандартты коэффициент, ол 95% сенімділік интервалын білдіреді (бұл таңдалған қатысушылар популяцияны дұрыс сипаттайтынына сенімді болу үшін қолданылады); p - популяциядағы белгіленген сипатқа ие адамдардың алдын ала бағаланған үлесі ($p = 0.153$); $1 - p$ - осы сипатқа ие емес адамдардың үлесі (яғни, $1 - 0.153 = 0.847$; d - жіберілетін қатенің мөлшері (нақты мән бұл формуладан кейін көрсетілмеген, бірақ зерттеушілер әдетте қабылданатын шегін өздері белгілейді). Бұл зерттеуде есептеу нәтижесі $n = 12,4$ болды. 12-ге дейін жуықтап және кемінде үш ықтимал маркерді сипаттау жоспарланғанын ескере отырып, әр топтағы науқастардың ең аз саны 36 болуы тиіс деп анықталды. Осылайша, әр топқа 35-36 қатысушыны қосу жоспарланды.

Алайда іс жүзінде ҚД2Т-і бар, бірақ асқынулары жоқ 34 науқасты ғана іріктеу мүмкін болды. Бақылау тобына 33 адам енгізілді, бірақ олардың үшеуінде предиабет жағдайы анықталды. ҚД2Т-нің тамырлық асқынулары бар науқастар тобын іріктеу күрделі болғандықтан бұл топқа тек 28 қатысушыны қосу мүмкін болды.

Зерттеуге қатысушылардың перифериялық қан үлгілері 10-12 сағаттық түнгі ашығудан кейін шынтақ венасынан ЭДТА қосылған пробиркаларға алынды. Пробиркаларға этилендиаминтетраацетат қышқылының қосылуы қанның ұюын болдырмайды. Бұл қан плазмасын және жасушалық компоненттеріне жүргізілетін кейінгі талдаулар үшін маңызды. Қан үлгілері 3500 айн/мин жылдамдықта 4°C температурада 15 минут бойы центрифугаланды. Бұл әдіс қанды бірнеше фракцияға бөлуге мүмкіндік береді: плазма, лейкоцитарлы-тромбоцитарлы қабат және эритроциттік масса [172]. Төмен температурада центрифугалау биомолекулалардың, соның ішінде микроРНК мен ақуыздардың ыдырауының алдын алады. Алынған плазма мен эритроцит үлгілері кейінгі зерттеулерге дейін -80°C температурада сақталды. Терең мұздату микроРНК, ақуыздар және басқа да биомолекулалардың тұрақтылығын қамтамасыз етеді, себебі олар жоғары температурада тез деградацияға ұшырауы мүмкін. Сонымен қатар, медициналық тексеру кезінде қатысушылардың ауру тарихы мен антропометриялық көрсеткіштері, оның ішінде дене салмағы мен бойы тіркелді.

2.2 Биохимиялық талдау

Биохимиялық және гематологиялық параметрлер зерттеуге қатысқан ауруханалардың клиникалық-диагностикалық зертханаларында талданды. Глюкоза, креатинин, мочевина, триглицеридтер, жалпы холестерин, ЖТЛ (HDL) және ТТЛ (LDL) деңгейлерін анықтау үшін Cobas c501 (Roche Diagnostics, Мангейм, Германия) анализаторын пайдалана отырып, колориметриялық ферментативті әдістер қолданылды [173].

Инсулин концентрациясы электрохемилюминесценттік иммуноанализ (ECLIA) әдісімен Cobas e801 (Roche Diagnostics, Мангейм, Германия) анализаторында анықталды. Гликирленген гемоглобин (HbA1c) деңгейі Tosoh HLC-723-G8 (Tosoh, Жапония) анализаторын қолдана отырып, ион алмасу жоғары тиімді сұйықтықтық хроматография (IE-HPLC) әдісімен өлшенді [174].

Инсулинге төзімділік индексі (НОМА-IR) келесі формула бойынша есептелді:

$$\text{НОМА-IR} = [\text{ашқарындағы глюкоза (мг/дл)} \times \text{ашқарындағы инсулин (мкЕд/мл)}] / 405.$$
 Бұл көрсеткіш науқастардағы инсулинге төзімділіктің деңгейін бағалауға мүмкіндік береді және клиникалық тәжірибеде метаболизмдік бұзылыстарды диагностикалау үшін қолданылады.

2.3 МикроРНК экспрессиясын талдау

МикроРНК 100 мкл плазмадан miRNeasy Serum/Plasma Advanced (Qiagen, Барселона, Испания, кат. № 217204) жинағының көмегімен өндірушінің нұсқаулығына сәйкес бөлініп алынды. Бұл әдіс силикагель мембраналарын пайдалана отырып, РНК-ның тиімді байланысуын және оны ақуыздардан, ДНК-дан және басқа қоспалардан тазартуды қамтамасыз етеді [175].

РНК алу тиімділігін бақылау және ішкі қалыптандыру үшін сынамаларға 5 мкл cel-miR-39-30 (478293_mir) сыртқы стандарты қосылды. Cel-miR-39-30 – адам биологиялық сұйықтықтарында кездеспейтін экзогенді микроРНК, сондықтан оны микроРНК экстракциясының сапасы мен тиімділігін бағалау эталоны ретінде қолдануға болады [176].

Алдын ала зертханалық құралдар (пипеткалар, сүзгісі бар ұштықтар, 1.5 мл және 2 мл көлеміндегі стерильді Eppendorf түтіктері) дайындалды. RWT және RPE буферлері абсолютті (96–100%) этанолмен өндірушінің нұсқаулығына сәйкес қайта қалпына келтірілді. 80% этанол жұмыс барысында RNaза-жоқ суымен араластыру арқылы дайындалды (80 мл этанол және 20 мл су).

микроРНК-ларды плазмадан бөліп алу үрдісі келесі реттілікпен жүргізілді:

1. Плазма үлгілері 4 °C температурада ерітіліп, 3000 g-де 10 минут бойы центрифугаланды.

2. Бөлме температурасында әрбір 2 мл Eppendorf түтігіне 200 мкл плазма қосылды.

3. Әр түтікке 60 мкл RPL буфері қосылып, 5 секундтан астам уақыт бойы vortex құрылғысында шайқалып, 3 минут бойы бөлме температурасында сақталды.

4. Одан кейін 20 мкл RPP буфері қосылды, 20 секундтан артық шайқалып, қайтадан 3 минут инкубация жүргізілді

5. Алынған қоспа 12 000 g-де 3 минут бойы центрифугаланды. Центрифугалаудан кейін тұнба түзіліп, мөлдір супернатант алынды.

6. Супернатант (~220 мкл) жаңа Eppendorf түтігіне ауыстырылып, оған 1:1 қатынаста изопропанол қосылып, vortex арқылы араластырылды. Барлық қоспа RNeasy UCP MinElute бағанасына құйылып, 8000 g-де 15 секунд бойы центрифугаланды. Элюат бөлініп алынды.

7. Ұяшықтарға 700 мкл RWT буфері қосылып, 8000 g-де 15 секунд бойы центрифугаланды. Элюат бөлініп алынып, түтік қайта пайдаланылды.

8. Әр бағанаға 500 мкл RPE буфері қосылып, жоғарыда келтірілгендей процестен өтті.

9. Одан кейін 500 мкл 80% этанол қосылып, 8000 g (немесе 10 000 rpm) жылдамдықпен 2 минут бойы центрифугаланды. Элюат жойылды. Бағаналар этанол қалдығымен жанаспауы үшін мұқият бөлініп алынды.

10. Бағаналар жаңа 2 мл стерильді түтіктерге орналастырылып, қақпақтары ашық күйде, ротормен қарама-қарсы бағытта орналастырылып, 12 000 g-де 5 минут бойы толық құрғатылды.

11. Ламинарлық шкафта жұмыс жүргізу барысында, бағаналар жаңа 1.5 мл RNаза-жоқ түтіктерге ауыстырылғаннан кейін, 20 мкл RNаза-жоқ су қосылды. 1 минут күткеннен кейін, қалған 1 минут бойы максималды жылдамдықта центрифугаланды. Нәтижесінде 18 мкл көлемінде микроРНҚ элюаты алынды (2 мкл бағана ішінде қалып қояды). микроРНҚ концентрациясы 1.5 мкл көлеміндегі элюаттан өлшенді. Алынған РНҚ үлгілері ары қарай зерттеулер үшін -80 °С температурада сақталды.

Таңдалған микроРНҚ-лар үшін кері транскрипция (RT) және сандық ПТР (qPCR) талдаулары TaqMan MicroRNA Advanced жинағы (Thermo Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс, АҚШ) арқылы өндірушінің хаттамасына сәйкес жүргізілді [177]. Процедура қатарынан төрт кезеңнен тұрды: РНҚ полиаденилденуі, адаптерді байланыстыру, кері транскрипция (RT) және преамплификация (miR-Amp).

1. РНҚ полиаденилденуі (Poly (A) Tail Reaction)

Жұмысты бастамас бұрын жиынтықтың құрамдас бөліктері мұзда баяу ерітілді, араластырылады және аз уақыт центрифугаланады. Бір реакция үшін 0,5 мл пробиркада реакция қоспасы дайындалды:

- RNase-free su-1,7 мкл
- 10× Poly (A) буфері-0,5 мкл
- АТР-0,5 мкл
- Poly (A) Polymerase-0,3 мкл
- Жалпы көлемі-3 мкл.

Содан кейін 0,2 мл түтіктерге 2 мкл РНҚ үлгісі және 3 мкл дайындалған қоспасы енгізілді. Араластырып, центрифугалағаннан кейін үлгілер термоциклерде инкубацияланды.

2. Адаптерді байланыстыру

Келесі қадам адаптер тізбегін байланыстыру үшін 0,5 мл пробиркада қажет қоспа дайындалды:

- RNase-free су-0,4 мкл
- 5× DNA лигаза буфері-3 мкл
- 50% PEG 8000-4,5 мкл
- 25× лигаза адапторы-0,6 мкл
- RNA лигазасы-1,5 мкл
- Жалпы көлемі-10 мкл

Ферменттер соңғы кезекте қосылды. Алынған қоспа мұқият араластырылып, алдыңғы кезеңнің өнімін қамтитын реакциялық пробиркаға енгізілді (жалпы көлемі 15 мкл). Содан кейін пробиркалар төмендетілген температурада термоциклде инкубацияланды.

3. Кері транскрипция реакциясы (RT реакциясы)

- 1,5 мл пробиркада RT қоспасы әзірленді:
- RNase-жоқ су -3,3 мкл
- 5× RT буфері -6 мкл
- dNTP Mix (әрқайсысы 25 mM) - 1,2 мкл
- 20× Universal RT Primer -1,5 мкл
- 10× RT Enzyme Mix -3 мкл
- Жалпы көлемі -15 мкл

Араластырып, центрифугалағаннан кейін 15 мкл RT қоспасы алдыңғы кезеңде алынған 15 мкл өнімге қосылды, араластырылды және термоциклдерде инкубацияланды. Үлгілер -20 °C температурада сақталды (аликоттар 10 мкл-ден).

4. Реамплификация (miR-Amp Reaction)

кДНК сигналын күшейту үшін 1,5 мл пробиркада преамплификация жүргізілді:

- RNase-жоқ су -17,5 мкл
- 20× miR-Amp Primer Mix -2,5 мкл
- 2× miR-Amp Master Mix -25 мкл
- Жалпы көлемі -45 мкл

Содан кейін 0,2 мл-лік жаңа түтіктерге 45 мкл қоспасы және 5 мкл RT өнімі (жалпы көлемі 50 мкл) енгізілді, араластырылып, центрифугаланды және термоциклдерде инкубацияланды. Үлгілер -20 °C температурада 15 мкл екі аликвот түрінде сақталды

Сандық ПТР (qPCR) реакциясы 20 мкл соңғы алынған өнім көлемінде жүргізілді, оған TaqMan Fast Advanced Master Mix қоспасы және әр микроРНҚ үшін арнайы TaqMan Advanced Assays тест-жүйелері (miR-21-5p: тест-жүйе 477975_mir; miR-126-5p: тест-жүйе 477888_mir; miR-146a-3p: тест-жүйе 478714_mir; miR-155-5p: тест-жүйе 483064_mir; miR-484-5p: тест-жүйе 478308_mir; miR-27a-3p: тест-жүйе 478384_mir; miR-210-3p: тест-жүйе 477970_mir) (Thermo Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс, АҚШ) қолданылды. Реакциялар Agilent Technologies Stratagene Mx3005P (Agilent Technologies, Мадрид, Испания) жүйесінде жүргізілді.

Әр сынама QuantStudio 7 Pro Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс, АҚШ) құрылғысында өндіруші нұсқауларына сәйкес үш рет қайталау арқылы орындалды [178]. Сандық ПТР үш негізгі кезеңнен тұрады:

Денатурация (95°C, 10–15 секунд) - ДНК жіпшелері ажырайды.

Гибридизация және кеңею (60°C, 30–40 секунд) - праймерлер мен TaqMan зондтары мақсатты микроРНҚ-ға таңдамалы түрде байланысады, ал ДНК полимераза амплификацияны бастайды.

Флуоресценцияны тіркеу - әр амплификациялық циклде жинақталған өнімнің мөлшеріне пропорционалды флуоресцентті сигнал анықталады.

Деректер SDS 2.3 және RQ Manager 1.2 бағдарламалық жасақтамасы арқылы талданды. Әрбір микроРНҚ экспрессиясының салыстырмалы деңгейі $2^{-\Delta\Delta C_t}$ әдісімен есептелді [179]. ПТР нәтижелерін талдау үшін $C_t < 33$ мәні бар сынамалар таңдалды. Әр науқастың микроРНҚ экспрессиясы C_t шекті мәндеріне сәйкес сол ПТР пластинасындағы бақылау тобымен салыстырмалы түрде есептелді.

2.4 Қабыну параметрлерін анықтау

Плазма фракциясындағы цитокиндердің экспрессиясын талдау үшін HCYTA-60K-07 Human Cyto Panel (Invitrogen, Мадрид, Испания) жиынтығы қолданылды. Ол IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-8/CXCL8, IL-18, MCP1/CCL2 және TNF- α сияқты цитокиндерді анықтауға мүмкіндік береді және өндіруші нұсқаулығына сәйкес жүргізілді [180]. Бұл әдіс мультиплексті талдау принципіне негізделген, ол бір үлгіден бірнеше цитокин концентрациясын бір уақытта өлшеуге мүмкіндік береді, осылайша зерттеу тиімділігі мен дәлдігін арттырады.

Плазма үлгілеріндегі бірнеше цитокиндердің экспрессиясын бір уақытта жоғары дәлдікпен анықтау үшін HCYTA-60K-07 Human Cyto Panel мультиплексті жиынтығы (Invitrogen, Мадрид, Испания) пайдаланылды. Бұл панель IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-8/CXCL8, IL-18, MCP-1/CCL2 және TNF- α секілді негізгі қабыну медиаторларының концентрациясын бір үлгіде бірдей уақытта өлшеуге мүмкіндік береді.

Аталған әдіс Luminex xMAP (Multi-Analyte Profiling) технологиясына негізделген. Ол әртүрлі ішкі кодталған микросфераларды (beads) қолдануға сүйенеді - әр микросфера ерекше спектрлік қасиетке ие және бірегей флуоресценттік сигнал шығара алады. Әр bead-ке белгілі бір цитокинге жоғары сезімталдығы бар антидене ковалентті түрде бекітілген.

Процедура келесі негізгі кезеңдерден тұрады:

Үлгілерді дайындау және инкубация:

Плазма үлгілері арнайы буфермен сұйылтылып, микросфералармен бірге инкубацияланады. Бұл кезеңде әрбір микросфера өзіне сәйкес цитокинмен кешен құрайды (антиген-антидене байланысы арқылы).

Детекторлық антидене қосу:

Инкубациядан кейін әр кешенге биотинмен белгіленген екінші реттік (детекторлық) антидене қосылады. Бұл антиденелер цитокиндердің басқа эпитоптарымен байланысады, осылайша sandwich-комплекс түзіледі.

Флуоресцентті стриптавидин-фитохром (streptavidin-PE) қосу:

Детектор антиденелермен кешендер түзілген соң, PE (phycoerythrin) флуоресцентті белгісімен байланысқан стриптавидин қосылады. Бұл белгі жарық сәулеленуді күшейтіп, флуоресценттік сигнал береді.

Сигналды өлшеу:

Дайын кешендер Luminex 200 (LX200) құрылғысы арқылы талданады. Бұл құрылғы екі лазердің көмегімен:

Бірінші лазер арқылы микросфераның типін (яғни қандай цитокинге тән екендігін);

Екінші лазер арқылы флуоресцентті сигналдың қарқындылығын (цитокин концентрациясының деңгейін) өлшейді.

Сандық талдау:

Алынған флуоресценттік сигналдар калибрлеу қисығы негізінде (стандартты ерітінділермен құрылады) өңделіп, цитокиндердің нақты концентрациясы пг/мл бірлігінде есептеледі. Бұл есептеулер Luminex Xponent Solution Software 3.1 бағдарламасы көмегімен жүргізіледі. Иммундық жауап пен қабыну деңгейін нақты бағалауға мүмкіндік береді, бұл 2 типті қант диабеті кезіндегі жүрек-қантамыр асқынуларының дамуындағы қабынудың рөлін анықтауға мүмкіндік береді.

Цитокиндердің концентрациясы Luminex Xponent Solution Software 3.1 (Luminex Corporation, Остин, Техас, АҚШ) бағдарламалық жасақтамасы арқылы есептеліп, пг/мл түрінде өрнектелді [181]. Бұл талдау қабыну деңгейін және науқастардың иммундық жауабын бағалауға мүмкіндік береді, атап айтқанда 2-типті қант диабеті кезіндегі жүрек-қантамыр асқынуларының патогенезін зерттеу үшін маңызды.

Сонымен қатар, алынған мәліметтер статистикалық талдауға жіберіліп, әрбір цитокиннің экспрессия деңгейі мен мРНК, тотығу стресінің биомаркерлері және клиникалық көрсеткіштер арасындағы ықтимал өзара байланыс анықталды. Бұл кешенді тәсіл цитокиндердің жүрек-қантамырлық асқынулардың дамуына әсерін бағалауға және биомаркерлік профильдерді нақтылауға мүмкіндік берді.

2.5 Тотығу стресі көрсеткіштерін анықтау

2.5.1 Липидтердің асқын тотығуы (ЛАТ) деңгейін анықтау

Липидтердің асқын тотығу деңгейі коммерциялық колориметриялық жинақ (KB03002, Bioquochem kit, BQC Redox Technologies, Астурия, Испания) көмегімен анықталды. Бұл әдіс көп қанықпаған май қышқылдарының тотығу деградация өнімдерінің сандық мөлшерін бағалауға негізделген [182]. Олардың ішінде малондильдегид (MDA) және 4-гидроксиалкеналдар бар, олар тотығу стресінің биомаркерлері болып табылады. Барлық рәсімдер өндірушінің нұсқауларына сәйкес жүргізілді. Талдау тиобарбитур қышқылымен (ТБА) реакция жүргізу арқылы орындалды, нәтижесінде түсті кешен түзіліп, оның қарқындылығы MDA және 4-гидроксиалкеналдардың концентрациясына тура пропорционалды болды. Оптикалық тығыздық 586 нм толқын ұзындығында спектрофотометр көмегімен өлшенді, ал LPO концентрациясы нмоль/мл түрінде көрсетілді.

2.5.2 Ақуыздардың алдыңғы тотыққан өнімдері (AOPP) деңгейі

Ақуыздардың алдыңғы тотыққан өнімдері деңгейі спектрофотометриялық әдіспен микропланшеттік ридерде анықталды, *Witko-Sarsat* және авторлар

әдістемесіне сәйкес [183]. Бұл көрсеткіш ақуыздардың тотығу зақымдану дәрежесін сипаттайды, ол түрлі созылмалы аурулардың, соның ішінде 2-типті қант диабеті кезіндегі жүрек-қан тамырлық асқынуларының патогенезінде маңызды рөл атқарады.

Калибрлеу үшін хлорамин-Т стандартты ерітіндісі пайдаланылды, ол тотыққан ақуыздарға ұқсас қасиеттерге ие. Калибрлеу қисығы 0–100 нмоль/мл концентрация диапазонында калий йодиді (10 мкл) және сірке қышқылы (20 мкл) қатысуымен әзірленді, бұл реакцияны күшейту үшін қажет.

Оптикалық тығыздық 340 нм толқын ұзындығында өлшенді және бақылау үлгісімен салыстырылды, оның құрамында 200 мкл PBS, 10 мкл калий йодиді және 20 мкл сірке қышқылы болды. AOPP концентрациясы хлорамин-Т эквиваленттері бойынша нмоль/мл түрінде есептелді.

2.5.3 Нитриттер мен нитраттардың концентрациясын анықтау

Азот оксиді (NO) - қан тамырларының тонусын реттеуге, қабыну реакцияларына және иммундық жауапқа қатысатын биологиялық белсенді молекула. Алайда, NO өте тұрақсыз қосылыс болғандықтан, оның биологиялық үлгілердегі мөлшерін тікелей өлшеу мүмкін емес. Сол себепті, оның концентрациясын нитриттер (NO_2^-) мен нитраттар (NO_3^-) деңгейі арқылы жанама түрде анықтайды, себебі олар судағы азот оксидінің тотығу өнімдері болып табылады. NO синтезін дәлірек бағалау үшін, нитраттардың нитриттерге дейін тотықсыздануын қамтамасыз ету қажет. Сондықтан, зерттеуде нитраттарды нитратредуктаза ферментінің көмегімен тотықсыздандырып, жалпы NOx концентрациясын анықтау әдісі қолданылды.

Зерттеу әдісі:

Нитриттер мен нитраттардың концентрациясын анықтау үшін Грисс реакциясы (Griess reaction) қолданылды. Бұл әдіс негізінен нитриттердің азот қосылыстарымен реакцияға түсіп, түсті кешен түзуіне және оның спектрофотометриялық әдіспен өлшеуіне негізделген.

1. Үлгілерді дайындау

Талдау үшін қан плазмасы қолданылды. Алдын ала қанның формалық элементтері центрифугалау арқылы бөлініп алынды.

Үлгілерден артық ақуыздарды жою үшін ақуыздарды тұнбаға түсіру және супернатантты сүзу әдістері қолданылды.

2. Нитраттарды нитриттерге дейін тотықсыздандыру

Нитраттар (NO_3^-) азот оксидінің тотығу нәтижесінде түзілетін соңғы өнім болып табылады. Сондықтан, олардың мөлшерін анықтау үшін оларды нитриттерге дейін тотықсыздандыру қажет. Бұл процесс нитратредуктаза ферментінің көмегімен жүзеге асырылды. Ферменттің белсенділігі үшін NADPH коферменті реакциялық қоспаға қосылды. Реакция 37°C температурада 30–60 минут бойы инкубацияланды, бұл толық тотықсыздану үшін жеткілікті уақыт.

3. Грисс реакциясы

Грисс реакциясы - нитриттердің арнайы Грисс реагенттерімен әрекеттесуі нәтижесінде түсті азоқосылыстардың түзілуіне негізделген әдіс.

Процедура:

- Үлгілерге Грисс реагенті қосылды. Ол екі негізгі компоненттен тұрады:

Сульфаниламид ерітіндісі (нитриттермен әрекеттесіп, diaзоний қосылысын түзеді).

N-(1-нафтил)-этилендиамин (diaзоний қосылыстарымен әрекеттесіп, қызғылт түсті азоқосылыс түзеді).

- Реакциялық қоспа бөлме температурасында 10–15 минут инкубацияланды.

- Алынған түсті кешеннің оптикалық тығыздығы 550 нм-де спектрофотометр арқылы өлшенді.

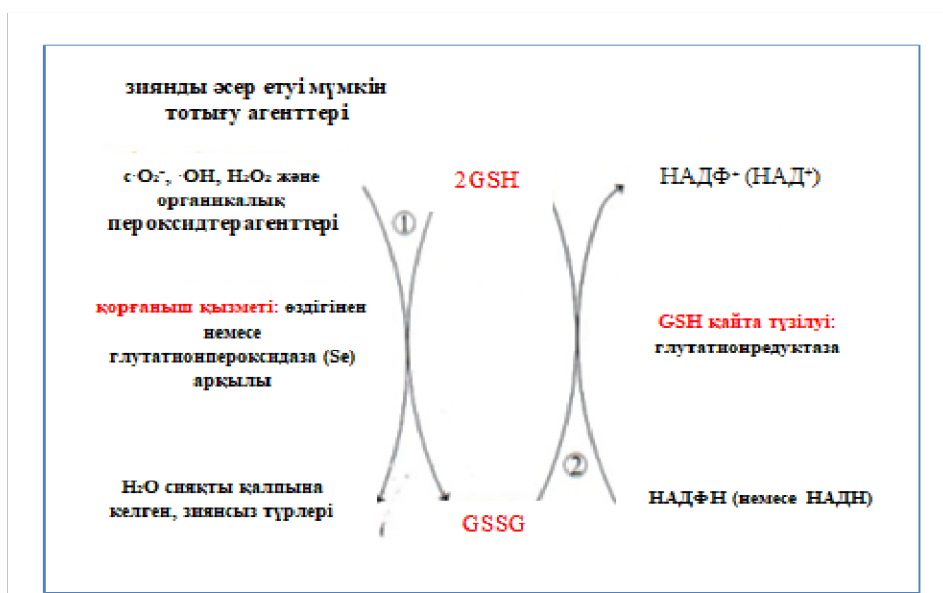
4. Калибрлеу және нәтижелерді есептеу

Нәтижелерді салыстыру және есептеу үшін NaNO_2 негізіндегі стандарттық ерітінділер (1–100 мкМ диапазонында) қолданылды. Осы калибрлеу қисығы негізінде зерттелген үлгілердегі NO_x концентрациясы есептелді. Қорытынды көрсеткіштер моль/л (mol/L) түрінде берілді.

2.6 Антиоксиданттық ферменттер белсенділігін анықтау

2.6.1 Тотықсызданған және тотыққан глутатион деңгейлерін анықтау

Қалпына келген глутатион (GSH) және тотыққан глутатион (GSSG) деңгейлері тазартылған эритроциттерде О-фталев альдегиді (O-Phthalaldehyde, OPA) флуоресцентті реагенті көмегімен анықталды. Глутатион жасушаларды тотығу стресінен қорғауда маңызды рөл атқарады, ал GSH мен GSSG арасындағы тепе-теңдік антиоксиданттық жүйенің жағдайын бағалаудың негізгі көрсеткіші болып табылады. Бұл реагент GSH-тің тиолды тобымен байланысып, флуоресцентті кешен түзеді.



Сурет 4 - Глутатионды антиоксиданттық жүйенің әрекет ету механизмі

Үлгілерді дайындау:

Эритроциттерді толық қанды центрифугалау арқылы бөліп, содан кейін плазма мен лейкоциттерді жою үшін физиологиялық ерітіндімен жудық.

Гемолиз процесі 5% метафосфор қышқылы бар буферді қосу арқылы жүзеге асырылды, бұл глутатионның тұрақтылығын сақтауға және оның тотығуын болдырмауға мүмкіндік береді. Алынған супернатант қайта центрифугаланып, талдауға қолданылды.

Флуоресценттік талдау:

GSH анықтау: Тотықсызданған глутатион (γ-глутамилцистеинилглицин немесе GSH) - табиғи шыққан үшпептид, оның тотықсыздандырғыш және нуклеофильдік қасиеттері көптеген аэробты жасушалардың метаболизм жолдарында және антиоксиданттық жүйелерінде маңызды рөл атқарады. GSH о-фталальдегидпен (OPT) pH = 8.0 кезінде спецификалық реакцияға түседі, нәтижесінде жоғары флуоресценциялы өнім түзіледі, оны 350 нм-де белсендіруге болады, эмиссияның шыңы 420 нм-де болады (*Hissin және Hilf*, 1976) [184]. Реакцияның нәтижесі соңғы pH деңгейіне тәуелді, ол 8.0 болуға тиіс. Флуоресценцияның интенсивтілігі pH 8.0-ден төмен болғанда азаяды, ал pH 8.0-ден жоғарылағанда GSSG GSH-ға айналады.

Мұзды ваннада жуу арқылы алынған эритроциттердің үлгісін және GSH 1,3 нМ аликвотын еріту үшін түтікшелерді сұйылтылды. Эритроциттерді гемолиз буферінде 1:20 қатынасында сұйылтылды. Мысалы, Eppendorf түтікшесінде: 50 мкл эритроциттер + 950 мкл гемолиз буфері. Жақсылап араластырып, 5 минут инкубацияға қойылды. Сұйылтылған эритроциттер үлгісін депротейнизациялау үшін оны 10% ТСА-мен 1:1 қатынасында араластырылды. Мысалы, Eppendorf түтікшесінде: 300 мкл сұйылтылған эритроциттер + 300 мкл 10% ТСА. Қоспаны вортексте араластырып, 15 минут 20 000 g жылдамдықпен және 4°C температурада центрифугаланды. GSH анықтау үшін супернатант пайдаланылды.

Кесте 1 - GSH үшін стандартты қисықты дайындау

Түтікше	GSH	В буфері	GSH концентрациясы		
			мкг/мл	нмоль/мл	Бағдарламадағы стандартты қисықтың мәндері
№. 5	100 мкг de GSH 40 мкг/мл	100 мкг	20	65.000	
№. 4	100 мкг de GSH 20 мкг/мл	100 мкг	10	32.500	
№. 3	100 мкг de GSH 10 мкг/мл	100 мкг	5	16.250	
№. 2	100 мкг de GSH 5 мкг/мл	100 мкг	2.5	8.125	
№. 1	100 мкг de GSH 2,5 мкг/мл	100 мкг	1.25	4.062	
Бос үлгі	-	200 мкг	0		

Микропланшеттегі ұяшықтарды дайындау пропорциялары келесідей: бірінші ұяшыққа 190 мкл фосфатты буфер (бақылау) қосылады, содан кейін әрбір келесі ұяшыққа стандартты ерітінділердің 10 мкл қосылады, концентрациясы ең төменнен ең жоғары мәнге дейін. Келесі ұяшықтарға зерттелетін үлгілердің 10 мкл қосылады. Әрбір ұяшыққа 180 мкл фосфатты буфер рН 8.0 қосылады.

Бұл стандартты нүктелер мен үлгілер үшін пропорциялар төмендегі кестеде көрсетілген.

Кесте 2 - Пластинаның ұяшықтарын дайындау

	Ст 1=10 мкг GSH 1.25 мкг/мл +180 мкг ВБ	Ст 2= 10 мкг GSH 2.5 мкг/мл +180 мкг ВБ	Ст 3=10 мкг GSH 5.0 мкг/мл +180 мкг ВБ	Ст 4=10 мкг GSH 10.00 мкг/мл +180 мкг ВБ	Ст 5=10 мкг GSH 20.00 мкг/мл +180 мкг ВБ	Y1=10 мкг үлгі +180 мкг ВБ
БҮ	Ст 1	Ст 2	Ст 3	Ст 4	Ст 5	Y1

96-ұяшықты микропланшет пластинасын дайындау үшін бірінші ұяшыққа 190 мкл фосфатты буфер (бақылау) қосылды, содан кейін стандартты ерітінділердің 10 мкл-ден кезекпен енгізілді, минималдыдан максималды концентрацияға дейін. Келесі ұяшықтарға 10 мкл зерттелетін үлгілер қосылды. Әрбір ұяшыққа 180 мкл фосфатты буфер рН 8.0 қосылды. Содан кейін әрбір ұяшыққа 10 мкл о-фталальдегид ерітіндісін Nichirio пипеткасымен қосылды. Пластина 5 секунд бойы микропланшет араластырғышында араластырылды және 25°C температурада флуориметриялық құрылғыда 20 минут бойы инкубацияланды. Флуоресценцияны өлшеу FLx 800 Microplate Fluorescence Reader (Bio-Tek Instruments, Inc) флуориметриялық құрылғысы көмегімен жүргізілді. Өлшеу нәтижелері басып шығарылып, әрі қарай талдау үшін қолданылды. Глутатион (GSH) концентрациясы зерттелетін үлгілердің флуоресценциясын стандартты калибрлеу қисығының флуоресценциясымен салыстыру арқылы анықталды, ол 0,2-3,25 нмоль/мл аралығындағы стандартты GSH ерітінділерін пайдаланып құрастырылды [185]. GSH концентрациясы мкмоль/г гемоглобин (мкмоль/г Hb) түрінде есептелді.

GSSG анықтау: Алдымен, еркін тиол топтары N-этилмалеимид (NEM) арқылы блокталды. Одан әрі GSSG-ті GSH-қа дейін қалпына келтіру үшін дигитиотреитол секілді тотықсыздандырғыш қолданылып, содан кейін флуоресценттік талдау жүргізілді.

Флуоресценция 350 нм қоздыру және 420 нм эмиссия толқын ұзындықтарында микропланшеттік флуоресцентті ридер (FLx800; BioTek Instruments Inc., Шарлотт, Вермонт, АҚШ) көмегімен өлшенді. Зерттеу Hissin және Hilf әдістемесіне сәйкес жүргізілді [186].

GSSG деңгейін анықтау үшін келесі әдістеме қолданылды. Алдын ала Eppendorf түтікшелеріне арналған центрифуга 4 °C температураға дейін

салқындатылды, ал флуоресцентті детектор 25 °C-қа қойылды. Гемолиз буфері, фосфатты-EDTA буфері (TF-EDTA) және метанол пайдаланылды.

Эритроцит үлгілері мен стандартты GSSG (0,4 мг/мл) ерітіндісінің аликвоттары мұзды ваннада ерітілді. Эритроциттер гемолиз буферімен 1:1 қатынасында (мысалы, 300 мкл эритроцит + 300 мкл буфер) араластырылып, 5 минут инкубацияланды. Содан кейін, 10% TCA ерітіндісімен 1:1 қатынасында қосылып, депротеиндендірілді. Қоспа вортесте жақсылап шайқалып, 20 000 g жылдамдықпен 15 минут бойы 4 °C температурада центрифугаланды. Алынған супернатант GSSG анықтауға пайдаланылды. Қалпына келген глутатионды жою үшін супернатант 5 мг/мл концентрациядағы N-этилmaleимид (NEM) ерітіндісімен 1:1,4 қатынасында өңделді (мысалы, 200 мкл супернатант + 80 мкл NEM). Қоспа бөлме температурасында 40 минут инкубацияланды.

Бұл уақытта стандартты калибрлеу қисығы дайындалды: стандартты GSSG ерітіндісі (0,653 мкмоль/мл) NaOH 0,1 N ерітіндісімен 1:10 қатынасында (20 мкл GSSG + 180 мкл NaOH) араластырылды. Осылайша, 40 мкг/мл (немесе 65,3 нмоль/мл) концентрациясындағы жұмыс ерітіндісі алынды, одан кейін жұмыс ерітінділерінің сериясы 3-кестеге сәйкес дайындалды.

Кесте 3 - GSSG үшін стандартты калибрлеу қисығын дайындау

	GSSG (40 мкг/мл)	NaOH 0.1 N	GSSG концентрациясы		
			мкг/мл	нмоль/мл	
№. 5	100 мкл GSSG 40 мкг/мл	100 мкг	20	32.65	Бағдарлама үшін стандартты қисықтың мәндері
№. 4	100 мкл GSSG 20 мкг/мл	100 мкг	10	16.32	
№. 3	100 мкл GSSG 10 мкг/мл	100 мкг	5	8.16	
№. 2	100 мкл GSSG 5 мкг/мл	100 мкг	2,5	4.08	
№. 1	100 мкл GSSG 2,5 мкг/мл	100 мкг	1,25	2.04	
бос үлгі	-	200 мкг	0		

Инкубациядан кейін үлгі түтікшесіне 720 мкл NaOH 0,1 N қосып, араластырылды (үлгіні 1:5 есе сұйылту).

Пластинаны дайындау реттілігі төмендегі кестеде көрсетілген:

Кесте 4 - Пластинкалардағы орындарды дайындау

БҮ=190 мкг NaOH 0.1 N	Ст1=10мкг GSSG 1,25 мкг/мл +180 мкг NaOH 0.1 N	Ст 2= 10мкг GSSG 2,5 мкг/мл +180 мкг NaOH 0.1 N	Ст 3=10мкг GSSG 5,0 мкг/мл +180 мкг NaOH 0.1 N	Ст 4=10мкг GSSG 10,00 мкг/мл +180 мкг NaOH 0.1 N	Ст 5=10мкг GSSG 20,00 мкг/мл +180 мкг NaOH 0.1 N	Ү1=30мкг үлгі дайын. +160 мкг NaOH 0.1 N
БҮ	Ст 1	Ст 2	Ст 3	Ст 4	Ст 5	Ү1

Инкубация аяқталғаннан кейін зерттелетін үлгі құйылған пробиркаға 720 мкл 0,1 N NaOH ерітіндісі қосылып, араластырылды. Бұл үлгіні 5 есеге дейін сұйылтуға сәйкес келеді. О-фталальдегид реагентін дайындау үшін ол дәл өлшеніп, ерітіледі. Бұл кезде пробирка жарықтан қорғалып, мұзды ваннаға орналастырылды. Содан кейін 96-ұяшықты планшет дайындалды. Бірінші ұяшыққа (бақылау) 190 мкл 0,1 N NaOH ерітіндісі қосылды. Одан кейін стандартты GSSG ерітінділері ең төменгі концентрациядан ең жоғарысына дейін ретімен 10 мкл көлемінде енгізіліп, әрқайсысына 180 мкл NaOH қосылды. Қалған ұяшықтарға зерттелетін үлгілерден 30 мкл көлемінде құйылып, 160 мкл NaOH ерітіндісі қосылды. Nichirio микропипеткасының көмегімен барлық ұяшықтарға (стандарттар мен үлгілер) 10 мкл OPT ерітіндісі енгізілді. Планшет пластиналық шайқағышта 5 секунд шайқалып, кейін 25°C температурада флуориметриялық құрылғыда дәл 25 минут бойы инкубацияланды. Флуоресценцияны өлшеу FLx 800 Microplate Fluorescence Reader (Bio-Tek Instruments, Inc) құрылғысында жүргізілді. Қоздыру толқын ұзындығы – 350 нм, ал сәуле шығару толқын ұзындығы – 420 нм. Нәтижелер автоматты түрде тіркелді. GSSG мөлшерін анықтау үшін үлгілерден алынған флуоресценция көрсеткіштері 2,04–32,65 нмоль/мл концентрация диапазонында дайындалған стандартты ерітінділердің калибровкалық қисығымен салыстырылды. GSSG деңгейі жалпы ақуызға қатысты мкмоль/г түрінде, сұйылту коэффициентін ескере отырып, есептелді. Жалпы сұйылту коэффициенті $1/4 \times 1/5 \times 1/6,66 = 1/133$ болғандықтан, алынған мән 0,133 коэффициентіне көбейтіліп, мкмольмен көрсету үшін 1000-ға бөлінді.

2.6.2 Супероксиддисмутаза ферментінің (SOD) белсенділігін анықтау

Антиоксиданттық жүйе ферменттері жасушалық редокс-гомеостазды сақтау және тотығу стресінен қорғау үшін маңызды рөл атқарады. Осы зерттеуде глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, супероксиддисмутаза, каталаза және глюкоза-6-фосфатдегидрогеназа ферменттерінің белсенділігі анықталды.

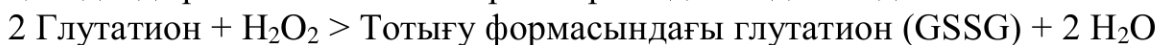
SOD супероксидті аниондарды (O_2^-) молекулалық оттегі (O_2) және сутек асқын тотығына (H_2O_2) айналдырып, олардың жасушаларға зиянды әсерін төмендетеді.

Зерттеу әдісі:

- SOD белсенділігі жанама әдіспен анықталды, ол адреналиннің өздігінен тотығуын тежей отырып, адrenoхромның пайда болуына негізделген.
- Реакция рН 10,2 ортада жүргізілді.
- Адrenoхромның жинақталу қарқындылығы 490 нм толқын ұзындығында спектрофотометр көмегімен өлшенді.
- 1 белсенділік бірлігі (U) адреналиннің автототығуын 50%-ға тежейтін фермент мөлшері ретінде қабылданды.
- Белсенділік Ед/мг Hb түрінде көрсетілді.

2.6.3 Глутатионпероксидаза (GPx) белсенділігін анықтау

Глутатионпероксидаза ферменті (GPx немесе EC 1.11.1.9) сутек пероксидін (H_2O_2) суға және органикалық пероксидтерді (ROOH) сәйкес тұрақты спирттерге (ROH) дейін тотықсыздандыруды катализдейді, глутатионды тотықсыздандырғыш эквиваленттер көзі ретінде пайдаланады:



Бұл әдіс НАДФН (NADPH) тотығуын өлшеуге негізделген, ол глутатионның қайта қалпына келуіне қатысады. Глутатионпероксидаза органикалық пероксидтерді қалпына келтіруді катализдейді, бұл процесте қалпына келтірілген глутатион тотығып, GSSG-ге айналады.

Глутатионредуктаза керісінше, GSSG-ні қайтадан GSH-қа дейін тотықсыздандыруды катализдейді, бұл кезде NADPH тотығып, $NADP^+$ түзіледі. Пероксидтер өте реактивті радикалдарға дейін ыдырай алатындықтан, GPx ферменті жасушаны бос радикалдардың зақымдануынан, әсіресе липидтердің асқын тотығуынан қорғауда маңызды рөл атқарады.

GPx-тің екі түрі бар: біреуі селенге тәуелді (Se-GPx), екіншісі селенге тәуелсіз (iSe-GPx). Екі түрі де органикалық гидропероксидтерді субстрат ретінде пайдалана алады, бірақ тек Se-GPx бейорганикалық форманы (H_2O_2) пайдалана алады.

Фосфолипидгидропероксидаза GPx моноферментінен басқа, барлық GPx ферменттері төрт бірдей субъбірліктен тұрады. Әр субъбірлікте ферменттің белсенді орталығында селеноцистеин молекуласы болады. Селеноцистеин тікелей пероксидті субстратқа электрондар беру процесіне қатысып, тотығады. Кейін глутатион электрон доноры ретінде қолданылады және селеноцистеиннің қалпына келген формасын қайта түзу үшін пайдаланылады.

Зерттеу әдісі:

Бұл әдіс GPx белсенділігін жанама түрде өлшейді. Реакция глутатионредуктаза арқылы байланысады, ол GPx ферментінің органикалық пероксидтерді тотықсыздандыруы нәтижесінде түзілген GSSG-ны қалпына келтіреді, ал субстрат ретінде кумол гидропероксиді қолданылады.

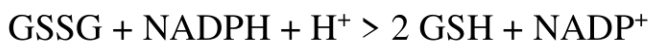
- Эритроциттер лизиске ұшыратылып, центрифугаланды.
- Реакция 96-ұялы планшетте жүргізілді.
- Әр ұяшыққа келесі реакциялық қоспалар қосылды.
- Фосфатты буфер (pH 7,0)
- NADPH
- Глутатион (GPx үшін) немесе глутатионредуктаза (GRd үшін)
- Субстрат (GPx үшін органикалық пероксид, GRd үшін тотығылған глутатион)
- NADPH тотығуы 340 нм толқын ұзындығында 3 минут бойы спектрофотометр арқылы тіркелді (PowerWaveX; BioTek, АҚШ).
- Фермент белсенділігі мкмоль/мин/г Hb ретінде есептелді [187].

Реакциялар келесі түрде жүреді:

GPx:



GRd:



Ферментативті реакция субстрат - кумол гидропероксидін қосу арқылы басталады және 340 нм толқын ұзындығында оптикалық тығыздық тіркеледі. Оптикалық тығыздықтың төмендеу жылдамдығы үлгідегі GPx белсенділігіне тура пропорционал болып келеді.

2.6.4 Глутатионредуктаза (GRd) белсенділігін анықтау

Глутатионредуктаза (GR, EC 1.6.4.2) - бұл NADPH-ке тәуелді, тотыққан глутатионды қалпына келтірілген күйге айналдыратын флавопротеин. Бұл фермент жасушалардағы GSH деңгейін тұрақты ұстап тұруда және тотығу стресінен қорғануда маңызды рөл атқарады.

Фермент белсенділігін анықтау үшін NADPH-тің тотығу жылдамдығына негізделген спектрофотометриялық әдіс қолданылды (Gauman реактивтер жинағы). Реакция келесі теңдеумен сипатталады:



NADPH тотығуы 340 нм толқын ұзындығында оптикалық тығыздықтың төмендеуімен қатар жүреді, бұл фермент белсенділігіне тура пропорционалды.

Реактивтерді дайындау:

Талдау алдында фосфатты буфер (50 mM, pH 7.5, 1 mM EDTA қосылған), GSSG (15.4 mM) және NADPH (2 mM) ерітінділері дайындалды. Үлгілерге арналған буфер құрамына ферментті тұрақтандыру үшін 1 мг/мл BSA енгізілді. Барлық реактивтер қолданар алдында бөлме температурасына жеткізілді.

Үлгілерді дайындау:

Қан гепарин, цитрат немесе EDTA бар пробиркаларға жиналды. 700–1000g-де 10 минут бойы 4°C температурада центрифугаланған соң, плазмасы бөлініп алынып, -80°C-та сақталды. Эритроциттік лизатты алу үшін эритроциттерге 4 есе көлемде салқын су қосылып, инкубациядан соң 10 000g-де 15 минут бойы 4°C температурада қайта центрифугаланды. Жоғарғы қабат (лизат) бөлініп алынып, -80°C-та сақталды. Талдауға дейін үлгілерді 1:10–1:20 қатынасында сұйылтты.

Талдау жүргізу:

Талдау алдында эритроцит лизаттары мұзда ерітіліп, 1:4 қатынасында сумен сұйылтылып, 10 000g-де 15 минут бойы 4°C температурада центрифугаланды. Алынған супернатант буфермен 1:20 қатынасында қосымша сұйылтылды.

96 ұяшықты планшеттегі реакциялық қоспа мыналардан тұрды: 100 мкл буфер, 20 мкл GSSG ерітіндісі, 20 мкл сұйылтылған үлгі және 10 мкл NADPH ерітіндісі. Бақылау ұяшықтарына үлгі қосылмады. Жалпы көлемі - 150 мкл. Өлшеу 25°C температурада 340 нм толқын ұзындығында спектрофотометрде жүргізілді. Абсорбция 1 минуттық интервалмен динамикада тіркелді.

Фермент белсенділігін есептеу:

Фермент белсенділігі 340 нм-де оптикалық тығыздықтың өзгеруіне ($\Delta A_{340}/\text{мин}$) қарай, қисықтың сызықты бөлігінде есептелді. NADPH үшін пайдаланылған молярлық сіңіру коэффициенті - 0.00373 мкм^{-1} (қабат қалыңдығы 0.6 см). Белсенділік нәтижелері ферменттің 25°C -та 1 минут ішінде тотығатын NADPH мөлшеріне тең бірлікпен (U) сипатталды.

2.6.5 Каталаза (CAT) белсенділігін анықтау

Каталаза сутек асқын тотығын (H_2O_2) су мен оттегіге ыдырату арқылы жасушаларды оның зиянды әсерінен қорғайды.

Зерттеу әдісі:

- Реакция H_2O_2 ыдырауын тіркеуге негізделген, бұл 240 нм толқын ұзындығында оптикалық тығыздықтың төмендеуімен сипатталды.
- Субстрат ретінде 30 mM H_2O_2 ерітіндісі қолданылды.
- Реакция эритроцитарлық лизатты қосқаннан кейін басталып, 1-3 минутқа созылды.
- H_2O_2 концентрациясының төмендеуі спектрофотометриялық әдіспен өлшенді.
- Каталаза белсенділігі мкмоль/мин/г Hb түрінде көрсетілді.

2.6.6 Глюкоза-6-фосфатдегидрогеназа (G6PD) белсенділігін анықтау

G6PD глюкоза-6-фосфатты 6-фосфоглюконолактонға дейін тотықтырады, бұл процесте НАДФ⁺ (NADP⁺) қалпына келтіріліп, НАДФН (NADPH) түзіледі.



G-6PDH жетіспеушілігі - адамдағы ең жиі кездесетін ферментативтік бұзылыстардың бірі, дүние жүзінде 400 миллионнан астам адамда кездеседі деп есептеледі. Фермент жетіспеушілігі бар адамдардың көпшілігінде симптомдар байқалмайды, бірақ кейбір науқастарда инфекциялар немесе белгілі бір дәрілер әсерінен гемолитикалық анемия, сондай-ақ созылмалы бейсфероциттік гемолитикалық анемия байқалуы мүмкін.

Зерттеу әдісі:

Реакциялық ортада келесі компоненттер болды:

- Фосфатты буфер (pH 7,4)
- Глюкоза-6-фосфат (субстрат)
- НАДФ⁺ (кофактор)
- Реакция эритроцитарлық лизатты қосу арқылы басталады.
- NADPH-тың түзілу жылдамдығы 340 нм толқын ұзындығында тіркелді.
- Фермент белсенділігі мкмоль/мин/г Hb ретінде есептелді.

Эритроциттердегі глюкоза-6-фосфатдегидрогеназа белсенділігін анықтаудың ұсынылған әдістемесі пентозофосфат жолының жұмысымен және жасушалардың антиоксиданттық қорғанысымен байланысты ферментативті белсенділікті сенімді бағалауға мүмкіндік береді.

2.7 Нәтижелерді статистикалық талдау

Деректердің статистикалық өңдеуі SPSS 27.0 нұсқасы (WPSS Ltd., Surrey, UK) бағдарламасы арқылы жүргізілді. Графиктерді құру үшін GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA) қолданылды [188].

1. Деректердің таралуын тексеру

Статистикалық әдістерді қолданбас бұрын, деректердің таралу сипаты бағаланды:

- Шапиро–Уилк тесті деректердің қалыпты таралуын тексеру үшін қолданылды. Бұл тест әсіресе шағын көлемді таңдамада тиімді, себебі ол деректердің қалыпты таралу заңына сәйкестігін бағалайды.

- Левен критерийі топтар арасындағы дисперсиялардың біртектілігін тексеру үшін қолданылды, бұл дисперсиялық талдаудың (ANOVA) дұрыс орындалуы үшін маңызды шарт.

2. Деректерді ұсыну

- Қалыпты таралымды айнымалылар орташа мән $\pm$ стандартты ауытқу (SD) түрінде берілді.

- Қалыпты емес таралымды айнымалылар орташа мән $\pm$ стандартты қателік (SEM) түрінде көрсетілді.

3. Топтарды салыстыру

Дисперсиялық талдау (ANOVA) және post-hoc тесттер қалыпты таралымды топтарды салыстыру үшін қолданылды. ANOVA үш немесе одан да көп топтар арасындағы статистикалық маңызды айырмашылықтардың бар-жоғын анықтады. Егер ANOVA нәтижесі маңызды айырмашылықтарды көрсетсе, post-hoc тесттер жүргізілді. Мұнда Тьюки (Tukey's HSD) немесе Бонферрони (Bonferroni) тесттері қолданылды.

Краскел–Уоллис критерийі қалыпты емес таралымды үш және одан да көп топтарды салыстыру үшін пайдаланылды. Бұл ANOVA-ның параметрлік емес баламасы, ол деректерді деңгейлер бойынша бағалайды.

4. Корреляциялық талдау

Пирсон корреляция коэффициенті қалыпты таралымды сандық айнымалылар арасындағы байланыстарды анықтау үшін қолданылды. Егер деректер қалыпты емес таралымды болса, Спирман корреляциясы пайдаланылды, ол деректерді деңгейлер бойынша салыстырады және таралуға тәуелді емес.

5. ROC-талдау (Receiver Operating Characteristic, ROC қисығы)

Диагностикалық тесттер мен биомаркерлердің тиімділігін бағалау үшін ROC-талдау жүргізілді. ROC қисығы белгілі бір биомаркердің патологиялық және сау күйлерді ажырату қабілетін көрсетеді. Қисық астындағы ауданы (AUC, Area Under Curve) есептелді:

- AUC мәні 1-ге жақындаған сайын, диагностикалық дәлдік жоғары болады.

- $AUC \approx 0.5$ болған жағдайда, диагностикалық маңыздылық жоқ.

- 95% сенімділік аралығы (CI) арқылы нәтижелердің дәлдігі бағаланды.

6. Логистикалық регрессия

МикроРНК деңгейі, тотығу стресі/қабыну маркерлері және қант диабеті мен оның асқынуларының болуы арасындағы байланысты зерттеу үшін биномиалды логистикалық регрессия қолданылды.

Логистикалық регрессия тәуелсіз айнымалылардың (мысалы, микроРНК және қабыну маркерлерінің) қант диабетінің немесе оның асқынуларының даму ықтималдығына әсерін бағалады.

Нәтижелер $\text{Exp}(B)$ коэффициенттерімен (Odds Ratio, OR) көрсетілді:

- $OR > 1$ – көрсеткіштің жоғарылауы ауру қаупін арттырады.
- $OR < 1$ – көрсеткіштің жоғарылауы ауру қаупін төмендетеді.
- 95% сенімділік аралығы (CI) есептеліп, деректердің дәлдігі бағаланды.

7. Статистикалық маңыздылық критеріі

Барлық $p < 0,05$ мәндері статистикалық маңызды деп саналды. Бұл дегеніміз, анықталған айырмашылықтардың кездейсоқ кездесу ықтималдығы 5%-дан аз, сондықтан нәтижелер сенімді болып табылады [189].

Статистикалық өңдеу нәтижелері зерттеудің деректерін объективті бағалауға және алынған нәтижелердің сенімділігін дәлелдеуге мүмкіндік берді. Барлық p мәндері айқындалған айырмашылықтардың статистикалық тұрғыдан маңызды екенін көрсетті, бұл зерттеу қорытындыларының ғылыми негізділігін және алынған мәліметтердің практикалық қолдануға жарамдылығын айқындайды.

3 ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ

3.1 Зерттелген популяциядағы микроРНК экспрессиясының және биохимиялық-клиникалық көрсеткіштердің айырмашылықтары

Зерттеуге қатысушылардың профилі мен биохимиялық параметрлері 5-кестеде көрсетілген.

Зерттеуге үш топ енгізілді: бақылау тобы (БТ), қантамырлық асқынуларсыз ҚД2Т-і бар науқастар тобы (ҚД2Т АЖ) және қантамырлық асқынулары бар диабетпен ауыратын науқастар тобы (ҚД2Т+А). Бақылау тобы 18 әйел мен 12 ер адамнан, ал ҚД2Т АЖ тобы 18 әйел мен 16 ер адамнан тұрды, бұл олардың жыныстық құрамы бойынша ұқсастығын қамтамасыз етті ($\chi^2 = 0,323$, $p = 0,570$). ҚД2Т+А тобында ер адамдардың үлесі жоғары болды (5 әйел және 23 ер адам), бұл жыныстық фактордың қантамырлық асқынулардың дамуындағы ықтимал рөлін көрсетеді.

Барлық қатысушылар 10 ай ішінде эндокринология клиникасында зерттеуге қатысуға ұсынылды. Бақылау тобына әртүрлі мекемелерден келген еріктілер жас ерекшеліктері, жынысы және дене салмағының индексі (ДСИ) бойынша теңгерімділік сақтала отырып таңдалды. Ал ҚД2Т ауыратын науқастар зерттеуге дәрігердің кеңесіне жүгінуіне қарай енгізіліп отырылды.

Қатысушыларды іріктеу енгізу және шеттету критерийлеріне сәйкес жүргізілді. Бақылау тобына қант диабеті жоқ тұлғалар, ал диабетпен ауыратын науқастар қантамырлық асқынулардың бар-жоғына қарай ҚД2Т АЖ және ҚД2Т+А топтарына бөлінді. Бұл таңдалған зерттеу топтарында биохимиялық параметрлерді салыстыруға және аурудың үдеуінің ықтимал байланысын анықтауға мүмкіндік берді.

Бақылау тобындағы қатысушылардың көпшілігі (22 адам) 40–55 жас аралығында болды, ал 6 адам 56–70 жас аралығында, 2 қатысушы 71 жастан үлкен.

Қант диабетімен ауыратын науқастардың жасы үлкен болуы заңды құбылыс: олардың 37-сі 56–70 жас аралығында, 9-ы 40–55 жас аралығында, ал 16-сы 71 жастан асқан. Алайда, диабетпен ауыратын науқастар арасында (асқынулары бар және жоқ топтар) жас ерекшеліктері бойынша айтарлықтай айырмашылықтар анықталған жоқ (56–70 жас: ҚД2Т АЖ тобында 21 адам, ҚД2Т+А тобында 16 адам; 40–55 жас: ҚД2Т АЖ тобында 5 адам, ҚД2Т+А тобында 4 адам; 71 жастан асқандар: екі топта да 8 адамнан). Орташа жас көрсеткіштері де айтарлықтай ерекшеленбеді (ҚД2Т АЖ тобында $63,47 \pm 1,30$ жас, ҚД2Т+А тобында $64,96 \pm 1,68$ жас).

Осылайша, жас факторы қант диабетінің тамырлық асқынуларын болжау моделіне айтарлықтай әсер етпейтін айнымалы ретінде қарастырылды.

Кесте 5 - Зерттелген топтардың бастапқы және биохимиялық көрсеткіштері

Көрсеткіштер	БТ (n = 30)	ҚД2Т АЖ (n = 34)	ҚД2Т+А (n = 28)	p-value
Жасы	51.43 ± 1.77	63.47 ± 1.30 ^a	64.96 ± 1.68 ^b	^{a, b} p < 0.001
Жынысы (ер, әйел)	18/12	18/16	5/23	
Темекі шегу (иә/жоқ)	4/26	1/33	4/24	
Дене белсенділігі:				
Төмен	4	15	17	
Орташа	17	19	10	
Жоғары	9	0	1	
Салмағы (кг)	70.83 ± 12.67	78.81 ± 15.00	86.66 ± 12.18 ^b	^b p < 0.001
ДСИ (кг/м²)	25.18 ± 3.38	29.84 ± 5.26 ^a	30.62 ± 4.57 ^b	^{a, b} p < 0.001
Қант диабетінің ұзақтығы (жыл)	Жоқ	13.33 ± 1.85	17.43 ± 2.02	
HbA1c (%)	5.37 ± 0.07	6.85 ± 0.16 ^a	7.11 ± 0.19 ^b	^{a, b} p < 0.001
Глюкоза (мг/дл)	90.33 ± 14.72	123.5 ± 28.24 ^a	141.9 ± 48.54 ^b	^{a, b} p < 0.001
Инсулин (мЕ/л)	6.76 ± 0.74	11.51 ± 1.68 ^a	11.67 ± 2.02 ^b	^{a, b} p < 0.001
НОМА-IR Индексі	1.50 ± 0.23	3.66 ± 0.63 ^a	3.99 ± 0.66 ^b	^a p < 0.01 ^b p < 0.001
Креатинин (мг / дл)	0.80 ± 0.16	0.84 ± 0.18	0.98 ± 0.35	^b p = 0.019
Несепнәр (мг / дл)	35.41 ± 2.34	42.45 ± 2.47	45.00 ± 4.82	^a p = 0.035
Жалпы холестерин (мг / дл)	198.8 ± 5.79	168.4 ± 6.30 ^a	136.3 ± 7.50 ^{b, c}	^a p = 0.003 ^b p < 0.001 ^c p = 0.002
ТГ (мг/дл)	90.33 ± 5.73	165.3 ± 23.20 ^a	140.3 ± 14.29 ^b	^a p = 0.01 ^b p = 0.05
ЖТЛП (мг/дл)	62.13 ± 2.41	52.65 ± 2.50 ^a	44.96 ± 2.16 ^b	^a p = 0.01 ^b p < 0.001
ТТЛП (мг/дл)	119.5 ± 5.21	85.97 ± 5.72 ^a	66.63 ± 6.32 ^b	^{a, b} p < 0.001
Ескерту - ^a p – ҚД2Т АЖ мен БТ салыстыруы; ^b p – ҚД2Т+А мен БТ салыстыруы; ^c p – ҚД2Т+А мен ҚД2Т АЖ салыстыруы.				

Кестеде барлық айнымалылардың таралуы қалыпты болмады, тек дене салмағы, ДСИ және глюкоза деңгейі қалыпты таралуға сәйкес келді. Қалыпты емес таралуы бар айнымалылар үшін p мәндері Краскел–Уоллис критерийі арқылы есептелді. Қалыпты таралған айнымалылар үшін дисперсиялық талдау (ANOVA) және кейіннен көптік салыстыру (post-hoc тесті) қолданылды. Деректер қалыпты емес таралуы бар айнымалылар үшін орташа ± орташа қателік (SEM) және қалыпты таралған айнымалылар үшін орташа ± стандартты ауытқу (SD) түрінде ұсынылған.

Бақылау тобында 16 адамның салмағы қалыпты, 11 адамның дене салмағы артық, ал 3 қатысушы семіздікке шалдыққан. Қант диабеті бар наукастарда ДСИ күтілгендей жоғары болды: ҚД2Т АЖ тобында 14 адам артық салмақпен, ал ҚД2Т+А тобында 16 адам артық салмақпен анықталды. Семіздік ҚД2Т АЖ

тобындағы 13 адамда және ҚД2Т+А тобындағы 11 адамда тіркелді. Алайда, қант диабеті бар барлық науқастар арасында ҚД2Т АЖ және ҚД2Т+А топтары бойынша ДСИ көрсеткіштері арасында айтарлықтай айырмашылық болған жоқ ($\chi^2 = 4,259$, $p = 0,119$).

Физикалық белсенділік келесі түрде жіктелді:

- Төмен қарқындылық – жүрек соғу жиілігін айтарлықтай арттырмайтын белсенділіктер, мысалы, баяу жүру немесе созылуға бағытталған жаттығулар.

- Орташа қарқындылық – жүрек соғу жиілігі мен тыныс алуды арттыратын белсенділіктер, мысалы, жылдам жүру немесе велосипед тебу.

- Жоғары қарқындылық – айтарлықтай күш жұмсауды талап ететін белсенділіктер, мысалы, жүгіру немесе аралық жаттығулар.

Күтілгендей, үш топ арасында біршама айырмашылықтар анықталды ($\chi^2 = 25,465$, $p < 0,001$). Алайда, қант диабетімен ауыратын барлық науқастар арасында физикалық белсенділік бойынша айырмашылық болған жоқ ($\chi^2 = 3,791$, $p = 0,188$), сондай-ақ макроқантaмырлық асқынулары бар науқастар арасында да айырмашылық байқалмады ($\chi^2 = 2,295$, $p = 0,317$).

Екі диабеттік топтағы науқастарда HbA1c және глюкоза деңгейі бақылау тобымен салыстырғанда едәуір жоғары болып, бұл көмірсулар алмасуының айқын бұзылысын көрсетеді. Сонымен қатар, HOMA-IR индексінің жоғарылауы инсулинге төзімділіктің күшеюін айғақтайды, бұл 2-типті қант диабетіне тән патофизиологиялық өзгерістердің бірі болып табылады. Бұл көрсеткіштердің жоғары болуы β -жасушалардың инсулин секрециясының бұзылуымен қатар, инсулиннің шеткергі тіндерде әсерінің төмендеуін де білдіреді.

Липидтік профильге келетін болсақ, жалпы холестерин мен төмен тығыздықты липопротеиндер (ТТЛП) деңгейі ҚД2Т АЖ және ҚД2Т+А топтарында бақылау тобымен салыстырғанда төмендеген, ал триглицеридтер (ТГ) деңгейі керісінше жоғарылаған. Бұл өзгерістер диабетпен байланысты липидтік алмасу бұзылыстарының көрінісі ретінде қарастырылады және атерогенезге ықпал ететін негізгі факторлардың бірі болып табылады. Сонымен қатар, екі диабеттік топта да жоғары тығыздықты липопротеиндер (ЖТЛП) деңгейінің төмендегені байқалды, бұл антиатерогендік қорғаныстың әлсірегенін және жүрек-қантaмырлық қауіптің жоғарылағанын көрсетеді.

6-кестеде микроангиопатиясы және жүрек-қантaмыр аурулары (ЖҚА) бар науқастарға тағайындалған дәрілік препараттар көрсетілген. Екі топ та қандағы қант деңгейін төмендететін дәрілерді, соның ішінде метформин мен басқа да антигипергликемиялық заттарды, атап айтқанда, сульфонилмочевина туындылары, ДПП-4 тежегіштері және ГПП-1 агонистерін қабылдаған. Бұл дәрілік топтар инсулин секрециясын арттыру немесе глюкозаның сіңуін төмендету арқылы гликемиялық бақылауды қамтамасыз етуге бағытталған.

Инсулинотерапия ЖҚА тобында жиірек қолданылған, бұл осы топтағы науқастарда диабеттің ауыр ағымымен және ұйқы безінің β -жасушалық резервінің азаюымен байланысты болды. Мұндай жағдайларда пероральді

антидиабеттік агенттер жеткіліксіз болғандықтан, инсулин енгізу арқылы гликемиялық бақылауға қол жеткізу қажеттілігі туындайды.

Липидті төмендететін терапия, атап айтқанда, статиндер, микроангиопатиясы бар науқастарға жиірек тағайындалған. Бұл микроангиопатиялық асқынулардың (диабеттік нефропатия, ретинопатия және нейропатия) даму қаупін төмендету мақсатында жүргізілетін профилактикалық шара болып табылады. Липидтік профильді бақылау созылмалы гипергликемияның тамырларға тигізетін зақымдаушы әсерін азайтуда және эндотелий функциясын сақтау тұрғысынан ерекше маңызға ие.

Сонымен қатар, құрысуға қарсы препараттар ЖҚА тобында жиірек қолданылған. Бұл, ең алдымен, диабеттік нейропатиямен байланысты ауырсыну синдромын басу үшін габапентин және прегабалин секілді препараттарды қолданумен байланысты болуы мүмкін. Бұл дәрілік заттар нейропатиялық ауырсыну белгілерін жеңілдету үшін кеңінен қолданылады және өмір сапасын жақсартуға бағытталған.

Жалпы алғанда, тағайындалған препараттар мен тамырлық асқынулар арасында статистикалық тұрғыдан маңызды байланыс анықталмады. Бұл дәрілік терапияның нақты асқыну түріне байланысты емес, науқастың жалпы клиникалық жағдайы мен жеке көрсеткіштеріне сәйкес таңдалғанын білдіреді. Индивидуализацияланған тәсіл - қазіргі заманғы диабет терапиясының маңызды қағидаты болып табылады, және бұл зерттеу нәтижелері оны тағы бір мәрте дәлелдейді.

Осылайша, тамырлық асқынулары бар науқастар негізгі гипогликемиялық терапияны ұқсас мөлшерде алғанымен, инсулин, статиндер және құрысуға қарсы препараттарды қолдану жиілігі бойынша айырмашылықтар байқалды. Бұл терапиялық стратегиялар асқыну түрлерінің клиникалық сипаттамаларына және науқастың метаболикалық статусына байланысты жекелей түрде таңдалғанын көрсетеді.

Кесте 6 - Микроангиопатиямен және жүрек-қан тамырлары ауруларымен ауыратын науқастарға арналған терапия түрлері

Дәрілік терапия	Микроангиопатиялар (n = 6) 21.4%	ЖҚА (n = 22) 78.6%
1	2	3
Глюкоза деңгейін төмендететін дәрілер:		
Метформин	66.7% (4/6)	68.2% (15/22)
Емдеу ұзақтығы (ж)	15.39 ± 2.18	16.23 ± 2.13
Антигипергликемиялық агенттер *	83.3% (5/6)	90.9% (20/22)
Емдеу ұзақтығы (ж)	15.32 ± 2.25	13.00 ± 2.94
Инсулинге сезімтал терапия **	66.7% (4/6)	80.0% (16/22)
Емдеу ұзақтығы (ж)	13.3 ± 2.31	14.66 ± 2.35
Холестеринді төмендететін терапия (статиндер)	66.7% (4/6)	50.0% (11/22)
Емдеу ұзақтығы (ж)	11.57 ± 2.75	17.78 ± 2.31

6 – кестенің жалғасы

1	2	3
Антиконвульсанттар	0.0%	22.7% (5/22)
Емдеу ұзақтығы (ж)		7.92 ± 2.14
Ескерту - * Антигипергликемиялық препараттар қандағы глюкоза деңгейін төмендететін екінші қатарлы терапияны қамтиды (ДПП-4 тежегіштері, SGLT2 тежегіштері, ГПП-1 рецепторларының агонисттері) ** Инсулинге сезімталдықты арттыратын терапия инсулин секрециясын ынталандыратын препараттар мен тиазолидиндиондарды қамтиды. ж – жылдар		

Антигипергликемиялық препараттар қандағы глюкоза деңгейін төмендететін екінші қатарлы терапияны қамтиды. Бұл топқа DPP-4 тежегіштері, SGLT2 тежегіштері және ГПП-1 рецепторларының агонисттері жатады. Аталған препараттар инкретиндік әсер арқылы инсулин секрециясын реттейді, бауырдағы глюкоза өндірілуін азайтады және бүйрек арқылы глюкозаның қайта сіңуін тежеп, оның несеп арқылы шығарылуын арттырады. SGLT2 тежегіштері сонымен қатар салмақты азайтуға және қан қысымын төмендетуге оң әсер етуі мүмкін, бұл жүрек-қантамырлық қауіпі жоғары науқастар үшін маңызды артықшылық болып табылады.

Инсулинге сезімталдықты арттыратын терапияға инсулин секрециясын ынталандыратын препараттар мен тиазолидиндиондар (мысалы, пиоглитазон) жатады. Бұл препараттар инсулинге резистенттілікті төмендетіп, бұлшықет пен май тіндерінде глюкозаның тиімді сіңуін жақсартады. Олардың әсері инсулиннің шеткергі тіндерге әсерін күшейту және глюкозаны тасымалдаушы рецепторлардың экспрессиясын арттыру арқылы жүзеге асады. Сонымен қатар, бұл дәрілер бауырдағы глюконеогенезді төмендетуге де үлес қосады.

Қант диабетіне байланысты ауырсынулы нейропатияны емдеуде құрысуға қарсы препараттар кеңінен қолданылды. Бұл топқа габапентин және прегабалин сияқты препараттар жатады, олар жүйке жүйесінің қозуын төмендету арқылы нейропатиялық ауырсынуды жеңілдетеді. Аталған дәрілер кальций арналарының $\alpha 2\delta$ -суббірліктерімен байланыса отырып, нейротрансмиттерлердің босап шығуын шектейді және ауырсыну сигналдарының берілуін әлсіретеді.

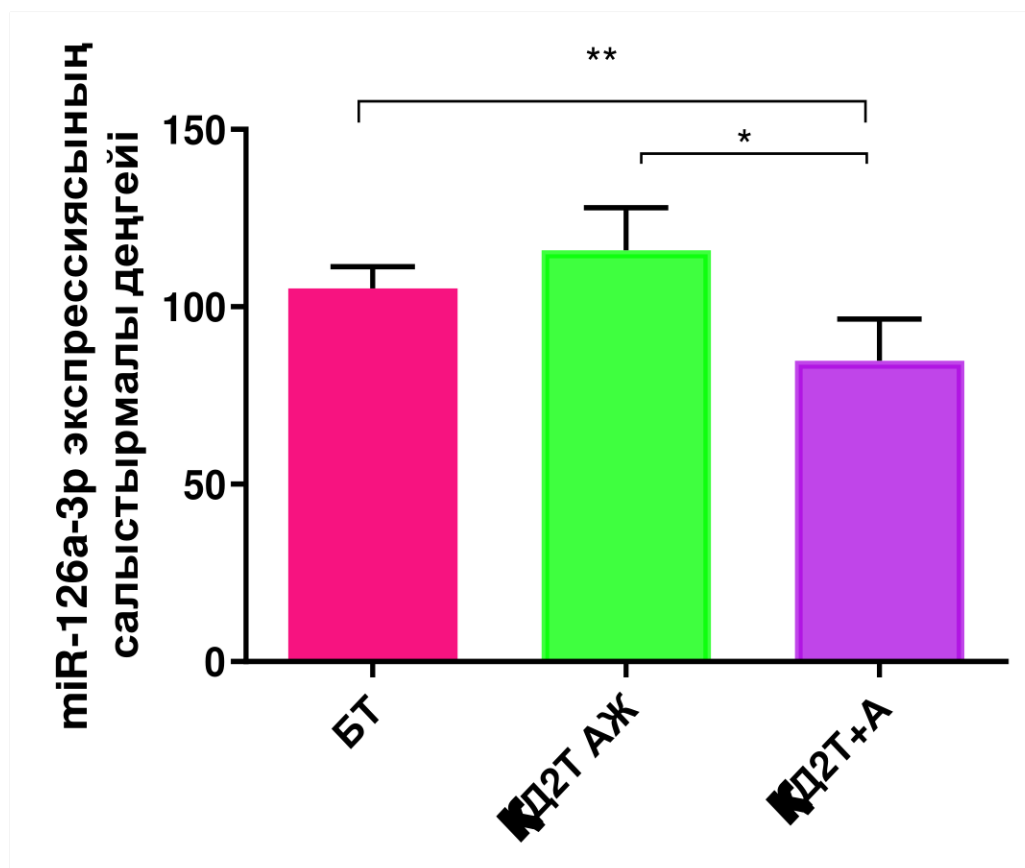
Сонымен қатар, кейбір науқастарға қосымша ем ретінде антидепрессанттар (мысалы, амитриптилин, дулоксетин) мен жергілікті анестетиктер (мысалы, лидокаин патчтары) тағайындалуы мүмкін. Бұл препараттар ауырсынуды бақылауға қосымша әсер етеді, әсіресе ұзақ уақыт бойы сақталатын немесе өмір сапасына елеулі әсер ететін ауырсыну синдромдарында. Комбинирленген тәсіл ауырсынудың әртүрлі патогенетикалық механизмдеріне бағытталғандықтан, кешенді және тиімді ем нәтижесін қамтамасыз етеді.

Осылайша, қолданылған дәрілік заттар гликемиялық бақылауға қол жеткізуге, инсулинге сезімталдықты қалпына келтіруге және диабеттік нейропатиямен байланысты ауырсынуды төмендетуге бағытталған кешенді терапияның бір бөлігі болып табылады. Бұл терапиялық стратегиялар

науқастың клиникалық жағдайын, қосымша патологияларды және асқыну сипатын ескере отырып, жекелей таңдалған.

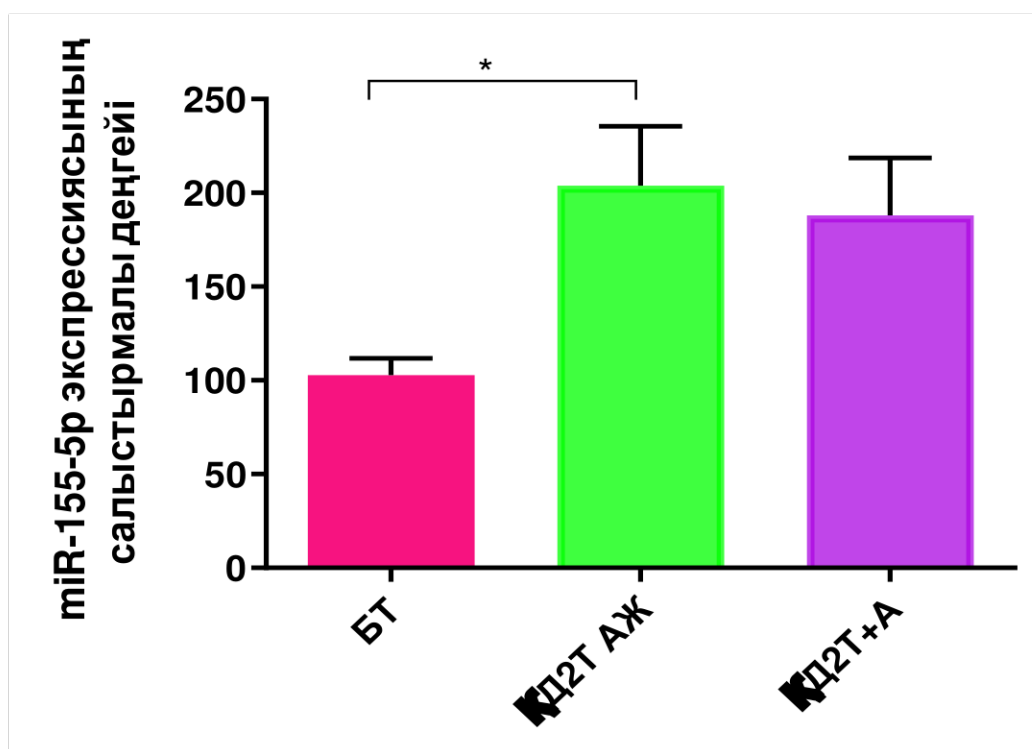
Нақты уақыт режиміндегі ПТР нәтижелері бойынша плазмадағы miR-155-5p, miR-21-5p, miR-146a-3p және miR-210-3p деңгейлері ҚД2Т АЖ тобында бақылау тобымен салыстырғанда едәуір жоғары болды ($p < 0,05$).

ҚД2Т+А тобында да бақылау тобымен салыстырғанда төрт микроРНК бойынша статистикалық тұрғыдан маңызды айырмашылықтар анықталды: miR-484-5p (сурет 7 с), miR-21-5p (сурет 8) және miR-210-3p (сурет 9) экспрессиясы жоғарылаған, ал miR-126a-3p деңгейі төмендеген (сурет 5).



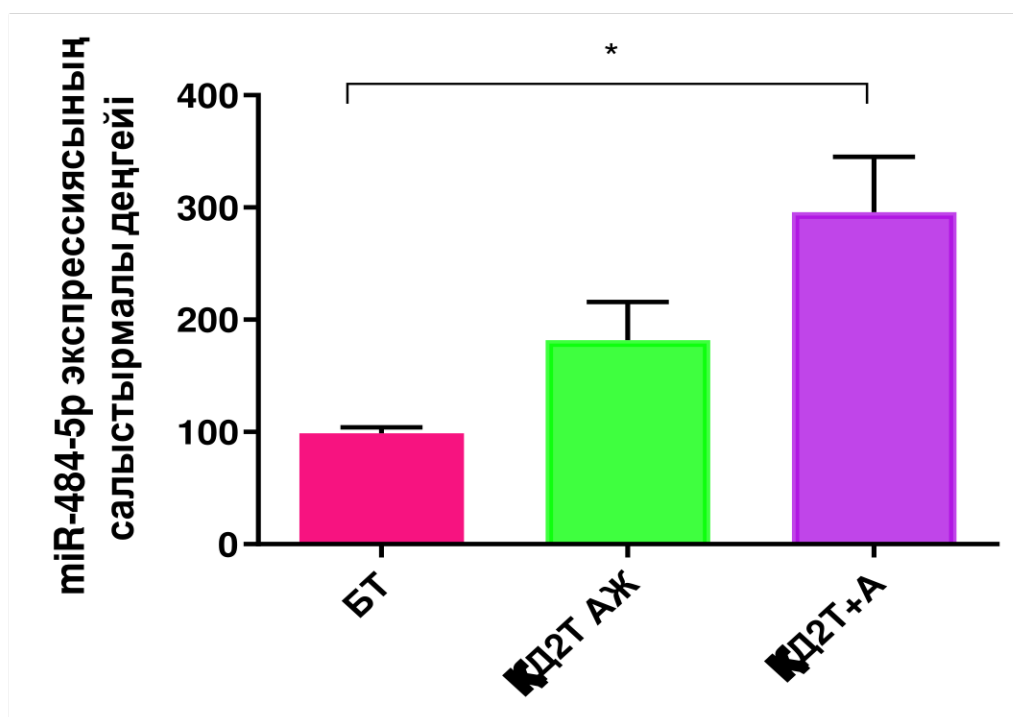
Сурет 5 - miR-126 экспрессиясының салыстырмалы деңгейі: БТ, ҚД2Т АЖ және ҚД2Т+А

Деректер орташа мән $\pm$ стандарттық қате (SEM) түрінде ұсынылған. p мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелген. Топтар арасындағы салыстырулар диаграммаларда көрсетілген. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.



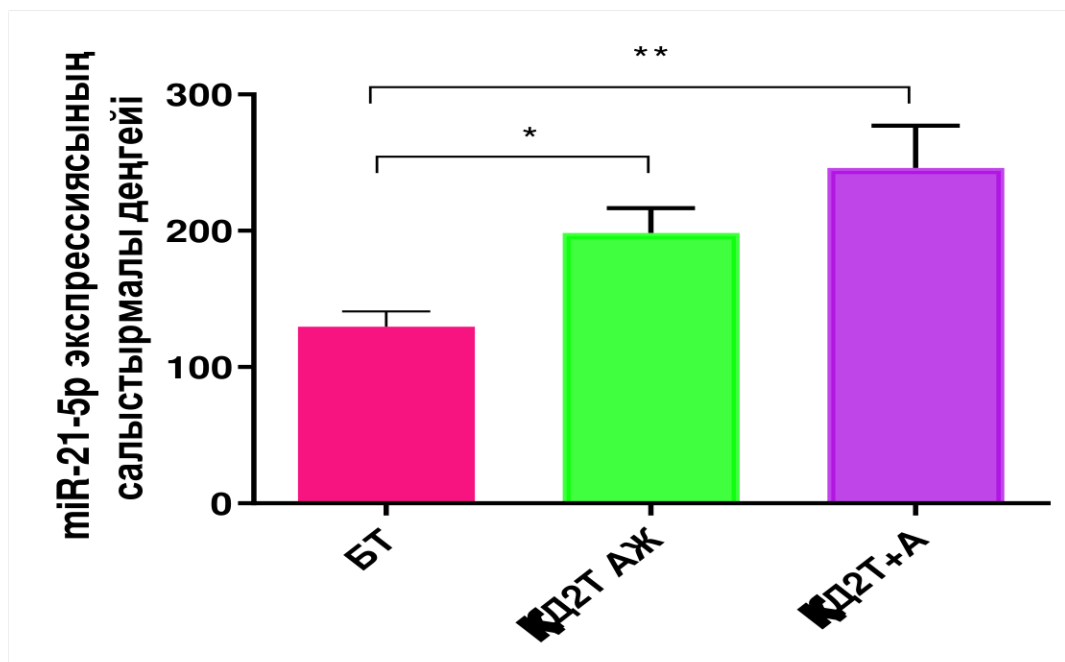
Сурет 6 - miR-155 экспрессиясының салыстырмалы деңгейі: BT, QD2T AJ және QD2T+A

Деректер орташа мән $\pm$ стандарттық қате (SEM) түрінде ұсынылған. р мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелген. Топтар арасындағы салыстырулар диаграммаларда көрсетілген. * $p < 0,05$.



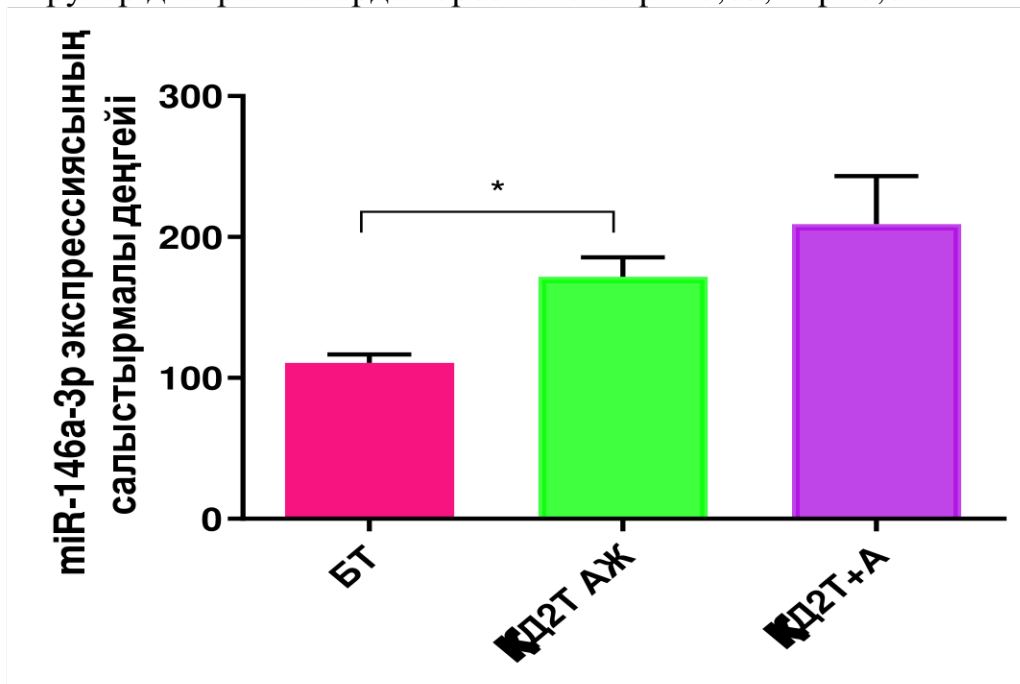
Сурет 7 - miR-484 экспрессиясының салыстырмалы деңгейі: BT, QD2T AJ және QD2T+A

Деректер орташа мән $\pm$ стандарттық қате (SEM) түрінде ұсынылған. p мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелген. Топтар арасындағы салыстырулар диаграммаларда көрсетілген. $*p < 0,05$.



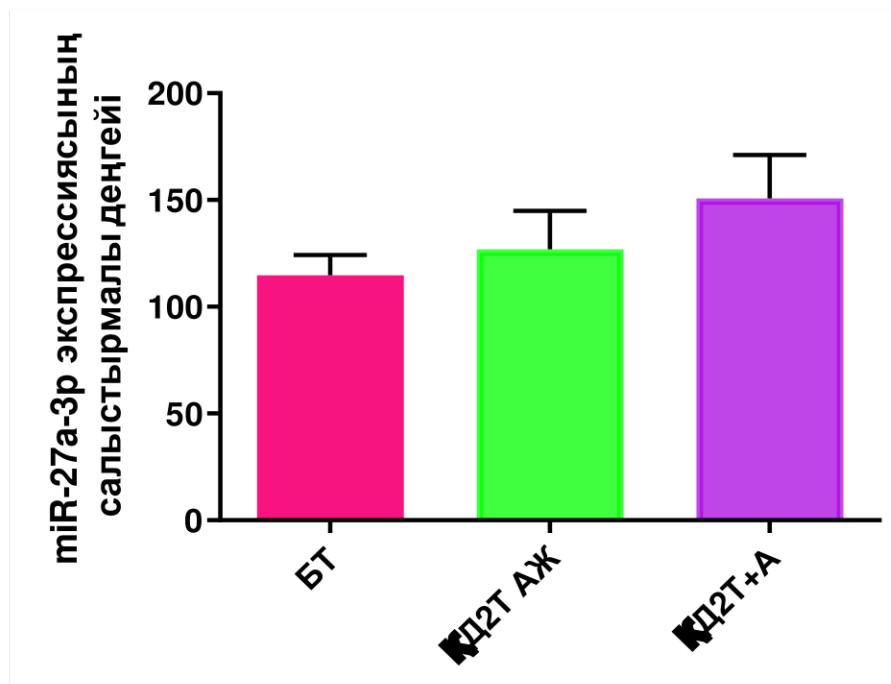
Сурет 8 - miR-21 экспрессиясының салыстырмалы деңгейі: БТ, КД2Т АЖ және КД2Т+А

Деректер орташа мән $\pm$ стандарттық қате (SEM) түрінде ұсынылған. p мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелген. Топтар арасындағы салыстырулар диаграммаларда көрсетілген. $*p < 0,05$, $**p < 0,01$.



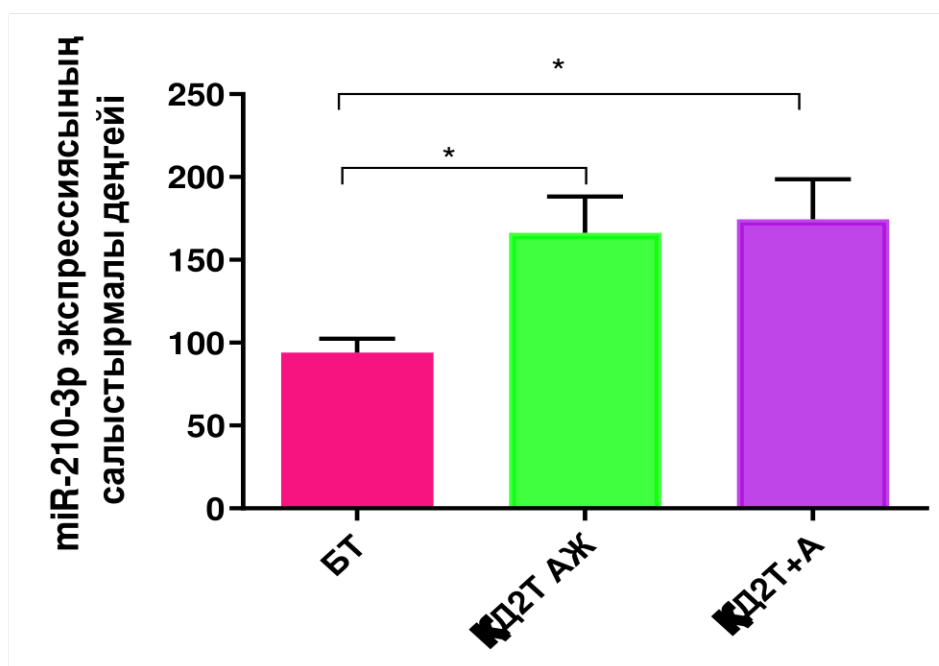
Сурет 9 - miR-146-3p экспрессиясының салыстырмалы деңгейі: БТ, КД2Т АЖ және КД2Т+А

Деректер орташа мән $\pm$ стандарттық қате (SEM) түрінде ұсынылған. p мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелген. Топтар арасындағы салыстырулар диаграммаларда көрсетілген. $*p < 0,05$.



Сурет 10 - miR-27a-3p экспрессиясының салыстырмалы деңгейі: БТ, ҚД2Т АЖ және ҚД2Т+А

Деректер орташа мән $\pm$ стандарттық қате (SEM) түрінде ұсынылған. p мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелген. Топтар арасындағы салыстырулар диаграммаларда көрсетілген.



Сурет 11 - miR-210-3p экспрессиясының салыстырмалы деңгейі: БТ, ҚД2Т АЖ және ҚД2Т+А

Деректер орташа мән $\pm$ стандарттық қате (SEM) түрінде ұсынылған. p мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелген. Топтар арасындағы салыстырулар диаграммаларда көрсетілген. $*p < 0,05$.

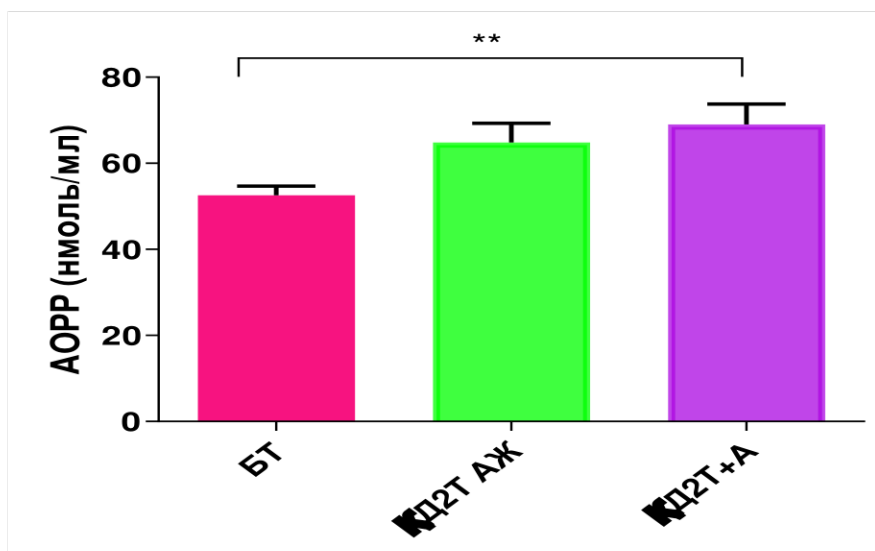
Сонымен қатар, miR-126a-3p деңгейі ҚД2Т+А тобында ҚД2Т АЖ тобымен салыстырғанда айтарлықтай төмен болды (сурет 5), бұл оның қант диабетіне байланысты тамырлық асқынулардың үдеуіне ықпал етуі мүмкін екенін көрсетеді. miR-27a-3p экспрессиясы топтар арасында айтарлықтай айырмашылықтар көрсеткен жоқ.

Жалпы алғанда, зерттеу нәтижелері 2 типті қант диабетінде айналымдағы микроРНК деңгейлерінің өзгерістері қантамырлық асқынулардың дамуымен тығыз байланысты болуы мүмкін екенін көрсетті. Атап айтқанда, микроРНК деңгейлерінің төмендеуі ангиопатиялардың үдеуінде маңызды рөл атқаруы ықтимал. Бұл деректер микроРНК-ларды диабетке байланысты тамыр патологияларын ерте анықтау мен болжам жасау үшін әлеуетті биомаркерлер ретінде қарастыруға мүмкіндік береді.

3.2 Зерттелген үлгілердегі тотығу статусы маркерлері және антиоксиданттық ферменттердің белсенділігін анықтау

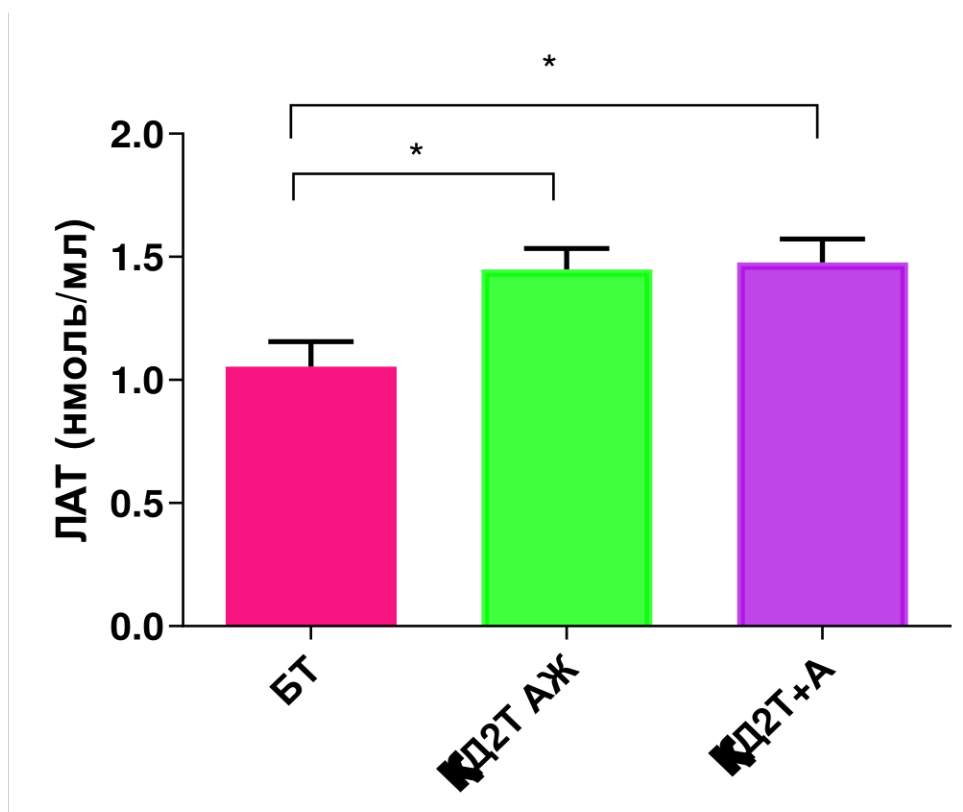
3.2.1 Тотығу статусы маркерлерін анықтау

Қан жасушаларындағы тотықтырғыштардың түзілуі мен антиоксиданттық қорғаныс арасындағы теңгерімнің бұзылуынан туындаған зақымдануларды көрсететін жасушадан тыс тотығу статусы деңгейі ЛАТ, АОРР және NOx деңгейлерін талдау арқылы анықталды. ҚД2Т АЖ және ҚД2Т+А топтарындағы науқастарда бұл екі маркердің деңгейі бақылау тобымен салыстырғанда айтарлықтай жоғары болды: ЛПО деңгейінің жоғарылауы $p < 0,05$, ал АОРР деңгейінің артуы $p < 0,01$ мәндерінде байқалды (сурет 12). ҚД2Т АЖ тобында сондай-ақ NOx және ЛАТ деңгейлерінің жоғарылауы анықталды (сурет 13, 14).



Сурет 12 - Қант диабеті бар науқастардың (ҚД2Т АЖ, ҚД2Т+А) және бақылау тобының плазмасындағы тотығу стресі маркері АОРР деңгейін бағалау

Деректер орташа мән $\pm$ орташа қателік (SEM) түрінде көрсетілген. p мәндері Краскел–Уоллис критерийі арқылы есептелді. Топтар арасындағы салыстырулар графиктерде көрсетілген. ** $p < 0,01$.

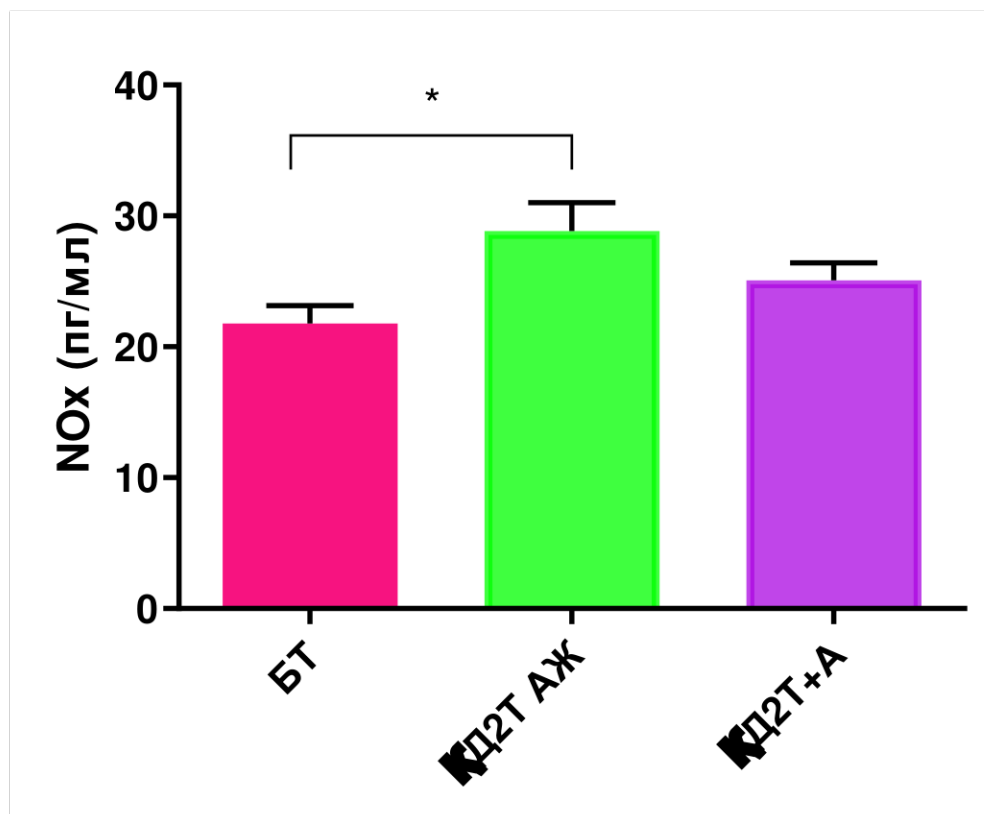


Сурет 13 - Қант диабеті бар науқастардың (КД2Т АЖ, КД2Т+А) және бақылау тобының плазмасындағы тотығу стресі маркері ЛАТ деңгейін бағалау

Деректер орташа мән $\pm$ орташа қателік (SEM) түрінде көрсетілген. p мәндері Краскел–Уоллис критерийі арқылы есептелді. Топтар арасындағы салыстырулар графиктерде көрсетілген. * $p < 0,05$.

Зерттеу нәтижелері ЛАТ деңгейінің КД2Т АЖ және КД2Т+А топтарында бақылау тобына қарағанда жоғары екенін көрсетті. Бұл тотығу стресінің диабетпен және оның асқынуларымен байланысын растайды. Краскел–Уоллис критерийі бойынша анықталған $p < 0,05$ мәндері топтар арасындағы айырмашылықтардың статистикалық маңызды екенін дәлелдейді.

Бұл деректер КД2Т науқастарында, әсіресе макрокантамырлық асқынулары бар топтарда, тотығу стресінің айқын күшеюін және антиоксиданттық жүйенің жеткіліксіздігін көрсетеді. ЛАТ, АОРР және NOx деңгейлерінің жоғарылауы липидтер мен ақуыздардың тотығу зақымдануының күшеюін, сондай-ақ азот тотығы метаболизміне байланысты дисфункцияны меңзейді. Бұл өзгерістер эндотелий қызметінің бұзылуына, қан тамырларының қабынуына және атеросклероз үдерісінің жеделдеуіне ықпал етуі мүмкін.



Сурет 14 - Қант диабеті бар науқастардың (КД2Т АЖ, КД2Т+А) және бақылау тобының плазмасындағы тотығу стресі маркері Nox деңгейін бағалау

Деректер орташа мән $\pm$ орташа қателік (SEM) түрінде көрсетілген. р мәндері Краскел–Уоллис критерийі арқылы есептелді. Топтар арасындағы салыстырулар графиктерде көрсетілген. * $p < 0,05$.

Бұл деректер КД2Т науқастарында, әсіресе макрокантамырлық асқынулары бар топтарда, тотығу стресінің айқын күшеюін және антиоксиданттық қорғаныс жүйесінің жеткіліксіздігін дәлелдейді. ЛАТ, АОРР және NOx деңгейлерінің жоғарылауы липидтер мен ақуыздардың қарқынды тотығу зақымдануының және азот тотығы метаболизміндегі теңгерімсіздіктің көрсеткіші болып табылады. Мұндай өзгерістер эндотелийдің биожеткізгіштік және вазорегуляциялық қызметінің бұзылуына, қан тамырлары қабырғасында қабыну медиаторларының жиналуына және атеросклероздың үдеуімен байланысты пролиферативті процестердің жеделдеуіне ықпал етуі мүмкін.

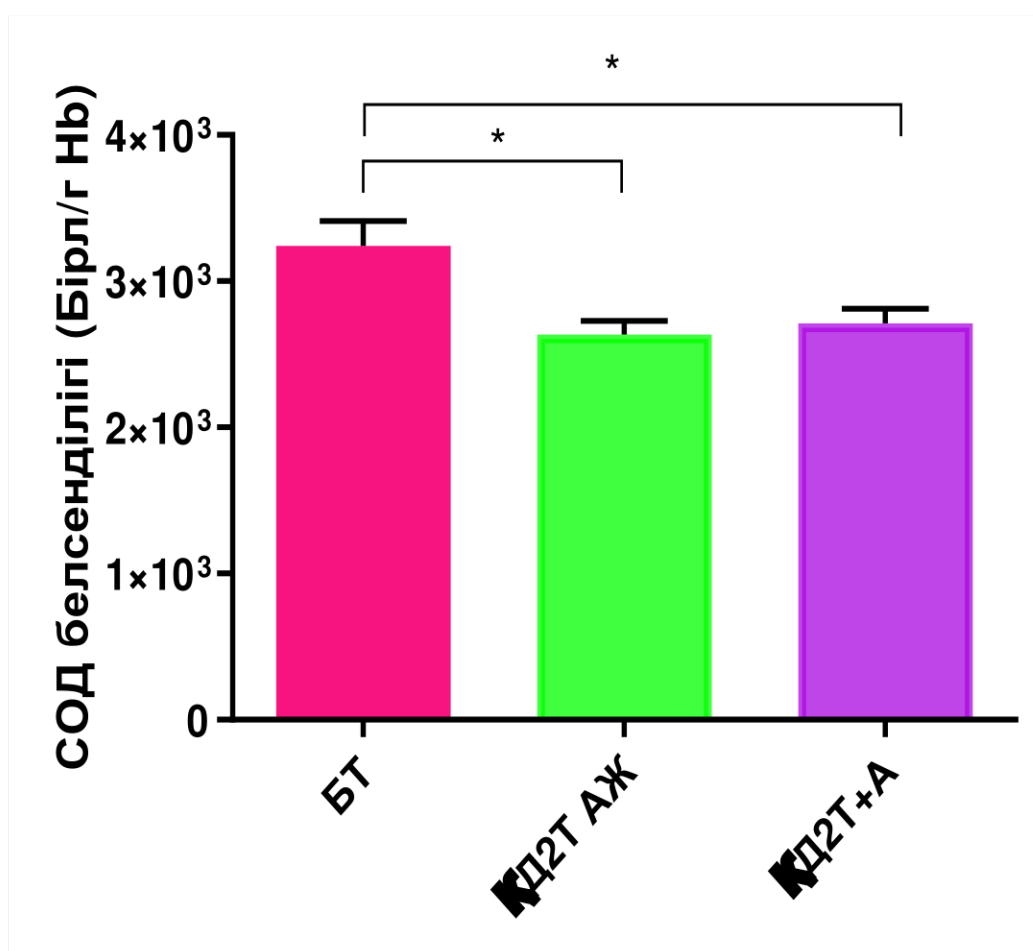
3.2.2 Антиоксиданттық ферменттердің белсенділігін анықтау

Ішкі жасушалық тотығу күйін анықтау эритроциттердегі антиоксиданттық ферменттердің (SOD, CAT және G6PD) белсенділігін, сондай-ақ глутатион циклі компоненттерінің (GSSG, GSH, GRd және GPx) деңгейін өлшеуді қамтыды.

Антиоксиданттық ферменттер ішінде SOD белсенділігінің екі диабеттік топта да айтарлықтай төмендеуі байқалды ($p < 0,05$) (сурет 15). Каталаза белсенділігінде топтар арасында елеулі айырмашылықтар анықталған жоқ (сурет 16). Ал G6PD белсенділігі КД2Т АЖ және КД2Т+А топтарында бақылау

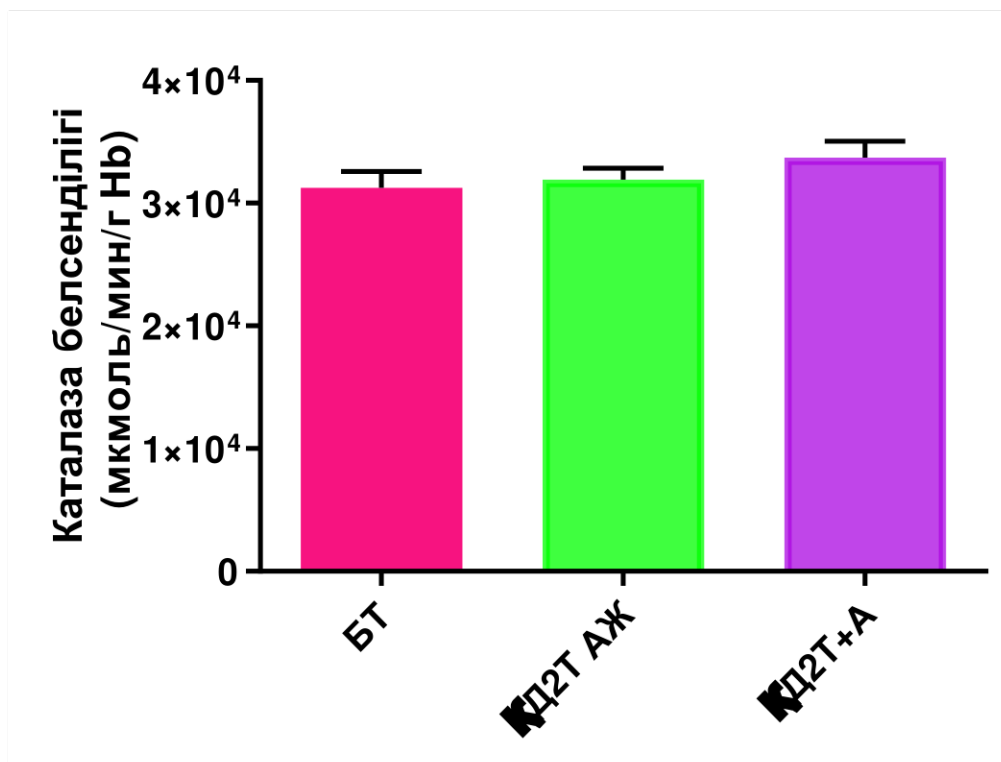
тобымен салыстырғанда төмен болды ($p < 0,01$ және $p < 0,05$, сәйкесінше) (сурет 17).

Мәліметтерді талдау нәтижесінде антиоксиданттық ферменттердің белсенділігінде айқын өзгерістер байқалды. Атап айтқанда, SOD белсенділігі екі диабеттік топта да төмендегені тотығу стресінің күшеюін және антиоксиданттық қорғаныс жүйесінің әлсіреуін көрсетеді. Каталаза белсенділігінің өзгермеуі оның осы жағдайда тұрақтырақ рөл атқаруы мүмкін екенін білдіреді. Ал G6PD белсенділігінің төмендеуі глюкоза-6-фосфаттың метаболизмі мен NADPH түзілуінің бұзылуына әкелуі ықтимал, бұл жасушалардың тотығу зақымдануына осал болуына әсер етеді.



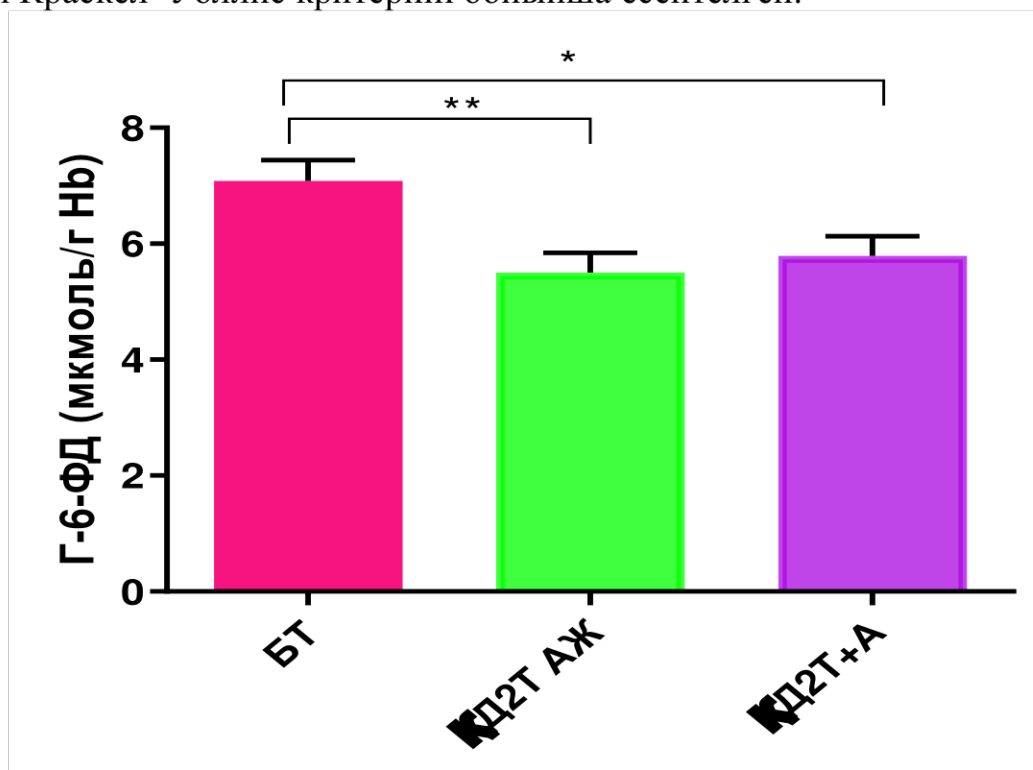
Сурет 15 - Қант диабеті бар науқастардың (ҚД2Т АЖ, ҚД2Т+А) және бақылау тобының эритроциттеріндегі SOD деңгейін бағалау

Деректер орташа мән $\pm$ стандартты қателік (SEM) түрінде ұсынылған. p мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелген. $*p < 0,5$.



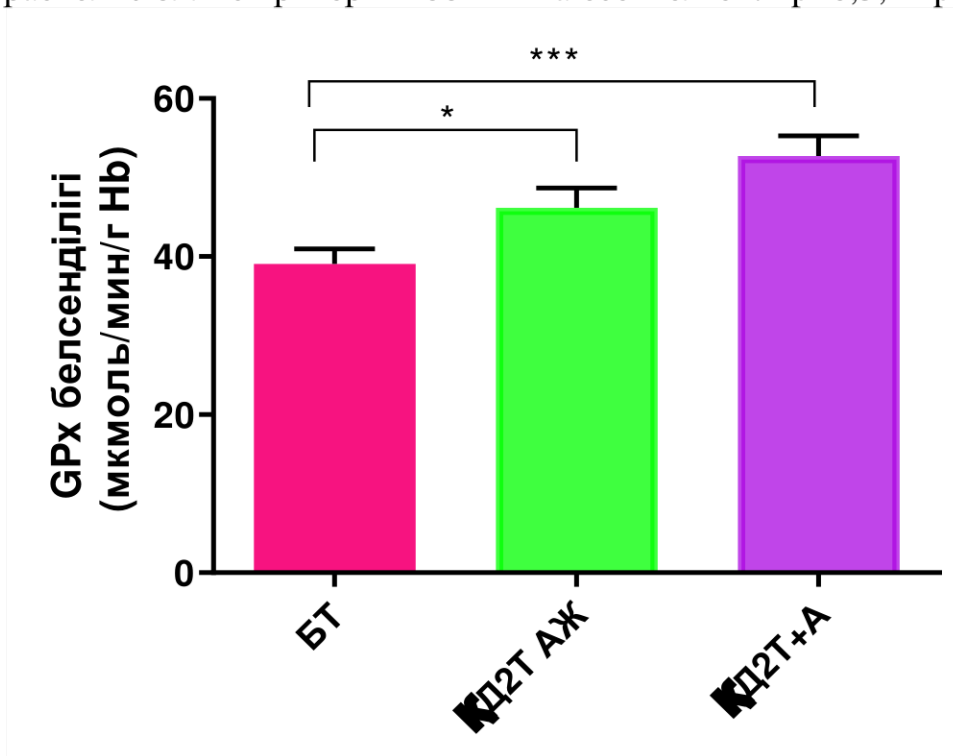
Сурет 16 - Қант диабеті бар науқастардың (КД2Т АЖ, КД2Т+А) және бақылау тобының эритроциттеріндегі Каталаза деңгейін бағалау

Деректер орташа мән ± стандартты қателік (SEM) түрінде ұсынылған. р мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелген.



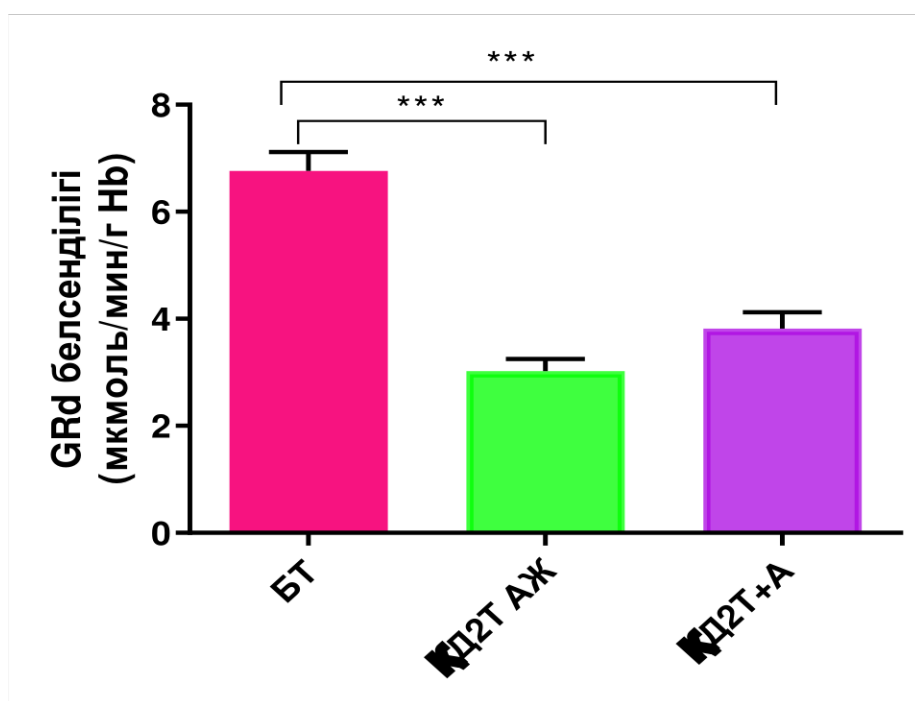
Сурет 17 - Қант диабеті бар науқастардың (КД2Т АЖ, КД2Т+А) және бақылау тобының эритроциттеріндегі Г-6-ФД деңгейін бағалау

Деректер орташа мән $\pm$ стандартты қателік (SEM) түрінде ұсынылған. р мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелген. * $p < 0,5$, ** $p < 0,01$.



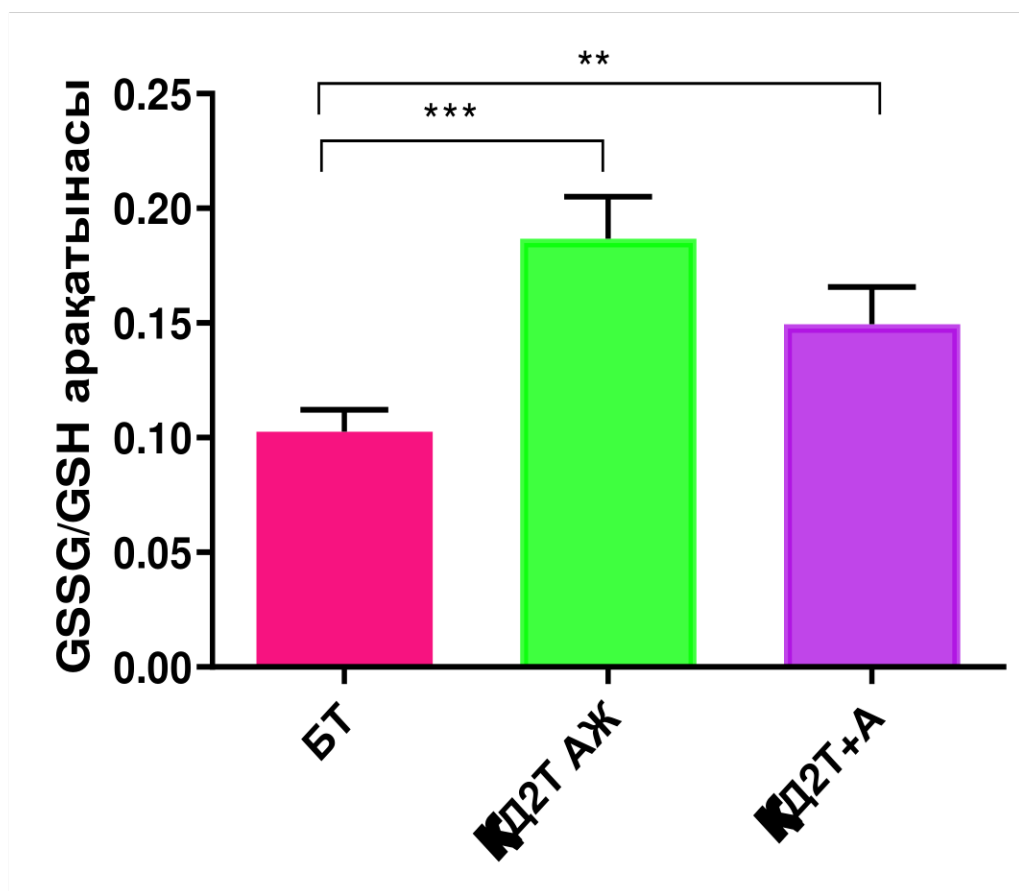
Сурет 18 - Қант диабеті бар науқастардың (ҚД2Т АЖ, ҚД2Т+А) және бақылау тобының эритроциттеріндегі GPR белсенділігін бағалау

Деректер орташа мән $\pm$ стандартты қателік (SEM) түрінде ұсынылған. р мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелген. * $p < 0,5$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.



Сурет 19 - Қант диабеті бар науқастардың (ҚД2Т АЖ, ҚД2Т+А) және бақылау тобының эритроциттеріндегі GRd белсенділігін бағалау

Деректер орташа мән $\pm$ стандартты қателік (SEM) түрінде ұсынылған. p мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелген. *** $p < 0,001$.



Сурет 20 - Қант диабеті бар науқастардың (ҚД2Т АЖ, ҚД2Т+А) және бақылау тобының эритроциттеріндегі GSSG/GSH арақатынасы деңгейін бағалау

Деректер орташа мән $\pm$ стандартты қателік (SEM) түрінде ұсынылған. p мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелген. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

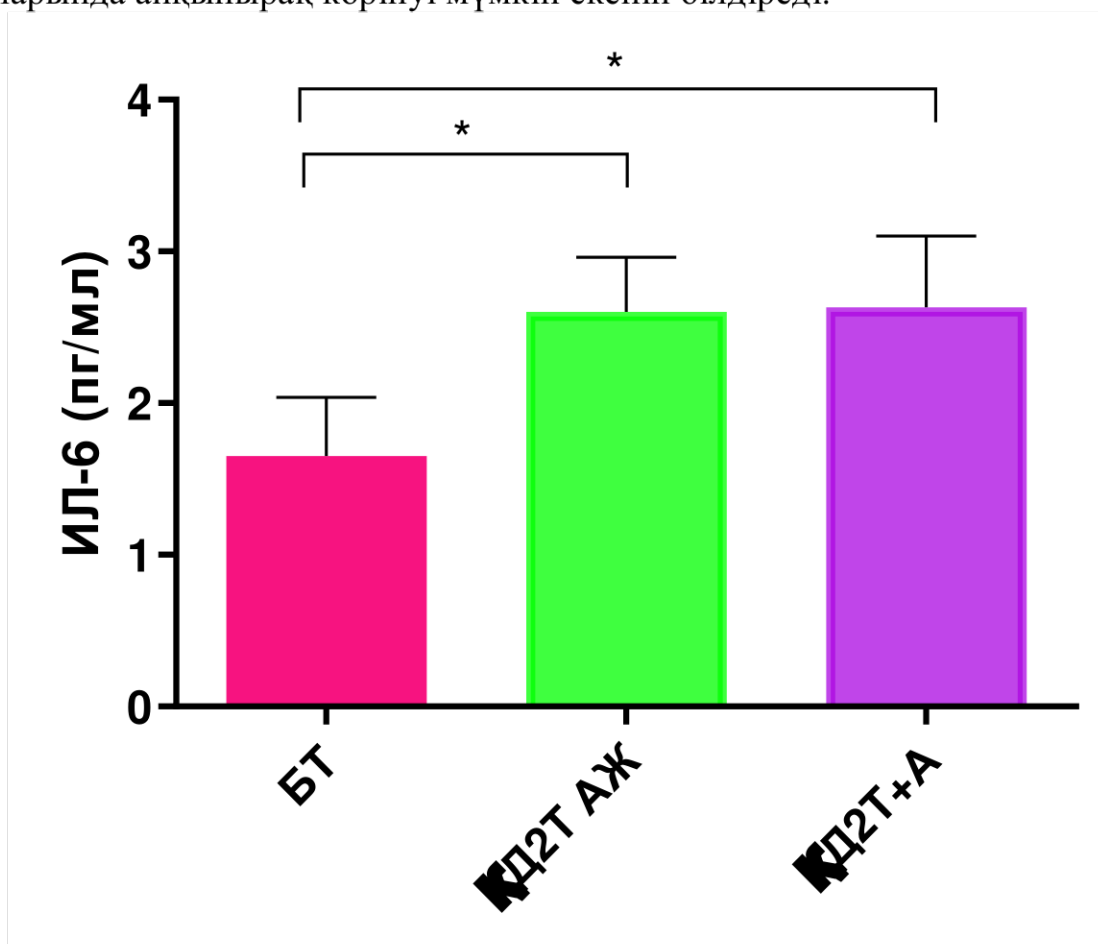
GRd белсенділігі қант диабеті бар екі топта да бақылау тобымен салыстырғанда айтарлықтай төмен болды ($p < 0,001$, сурет 19), ал GPx белсенділігі, керісінше, осы топтарда жоғарылаған ($p < 0,001$ және $p < 0,05$ сәйкесінше) (сурет 18). Сонымен қатар, GSSG/GSH қатынасы ҚД2Т АЖ тобында ($p < 0,001$) және ҚД2Т+А тобында ($p < 0,01$) бақылау тобымен салыстырғанда едәуір артқан (сурет 20).

Жүргізілген талдау нәтижелері қант диабетімен ауыратын науқастарда антиоксиданттық қорғаныс жүйесінде айқын өзгерістер бар екенін көрсетті. Атап айтқанда, екі топта да GRd белсенділігінің төмендеуі және GPx белсенділігінің артуы байқалды, бұл тотығу-қалпына келу тепе-теңдігінің бұзылуына және антиоксиданттық ферменттердің компенсациялық белсендірілуіне меңзейді. Сонымен бірге, GSSG/GSH қатынасының артуы жасушалық деңгейде тотығу стрессінің күшейгенін және глутатиондық жүйенің тотыққан күйге ығысқанын дәлелдейді. Бұл өзгерістер қант диабетінің патогенезінде және асқынулардың дамуында тотығу стрессінің маңызды рөлін растайды.

3.3 Қабыну статусы көрсеткіштерін анықтау

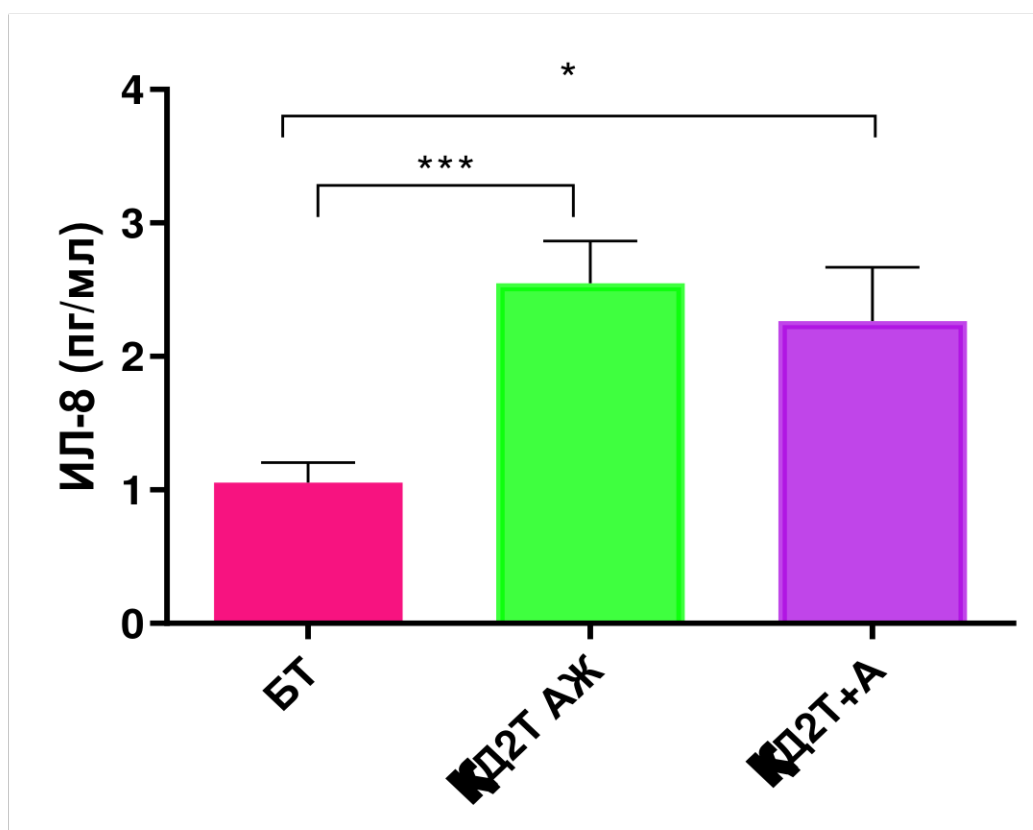
Үш зерттелген топтағы қабыну маркерлерінің ішінде IL-6, IL-8, IL-18 және MCP-1 деңгейлері ҚД2Т АЖ және ҚД2Т+А топтарында бақылау тобымен салыстырғанда айтарлықтай жоғары болды. Алайда ҚД2Т АЖ және ҚД2Т+А топтары арасында елеулі айырмашылықтар анықталған жоқ. IL-10 және TNF- α деңгейлері БТ, ҚД2Т АЖ және ҚД2Т+А топтары арасында өзгешелік көрсетпеді.

Жалпы алғанда, бұл нәтижелер ҚД2Т-і бар науқастарда, әсіресе микроангиопатиясы немесе атеросклерозы бар топтарда, жүйелік қабыну белсенділігінің күшейгенін көрсетеді. IL-6, IL-8, IL-18 және MCP-1 деңгейлерінің жоғарылауы эндотелий дисфункциясы мен атерогенез процестерінің үдеуімен байланысты болуы мүмкін (сурет 21-25). Ал IL-10 және TNF- α (сурет 23-26). деңгейлерінің топтар арасында айырмашылық көрсетпеуі бұл маркерлердің зерттелген жағдайда қабыну процестерінің негізгі индикаторлары болып табылмайтынын немесе олардың өзгерісі аурудың басқа сатыларында айқынырақ көрінуі мүмкін екенін білдіреді.



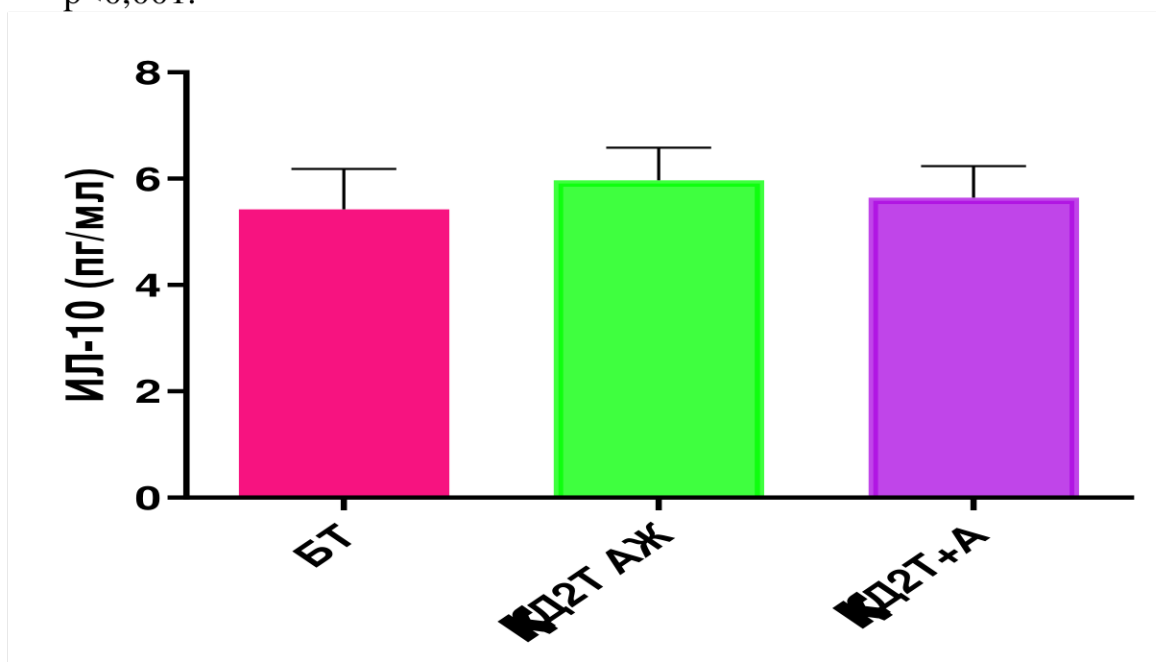
Сурет 21 - Қант диабетімен ауыратын және бақылау топтарындағы про цитокин IL-6 плазмадағы концентрациясы

Деректер орташа мән $\pm$ стандартты қатенің орташа мәні (SEM) түрінде көрсетілген. р мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелді. * $p < 0,5$



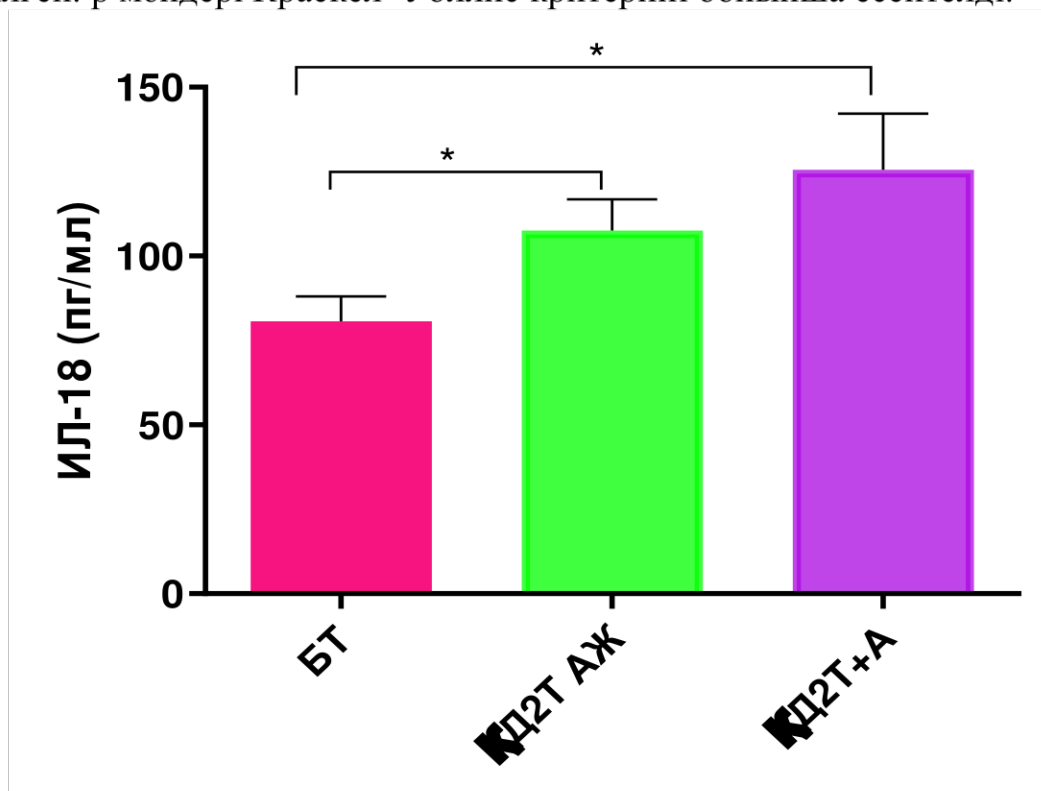
Сурет 22 - Қант диабетімен ауыратын және бақылау топтарындағы про цитокин IL-8 плазмадағы концентрациясы

Деректер орташа мән $\pm$ стандартты қатенің орташа мәні (SEM) түрінде көрсетілген. р мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелді. * $p < 0,5$, *** $p < 0,001$.



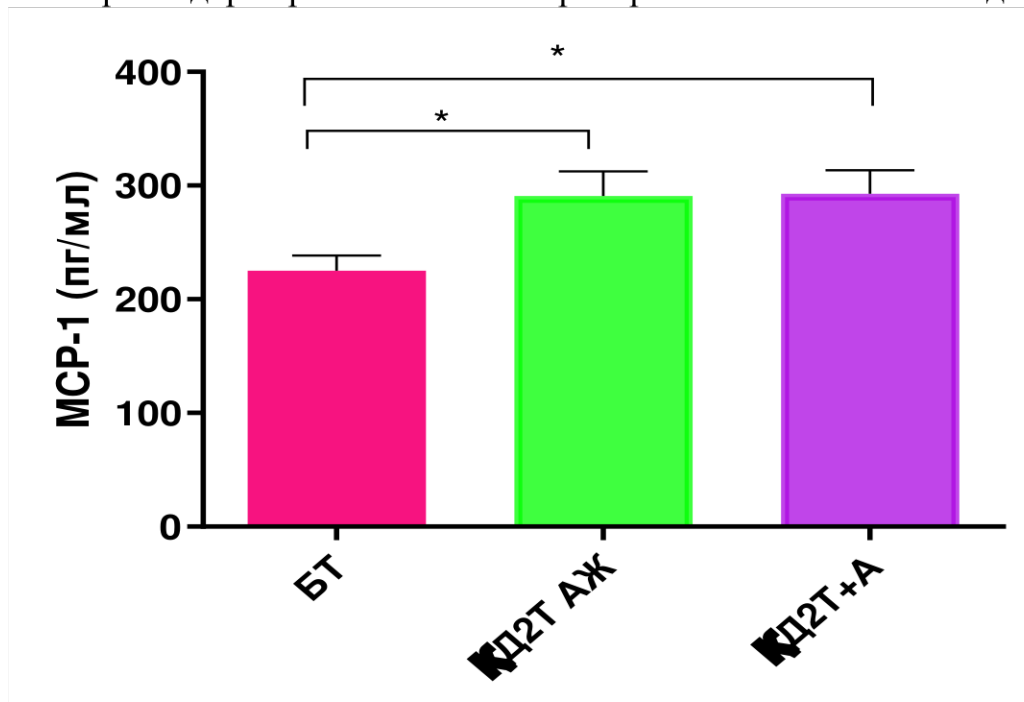
Сурет 23 - Қант диабетімен ауыратын және бақылау топтарындағы қабынуға қарсы цитокин IL-10 плазмадағы концентрациясы

Деректер орташа мән $\pm$ стандартты қатенің орташа мәні (SEM) түрінде көрсетілген. р мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелді.



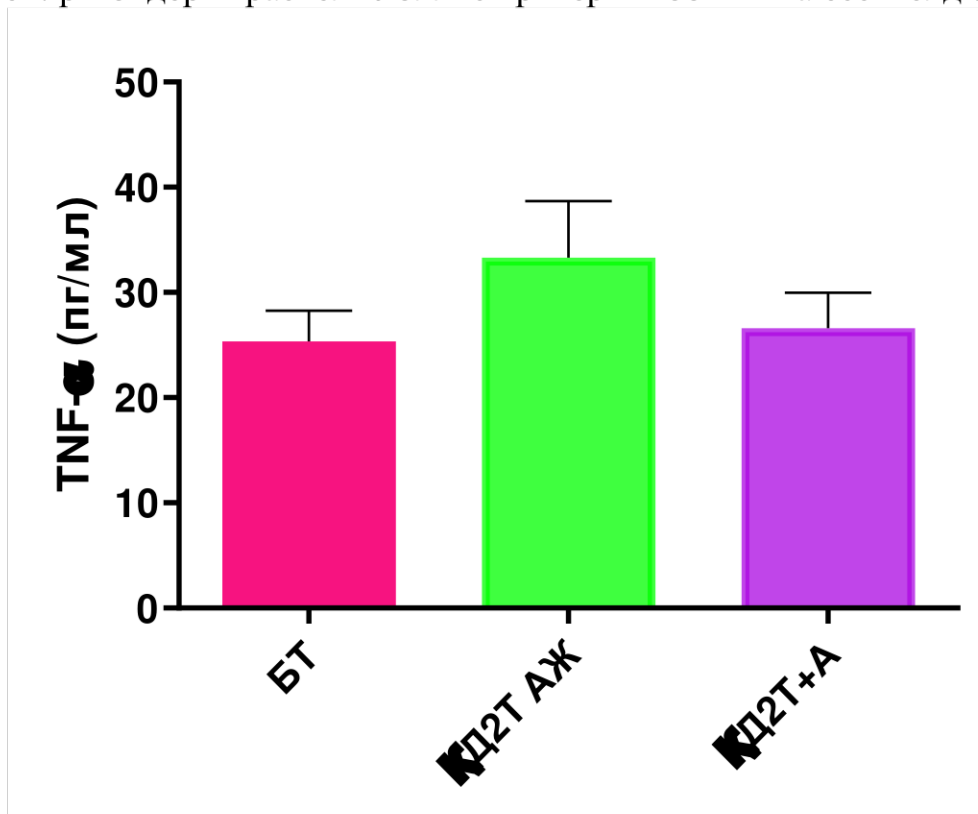
Сурет 24 - Қант диабетімен ауыратын және бақылау топтарындағы про цитокин IL-18 плазмадағы концентрациясы

Деректер орташа мән $\pm$ стандартты қатенің орташа мәні (SEM) түрінде көрсетілген. р мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелді. * $p < 0,5$.



Сурет 25 - Қант диабетімен ауыратын және бақылау топтарындағы МСР-1 плазмадағы концентрациясы

Деректер орташа мән $\pm$ стандартты қатенің орташа мәні (SEM) түрінде көрсетілген. р мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелді. * $p < 0,5$.



Сурет 26 - Қант диабетімен ауыратын және бақылау топтарындағы TNF-α плазмадағы концентрациясы

Деректер орташа мән $\pm$ стандартты қатенің орташа мәні (SEM) түрінде көрсетілген. р мәндері Краскел–Уоллис критерийі бойынша есептелді.

Қорытындылай келе, алынған мәліметтер ҚД2Т-і бар науқастарда, әсіресе микроангиопатия және атеросклероз жағдайында, қабыну медиаторларының теңгерімсіздігі бар екенін дәлелдейді. IL-6, IL-8, IL-18 және MCP-1 деңгейлерінің артуы тамыр қабырғасының зақымдануымен, эндотелий функциясының бұзылуымен және атеросклероздық өзгерістердің үдеуімен өзара байланысты болуы ықтимал. Ал IL-10 және TNF-α деңгейлерінің айқын өзгеріс көрсетпеуі олардың осы зерттелген кезеңде қабыну процесінің жетекші көрсеткіштері болмауы мүмкін екенін меңзейді. Бұл деректер қабыну маркерлерінің кешенді бағалауы ҚД2Т асқынуларының патогенезін түсінуде және тәуекелді ерте анықтауда маңызды екенін көрсетеді.

3.4 Топтар арасындағы Пирсон корреляциялық талдауы нәтижеле

Пирсон корреляциялық талдауы қант диабетімен ауыратын науқастарда тотығу стресі жағдайы, қабыну маркерлері және биохимиялық көрсеткіштер арасындағы келесі маңызды байланыстарды анықтады:

Оң корреляциялар:

ЛПО және жалпы холестерин ($r = 0,278$, $p = 0,032$).

ЛПО және триглицеридтер ($r = 0,285$, $p = 0,029$).

ЛПО және НОМА-IR ($r = 0,281$, $p = 0,036$).

АОРР және триглицеридтер ($r = 0,763$, $p < 0,001$).

GRd және НОМА-IR ($r = 0,255$, $p = 0,050$).

Теріс корреляциялар:

CAT және жалпы холестерин ($r = -0,363$, $p = 0,004$).

SOD және жалпы холестерин ($r = -0,272$, $p = 0,035$).

IL-10 және НОМА-IR ($r = -0,300$, $p = 0,036$).

TNF- α және НОМА-IR ($r = -0,248$, $p = 0,050$).

Науқастардың жынысы, жасы және ДСИ сәйкес түзетулер енгізілгеннен кейін де CAT пен жалпы холестерин, CAT пен ТТЛП, IL-10 мен НОМА-IR арасындағы теріс корреляциялар сақталды. Сонымен қатар, басқа да маңызды байланыстар анықталды (кесте 7).

Кесте 7 - Жынысы, жасы және ДСИ ескерілген қант диабеті бар науқастардағы тотығу стресі мен қабыну маркерлерінің биохимиялық көрсеткіштермен маңызды Пирсон корреляцияларының жиынтығы

	Глюкоза		HbA1c		НОМА-IR		Холестерин		ТТЛП		Креатинин	
	г	р	г	р	г	р	г	р	г	р	г	Р
GPx	- 0.06 8	0.63 8	- 0.13 4	0.35 2	0.24 5	0.05 0	- 0.29 4	0.0 38	- 0.2 34	0.10 2	0.06 6	0.651
GRd	0.32 4	0.02 2	0.09 5	0.51 4	- 0.04 7	0.74 5	- 0.10 1	0.4 85	- 0.1 00	0.49 0	0.08 7	0.548
Catalase	- 0.04 4	0.76 4	0.02 0	0.89 2	0.12 7	0.25 8	- 0.41 0	0.0 03	- 0.4 04	0.00 4	- 0.20 9	0.146
G6PD	0.07 4	0.60 8	0.00 1	0.99 7	- 0.11 5	0.56 6	- 0.29 7	0.0 36	- 0.3 25	0.02 1	- 0.05 1	0.725
GSH	- 0.16 3	0.25 7	- 0.18 5	0.20 0	0.03 0	0.83 6	- 0.30 2	0.0 33	- 0.2 88	0.04 2	0.14 4	0.319
IL-8	0.13 0	0.42 4	0.10 4	0.52 1	- 0.01 0	0.95 3	0.33 0	0.0 37	0.3 36	0.04 5	- 0.06 8	0.677
IL-10	- 0.16 7	0.30 2	- 0.17 7	0.27 4	- 0.36 5	0.02 0	0.03 7	0.8 19	0.0 62	0.69 7	0.06 2	0.703
MCP-1	- 0.21 5	0.18 3	- 0.17 1	0.29 0	- 0.08 7	0.59 5	- 0.04 7	0.7 71	- 0.0 58	0.71 4	0.36 6	0.020

Бұл зерттеуде miRNA экспрессиясының профилі, биохимиялық көрсеткіштер және қабыну маркерлері арасындағы ықтимал корреляциялар

талданды. Алдымен барлық қатысушылардың деректері бойынша корреляциялық байланыстар бағаланып, келесі өзара байланыстар анықталды:

miR-21 глюкоза деңгейімен ($r = 0,295$, $p = 0,006$) және HbA1c-пен ($r = 0,272$, $p = 0,012$) айқын оң корреляция көрсетті, сондай-ақ жалпы холестеринмен ($r = -0,231$, $p = 0,033$) және ТТЛП-мен ($r = -0,275$, $p = 0,011$) теріс байланыс анықталды.

miR-126 триглицерид деңгейімен оң корреляция көрсетті ($r = 0,344$, $p = 0,001$).

miR-146a глюкоза ($r = 0,491$, $p < 0,001$) және HbA1c ($r = 0,326$, $p = 0,003$) деңгейлерімен оң байланыс көрсетті.

miR-155-5p HbA1c ($r = 0,251$, $p = 0,021$) және глюкоза ($r = 0,471$, $p < 0,001$) деңгейлерімен оң корреляция көрсетті.

miR-484 жалпы холестеринмен ($r = -0,287$, $p = 0,009$) және ТТЛП-мен ($r = -0,293$, $p = 0,007$) теріс байланыс көрсетті.

miR-210 HbA1c деңгейімен оң корреляция көрсетті ($r = 0,266$, $p = 0,014$), бірақ жалпы холестеринмен ($r = -0,359$, $p < 0,001$), ТТЛП-мен ($r = -0,356$, $p < 0,001$) және TNF- α ($r = -0,239$, $p = 0,042$) деңгейлерімен теріс байланыс анықталды.

Қант диабеті бар науқастарда miR-126 пен триглицерид деңгейі арасында ($r = 0,413$, $p = 0,001$), miR-146a мен глюкоза деңгейі арасында ($r = 0,424$, $p = 0,002$), сондай-ақ miR-155 пен глюкоза деңгейі арасында ($r = 0,408$, $p = 0,002$) оң корреляция анықталды. Сонымен қатар, miR-210 мен TNF- α арасында теріс корреляция байқалды ($r = -0,290$, $p = 0,037$) (5a–d-сурет).

Қант диабетімен ауыратын науқастардың деректері жынысы, ДСИ және жасы бойынша түзетілгеннен кейін екі корреляция сақталды: miR-146a мен глюкоза ($r = 0,376$, $p = 0,007$) және miR-155 пен глюкоза ($r = 0,409$, $p = 0,004$) арасында.

Сонымен қатар, диабеті бар науқастарда miRNA экспрессиясы мен тотығу стресі және қабыну маркерлері арасындағы өзара байланыстар жан-жақты зерттеліп, жасы, жынысы және дене салмағының индексі бойынша түзетілген түрде талданды (4-кесте). Бұл коварианттарды есепке алу нәтижелердің нақты және объективті болуын қамтамасыз етуге бағытталды, себебі аталған факторлар биомаркерлер деңгейіне әсер етуі мүмкін.

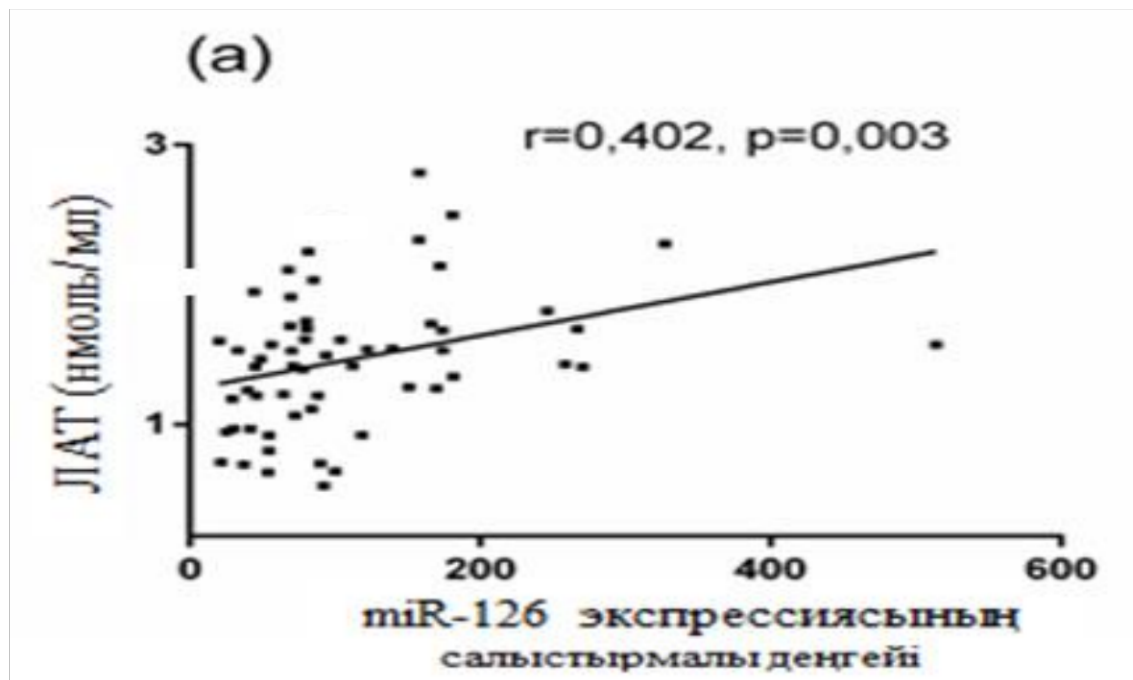
Түзетілген корреляциялық талдау барысында екі бағытта да бірқатар мәнді байланыстар анықталды. Атап айтқанда, miR-21 мен липидтердің пероксидтік тотығуы (ЛПО) арасында оң корреляция тіркелді, бұл miR-21 экспрессиясының жоғарылауы липидтік тотығу өнімдерінің жиналуымен қатар жүретінін көрсетеді. Осындай оң байланыс miR-126 және ЛПО, сондай-ақ miR-27a және ЛПО арасында да байқалды. Бұл микроРНК-лардың антиоксиданттық тепе-теңдіктің бұзылуымен тығыз байланыста екенін көрсетеді және олардың тотығу стресінің биомаркері ретінде қарастырылу мүмкіндігін айғақтайды.

Сонымен қатар, miR-210 мен каталазаның арасында да оң корреляция анықталды. Бұл мРНК экспрессиясының артуы антиоксиданттық қорғаныс

ферментінің белсенділігімен байланысты болуы мүмкін екенін білдіреді, әсіресе гипоксия мен жасушалық стресске жауап ретінде.

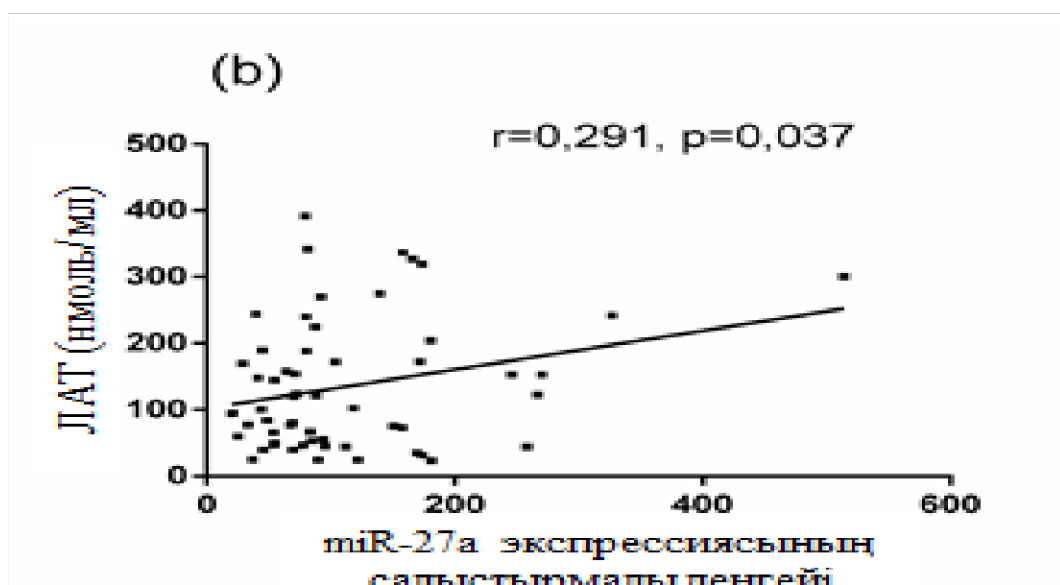
Бұған қоса, miR-21 мен супероксиддисмутаза арасындағы теріс корреляция тіркелді. Бұл байланыс miR-21 экспрессиясы жоғарылаған жағдайда антиоксиданттық фермент белсенділігінің төмендеу үрдісін көрсетуі мүмкін және бұл өзгеріс SOD функциясының әлсіреуімен байланысты тотығу стресінің күшеюіне ықпал етуі мүмкін деген гипотезаны қолдайды.

Осылайша, алынған нәтижелер miRNA молекулаларының тотығу стресі мен антиоксиданттық қорғаныс жүйесінің маркерлерімен өзара байланысын көрсету арқылы олардың патогенетикалық рөлін және болашақта биомаркер ретінде қолданылу мүмкіндігін негіздейді. Бұл өз кезегінде, диабетпен байланысты тамырлық асқынуларды ерте диагностикалау және болжам жасау тұрғысынан перспективалы бағыт болып табылады.



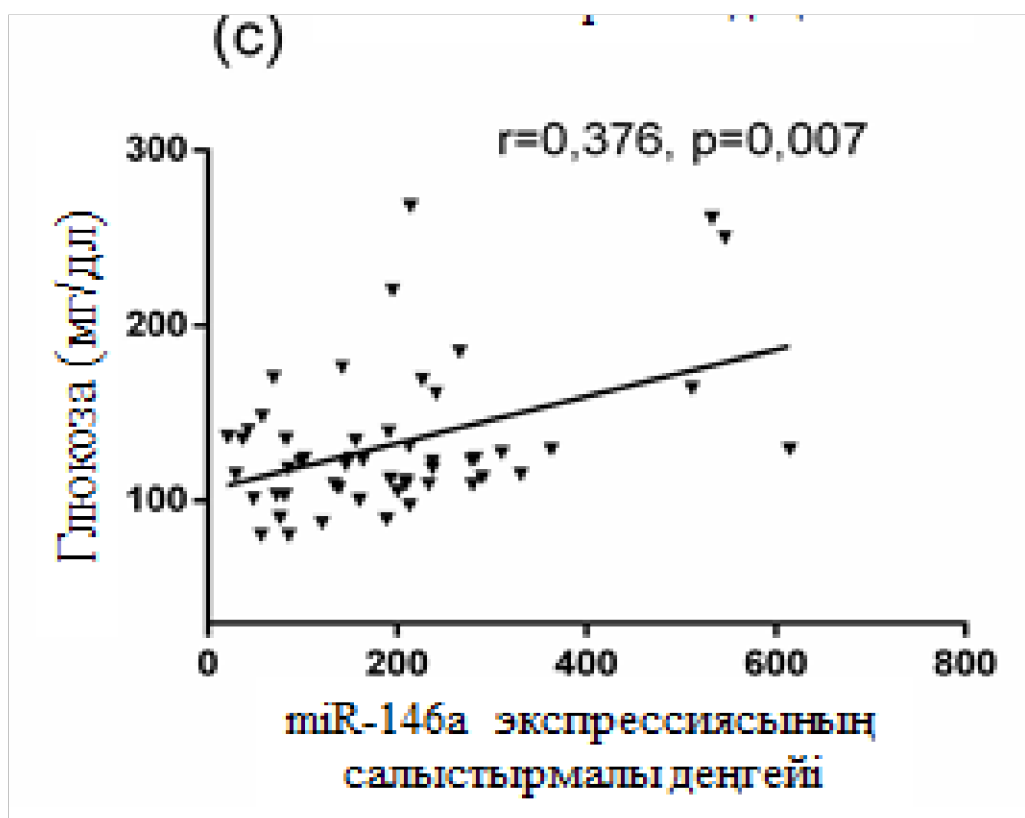
Сурет 27 - Қант диабеті бар науқастардағы miR-126 мен ЛАТ салыстырмалы экспрессияның арасындағы корреляциясы

Талдау үшін Пирсон корреляция коэффициенті (r) қолданылды.



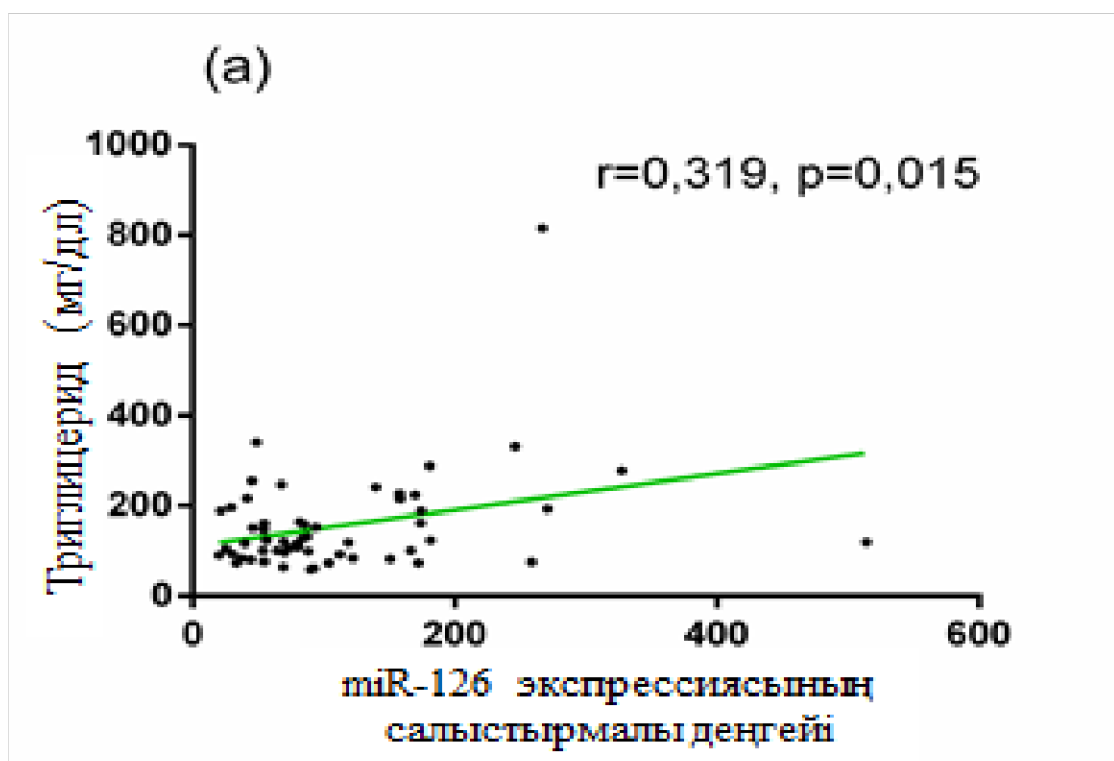
Сурет 28 - Қант диабеті бар науқастардағы miR-27-а мен ЛАТ салыстырмалы экспрессияның арасындағы корреляциясы

Талдау үшін Пирсон корреляция коэффициенті (r) қолданылды.



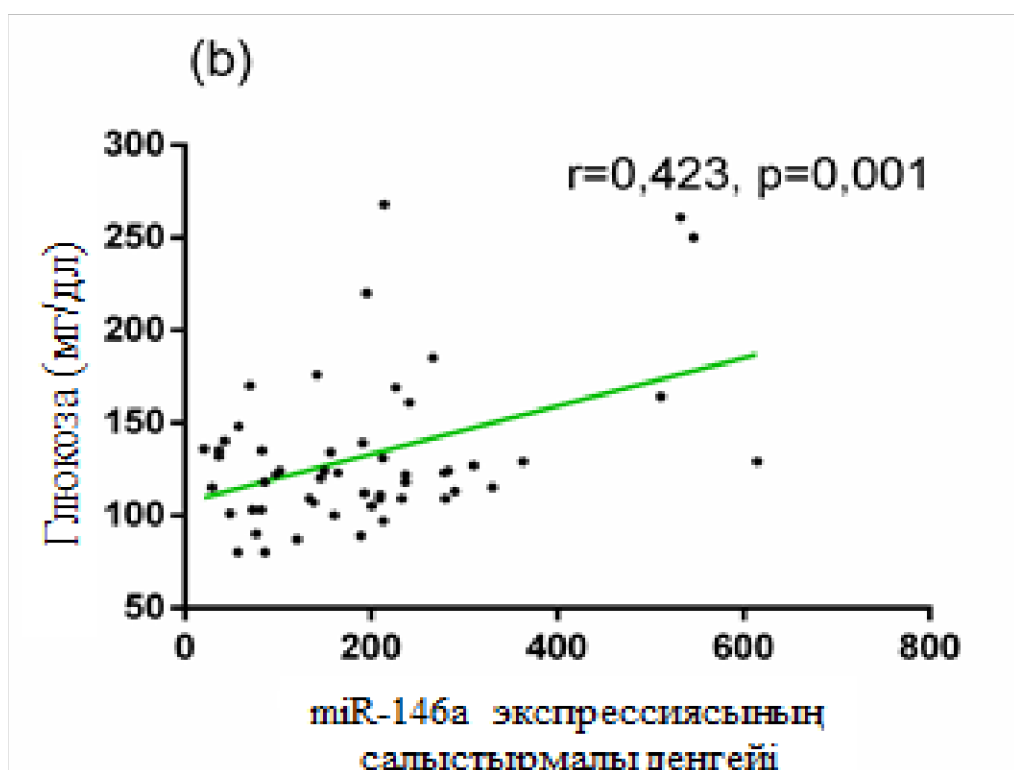
Сурет 29 - Қант диабеті бар науқастардағы miR-146a мен глюкоза салыстырмалы экспрессияның арасындағы корреляциясы

Талдау үшін Пирсон корреляция коэффициенті (r) қолданылды.



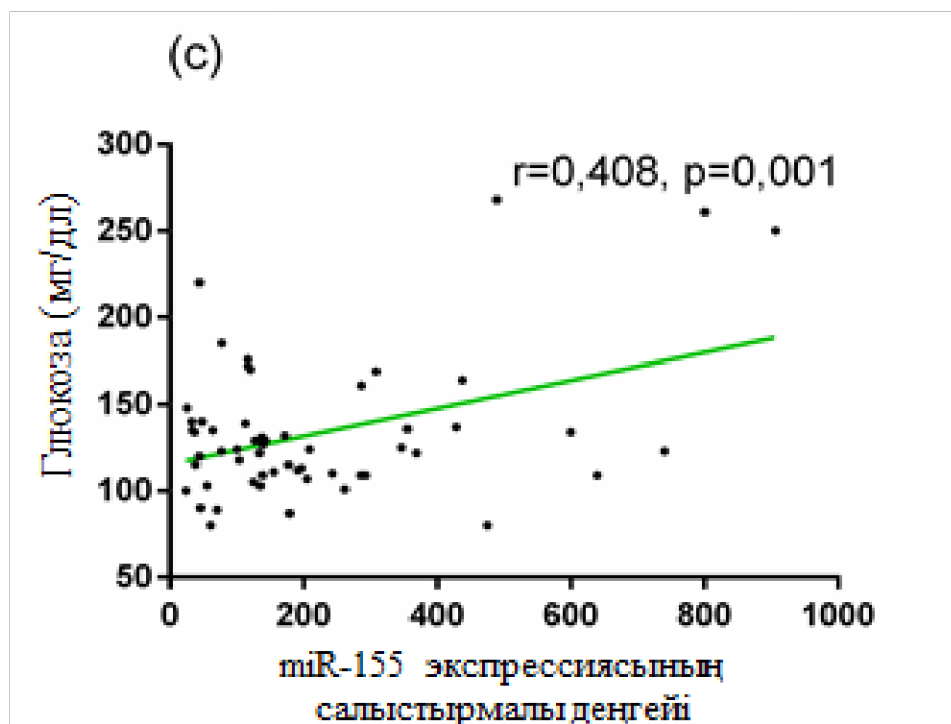
Сурет 30 - Қант диабеті бар науқастардағы miR-126 мен триглицерид салыстырмалы экспрессияның арасындағы корреляциясы

Талдау үшін Пирсон корреляция коэффициенті (r) қолданылды.



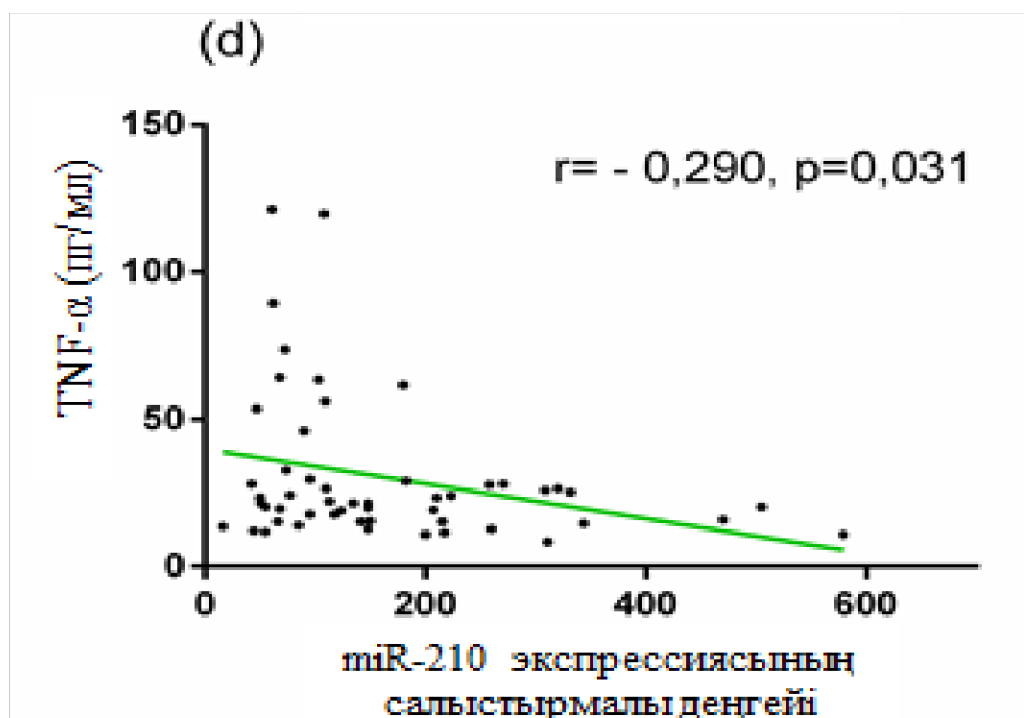
Сурет 31 - Қант диабеті бар науқастардағы miR-146a мен глюкоза салыстырмалы экспрессияның арасындағы корреляциясы

Талдау үшін Пирсон корреляция коэффициенті (r) қолданылды.



Сурет 32 - Қант диабеті бар науқастардағы miR-155 мен глюкоза салыстырмалы экспрессияның арасындағы корреляциясы

Талдау үшін Пирсон корреляция коэффициенті (r) қолданылды.



Сурет 33 - Қант диабеті бар науқастардағы miR-210 мен TNF- α салыстырмалы экспрессияның арасындағы корреляциясы

Талдау үшін Пирсон корреляция коэффициенті (r) қолданылды.

Кесте 8 - Барлық қатысушылардағы және қант диабеті бар науқастардағы жас, жыныс пен ДМИ ескерілген жағдайда плазмадағы miRNA деңгейлері мен тотығу стресі көрсеткіштері арасындағы маңызды ($p < 0,05$) Пирсон корреляцияларының (r) қорытындысы

MiRNA	Тотығу стресі параметрлері	r-Value	p-Value
Қант диабеті бар науқастар			
miR-21	SOD	-0.346	0.009
	LPO	0.266	0.048
miR-126	LPO	0.424	<0.001
miR-27a	LPO	0.321	0.017
miR-210	CAT	0.413	0.001
Қант диабетімен ауыратын науқастардың деректері жас, жыныс және ДСИ ескере отырып түзетілді			
miR-21	SOD	-0.289	0.036
miR-126	LPO	0.447	0.001
	AOPP	0.281	0.046
miR-27a	LPO	0.425	0.003
	AOPP	0.288	0.047
miR-210	CAT	0.312	0.029
	LPO	0.292	0.042
miR-484	CAT	0.360	0.039

Қорытындылай келе, мәліметтер плазмадағы микроРНК деңгейлері мен тотығу стресі көрсеткіштері арасында маңызды корреляциялық байланыстар бар екенін көрсетеді. Жас, жыныс және ДМИ факторлары ескерілгенде де бұл байланыстар сақталып, микроРНК-лардың тотығу стресінің динамикасын көрсету және ҚД2Т-і бар науқастардағы тамырлық асқынулардың патогенезінде маңызды рөл атқаратынын дәлелдейді. Алынған нәтижелер микроРНК мен тотығу стресі маркерлерін кешенді бағалаудың клиникалық маңыздылығын, сондай-ақ оларды ҚД2Т кезінде асқынулардың ерте диагностикасы мен мониторингі үшін потенциалды биомаркерлер ретінде қолдануға мүмкіндік беретінін көрсетеді.

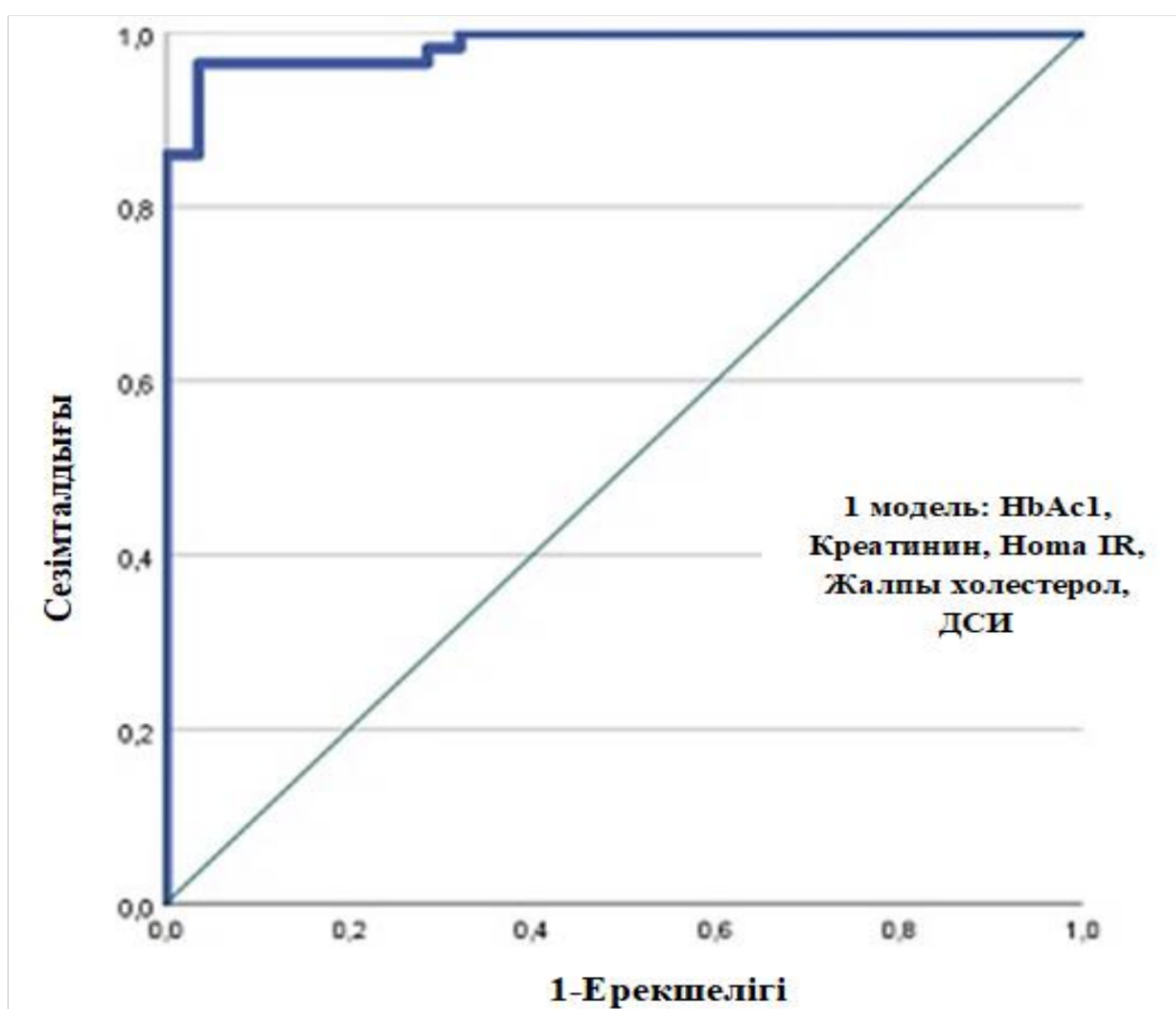
3.5 2-типті қант диабеті және макротамырлық асқынулармен байланысты биомаркерлердің диагностикалық дәлдігін бағалау

Біз қант диабеті дамуының маңыздылығын болжау мақсатында бинарлы логистикалық регрессиялық талдау жүргіздік. Бұл әдіс тәуелсіз айнымалылардың (биомаркерлер, клиникалық көрсеткіштер және т.б.) диабет дамуына ықпал ету ықтималдығына әсерін бағалауға мүмкіндік береді. Нәтижелер р-мәні (статистикалық маңыздылықты сипаттайды) және Exp(B) (оддс-коэффициент - тәуекел деңгейінің өзгеру шамасы) арқылы

интерпретацияланды, бұл әрбір фактордың диабет даму қаупіне қосатын үлесін сандық тұрғыдан анықтауға мүмкіндік берді.

Үш таңдалған модель - әртүрлі айнымалылар комбинациясын қамтитын - талданды және олардың болжау қуаты салыстырылды. Модельдердің диагностикалық тиімділігін бағалау үшін қабылдағыштың жұмыс сипаттамасының қисығы (ROC-қисығы) әзірленді (сурет 6). Бұл қисықтың астындағы аудан (AUC – area under the curve) әрбір модельдің нақты оң нәтижені дұрыс болжау қабілетін сипаттайды.

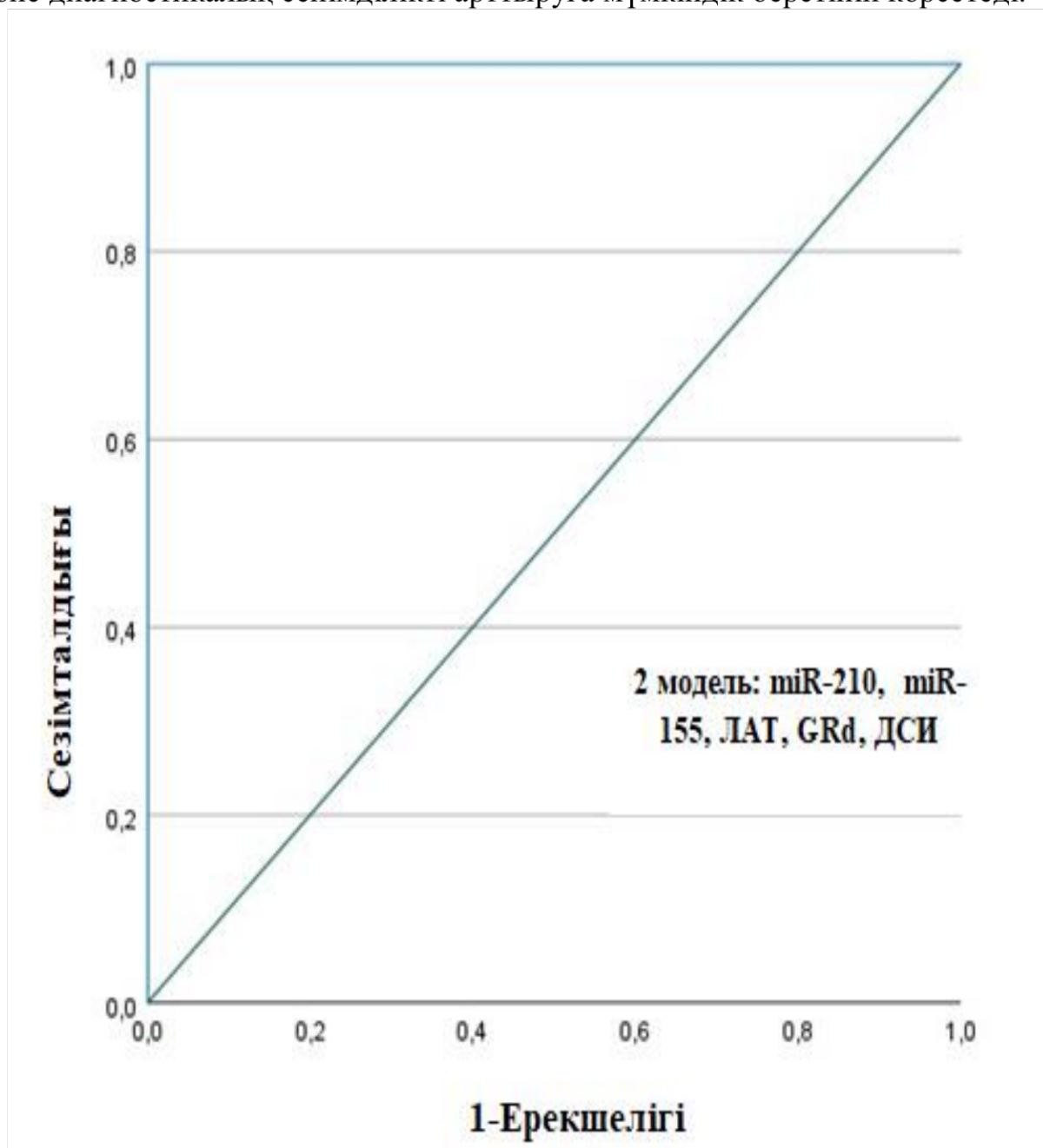
ROC-қисығы көмегімен модельдердің сезімталдығы (true positive rate) мен ерекшелігі (false positive rate) арасындағы тепе-теңдік визуалды түрде ұсынылды, бұл модельдердің салыстырмалы диагностикалық дәлдігін айқындауға мүмкіндік берді. AUC мәні 1-ге неғұрлым жақын болса, модельдің болжамдық сапасы соғұрлым жоғары болып саналады.



1 модель AUC (95%) = 0,986; креатинин, НОМА-IR, HbA1c, холестерин және ДСИ қосылған.
AUC - қисық астындағы аудан

Сурет 34 - ROC қисығы сезімталдықты талдау үшін құрастырылып, қант диабеті үшін плазма маркерлерінің диагностикалық тиімділігі

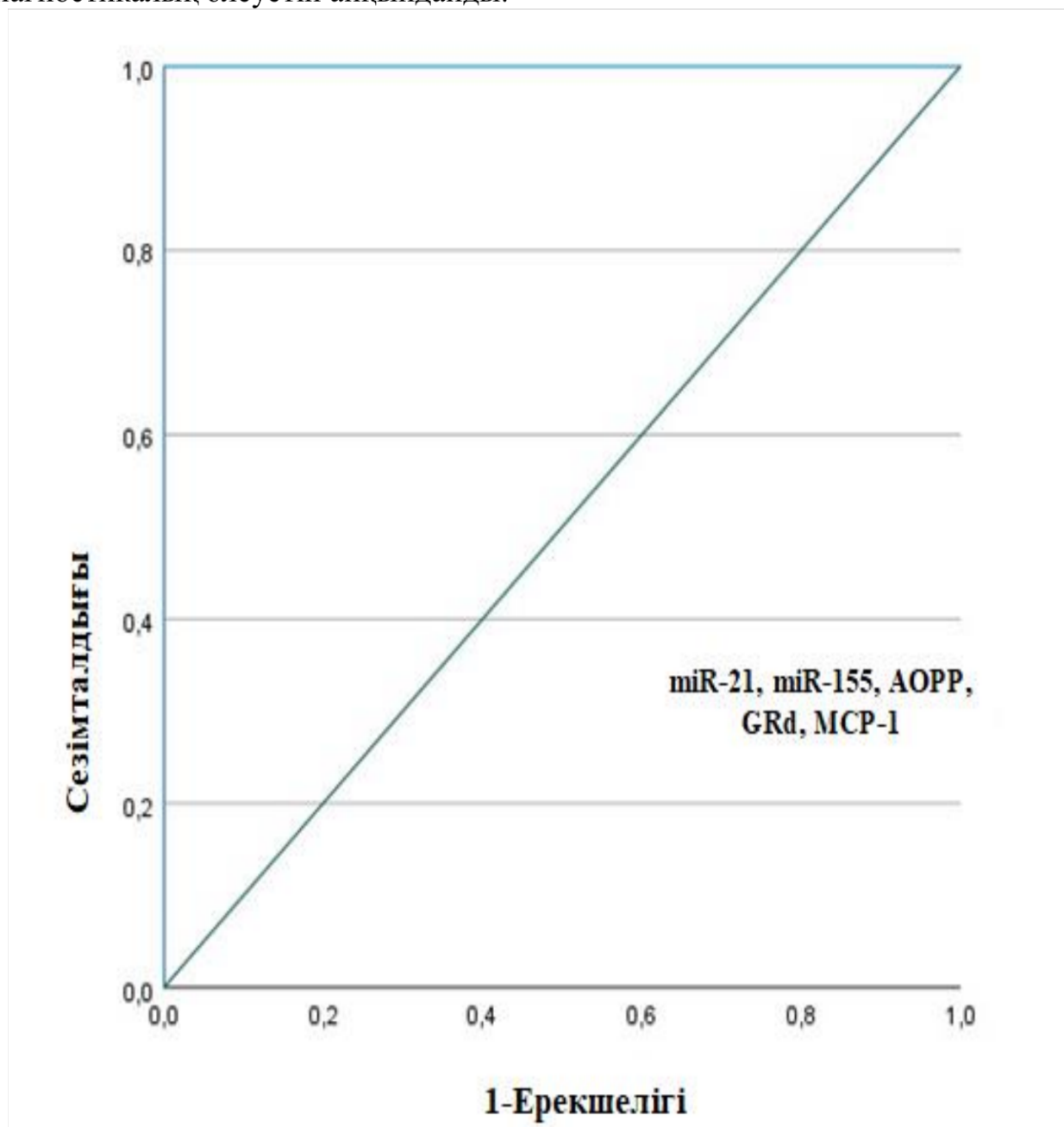
Қорытындылай келе, ROC қисығы ұсынылған модельдің қант диабетін диагностикалауда өте жоғары тиімділігін көрсетеді. AUC мәні 0,986 (95% сенімділік интервалы) плазмадағы креатинин, HOMA-IR, HbA1c, холестерин және ДСИ көрсеткіштерін біріктірген модельдің сезімталдық пен ерекшелік көрсеткіштері жоғары екенін дәлелдейді. Бұл деректер аталған биомаркерлердің кешенді талдауы арқылы ҚД2Т-ны ерте кезеңде анықтауға және диагностикалық сенімділікті арттыруға мүмкіндік беретінін көрсетеді.



2 модель AUC (95%) = 0,978; miR-210, miR-155, LPO, GRd, ДСИ қосылған. AUC - қисық астындағы аудан

Сурет 35 - ROC қисығы сезімталдықты талдау үшін құрастырылып, қант диабеті үшін плазма маркерлерінің диагностикалық тиімділігі

Сезімталдықты талдау үшін тұрғызылған қисық нәтижелері диагностикалық модельдің жоғары дәлдігін көрсетті. Модельге miR-210, miR-155, липидтердің асқын тотығу өнімдері, глутатионредуктаза және дене салмағының индексі енгізілді. Осы көрсеткіштердің біріктірілген талдауы нәтижесінде қисық астындағы аудан (AUC) 0,978 мәнді көрсетті, бұл модельдің сенімділігін және зерттелген көрсеткіштердің клиникалық тұрғыдан маңызды диагностикалық әлеуетін айқындайды.



3 модель AUC (95%) = 0,978; miR-21, miR-155, AOPP, GRd, MCP-1 қосылған. AUC - қисық астындағы аудан

Сурет 36 - ROC қисығы сезімталдықты талдау үшін құрастырылып, қант диабеті үшін плазма маркерлерінің диагностикалық тиімділігі

А моделі 2 типті қант диабеті диагнозын қою үшін дәстүрлі биохимиялық параметрлерді қамтиды: HbA1c, креатинин, жалпы холестерин, НОМА-IR және ДСИ. Бұл модель үшін келесі көрсеткіштер алынды: AUC (95%) = 0,986, Exp(B) = 2,036, Chi2 = 71,008, $p < 0,001$, Cox және Snell $R^2 = 0,566$ және Nagelkerke $R^2 = 0,788$.

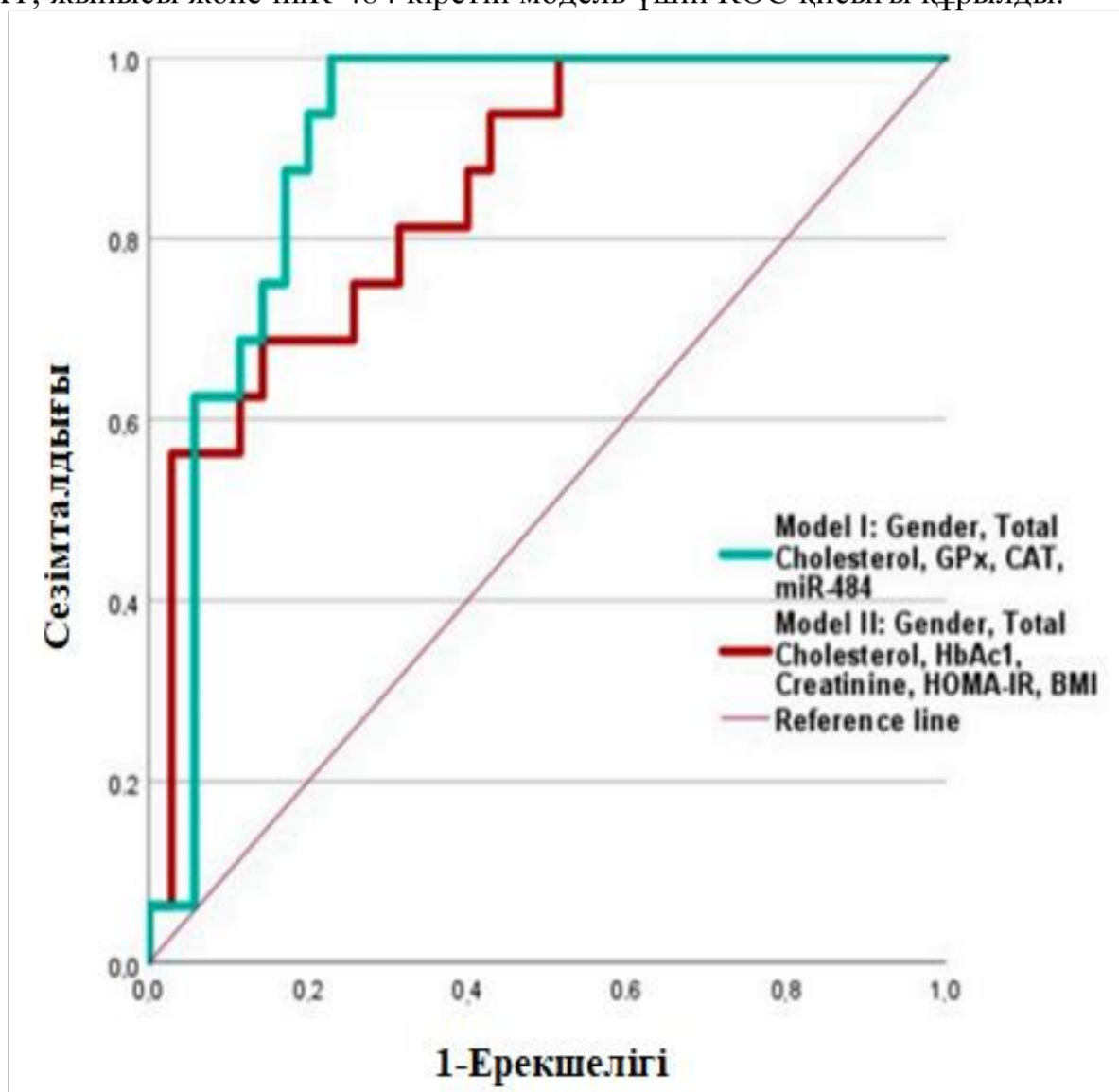
Біз В модельдерінің екі нұсқасын ұсындық, олар мыналарды қамтиды: В1 моделі: miR-21, miR-155, AOPP, GRd, MCP-1: AUC (95%) = 0,978, Exp(B) = 2,632, Chi2 = 57,645, $p < 0,001$, Cox және Snell $R^2 = 0,566$ және Nagelkerke $R^2 = 0,819$. В2 моделі: miR-210, miR-155, LPO, GRd, ДСИ: AUC (95%) = 1,000, Exp(B) = 2,037, Chi2 = 103,920, $p < 0,001$, Cox және Snell $R^2 = 0,718$ және Nagelkerke $R^2 = 1,000$. Сонымен қатар, miR-210 және miR-155 экспрессия деңгейлерінің LPO, GRd, ДСИ -мен үйлесуі диабеттің дамуындағы прогностикалық маңыздылығы дәстүрлі диагностикалық параметрлердің, оның ішінде HbA1c-ның, көрсеткіштеріне ұқсас немесе одан жоғары екенін анықтадық. Сондай-ақ, болашақ зерттеулерде miR-21, AOPP және MCP-1 ҚД2Т қауіпінің тәуелсіз көрсеткіштері ретінде қарастырылуы мүмкін.

Қант диабетімен ауыратын науқастарда тамырлық асқынуларға байланысты маркерлерді анықтау үшін біз әр маркер бойынша бинарлық логистикалық регрессиялық талдау жүргіздік. Яғни, р-мәні мәнді және AUC мәндері 0,650-ден жоғары маркерлерді таңдадық. Үш модель құрастырдық, олардың біреуі дәстүрлі параметрлерді қамтиды (1 модель): глюкоза, HbA1c, креатинин, НОМА-IR, жалпы холестерин, TG және жынысы. Басқа екі модель HbA1c, креатинин, жалпы холестерин және жаңа зерттелген маркерлерді қамтиды (2 және 3 модельдер). 9-кестеде осы үш модельдің статистикалық деректері келтірілген.

Кесте 9 - Қант диабеті бар науқастарда тамырлық асқынуларды алдын ала болжауға ұсынылған модельдер

Модель	AUC (95%)	Exp (B)	ϕ^2	P	R2 (Cox y Snell)	R2 (Nagelkerke)
1 модель (глюкоза, HbA1c, креатинин, НОМА-IR, жалпы холестерин, триглицеридтер, жынысы)	0.845	0.727	25,724	<0.001	0.363	0.488
2 модель (HbA1c, креатинин, жалпы холестерин, ЛПО, GPx, SOD, miR-126, miR-484)	0.913	0.926	34,093	<0.001	0.481	0.642
3 модель (HbA1c, креатинин, жалпы холестерин, IL-6, ЛПО, miR-126, miR-484)	0.938	0.958	33,863	<0.001	0.513	0.685

Макротамырлық асқынулармен байланысты маркерлерді анықтау үшін біз қант диабеті бар барлық науқастар арасында бинарлы логистикалық регрессиялық талдау жүргіздік (62 науқас: 34 науқас ҚД2Т АЖ және 28 науқас ҚД2Т+А, оларды зерттеу кезінде макротамырлық асқынулар болған науқастармен салыстырдық. Содан кейін ROC қисық талдауы жүргізілді. 6-кестеде AUC, ықтималдықтар қатынасы (OR) және p-мәндері көрсетілген. Статистикалық критерийлерге сәйкес келетін маркерлердің болжамдық мәндері белгіленген. Біз маңызды p-мәнге ие және AUC мәні 0,600-ден жоғары маркерлерді таңдадық. Алынған нәтижелер негізінде жалпы холестерин, GPx, CAT, жынысы және miR-484 кіретін модель үшін ROC қисығы құрылды.



Сурет 37 - Қант диабетімен ауыратын науқастарда макротамырлық асқынулардың даму қаупін болжауға арналған екі ұсынылған модель үшін ROC қисығын талдау

Біз анықталған маркерлер комбинациясы қант диабеті бар науқастарда макротамырлық асқынулардың даму қаупін болжауда айтарлықтай тиімді

екенін анықтадық. Бұл модельдің болжамдық құндылығы дәстүрлі параметрлерді қамтитын модельге қарағанда жоғары болды: HbA1c, креатинин, НОМА-IR, ДСИ, жынысы және жалпы холестерин. Бұл модельдің болжамдық құндылығын бағалау үшін ROC қисықтарын талдау нәтижесінде AUC 0,904 көрсетті, ал дәстүрлі параметрлерден тұратын модель үшін AUC 0,850 құрады.

1-модель зерттелген көрсеткіштердің комбинациясын қамтыды: жынысы, жалпы холестерин, GPx, CAT, miR-484 ($\text{Exp}(B) = 0,528$, $p = 0,024$, $\text{Chi}^2 = 28,214$, $\text{AUC} = 0,904$ (95%)).

2-модель дәстүрлі айнымалыларды қамтыды: жынысы, жалпы холестерин, HbA1c, креатинин, НОМА-IR, ДСИ ($\text{Exp}(B) = 0,462$, $p = 0,007$, $\text{Chi}^2 = 18,814$, $\text{AUC} = 0,850$ (95%)).

10-кестеде қант диабетімен ауыратын науқастарда макротамырлық асқынулардың даму ықтималдығын болжау үшін жүргізілген бинарлы логистикалық регрессия және ROC-қисықтарын талдау нәтижелері көрсетілген.

Кесте 10 - Қант диабетімен ауыратын науқастардағы макротамырлық асқынулардың даму ықтималдығын болжау мәндері, бинарлы логистикалық регрессиялық талдау және COR қисықтарын талдау арқылы есептелген

	AUC, (95%)	Exp (B) = OR	Chi 2	P
HbA1c	0,488	0,929 (0,530-1,631)	0,066	0,797
Жалпы холестерин	0,786	0,968 (0,949-0,987)	15,101	<0,001
Creatinine	0,461	0,658 (0,087-4,943)	0,174	0,677
НОМА-IR	0,593	1,021 (0,893-1,167)	0,092	0,762
LPO	0,491	0,999 (0,339-2,939)	0,000	0,998
AOPP	0,524	1,000 (0,981-1,020)	0,000	0,990
CAT	0,681	1,000 (1,000-1,000=)	4,554	0,033
GPx	0,711	1,051 (1,009-1,094)	6,371	0,012
GRd	0,623	1,375 (0,949-1,992)	2,971	0,085
GSSG/GSH	0,555	0,138 (0,000-46,142)	0,465	0,495
G6DH	0,608	1,192 (0,917-1,550)	1,787	0,181
SOD	0,603	1,001 (1,000-1,002)	1,560	0,212
NOX	0,556	0,970 (0,921-1,021)	1,688	0,194
IL-6	0,529	1,113 (0,860-1,441)	0,661	0,416
IL-8	0,633	0,750 (0,502-1,121)	2,713	0,100
IL-10	0,539	0,973 (0,808-1,171)	0,084	0,771
IL-18	0,558	1,006 (0,997-1,015)	1,995	0,158
MCP-1	0,485	1,000 (0,995-1,005)	0,002	0,968
TNF-a	0,595	0,979 (0,949-1,010)	2,397	0,122
miR-21	0,600	1,003 (0,999-1,007)	2,666	0,103
miR-126	0,577	0,994 (0,985-1,003)	1,807	0,179
miR-146	0,516	1,002 (0,998-1,006)	1,094	0,296
miR-155	0,508	1,000 (0,997-1,003)	0,001	0,980
miR-484	0,674	1,004 (1,001-1,008)	7,109	0,008
miR-27a	0,566	1,002 (0,997-1,008)	0,533	0,465
miR-210	0,597	1,003 (0,999-1,008)	2,053	0,152

Қорытындылай келе, жүргізілген бинарлы логистикалық регрессиялық талдау және ROC қисықтарын бағалау нәтижелері қант диабеті бар науқастарда макротамырлық асқынулардың даму қаупін болжауда ұсынылған маркерлер комбинациясының (жалпы холестерин, Gpx, CAT, жынысы және miR-484) жоғары болжамдық құндылыққа ие екенін көрсетті. Бұл модель дәстүрлі параметрлерді (HbA1c, креатинин, HOMA-IR, ДСИ, жынысы және жалпы холестерин) қамтитын модельге қарағанда тиімдірек болып, AUC мәнінің 0,904 деңгейінде болуын дәлелдеді. Алынған нәтижелер макротамырлық асқынулар қаупін ерте кезеңде бағалауға арналған диагностикалық және болжамдық стратегияларды жетілдіруге мүмкіндік береді.

4 АЛЫНҒАН НӘТИЖЕЛЕРДІ ТАЛДАУ

Осы зерттеуде біз 62 қант диабеті бар науқастың ішінде 22 науқаста макротамырлық асқынуларды анықтадық. Айналымдағы маркерлердің барлық жүрек-қан тамырлары асқынуларымен, оның ішінде макротамырлық асқынулармен байланысы талданды [187, р. 101].

Қан үлгілеріндегі редокс күйі, антиоксиданттық жүйе және тотығу зақымдануды кешенді талдау ҚД2Т АЖ және ҚД2Т+А топтарында ЛПО мен АОРР деңгейлерінің бақылау тобымен салыстырғанда айтарлықтай артқанын көрсетті, бұл аурудың себебінен тамырлардың күйінің нашарлауын көрсетеді, сонымен қатар жануарлар модельдеріндегі және қант диабеті бар науқастардағы зерттеулерге сәйкес келеді [188, р. 89]. Зерттеу барысында біз ҚД2Т АЖ тобында нитрит және нитрат (NO_x) деңгейлерінің жоғарылауын байқадық, бірақ ҚД2Т+А тобында өзгеріс болмады. NO_x молекулалары азот оксиді синтазасының (NOS) жанама өнімдері болып табылады, және біз бұл молекулалардың индуктивті NOS (iNOS) нәтижесі екенін растай алмаймыз. Дегенмен, iNOS изоэнзимдері қабыну жағдайларына әкелетінін және бұл қант диабеті кезінде күтілетін құбылыс екенін айтуға болады [189, р. 421].

Қант диабетімен ауыратын науқастарда антиоксиданттық қорғаныс SOD, CAT және GRd белсенділіктерімен өлшенді. SOD ферменті антиоксиданттық қорғаныстың алғашқы құраушысы болып табылады және оның белсенділігі екі топтағы науқастарда да төмендеген [190]. Бұл зерттеуде біз қатысушылардың тамақтану түрін талдаған жоқпыз, бірақ жаңа зерттеулер, майлы тағамдар мен SCFA-ға бай диеталармен байланысты өзгерген микробиота құрамы ішек қабатының өткізгіштігін бұзып, иммундық жауапты тудыруы мүмкін екендігін көрсетті. Cu/Zn тәуелді цитоплазматикалық SOD ферменті жоғары тотығу стресі жағдайында сезімтал болып табылады [191, 192]. Алдыңғы зерттеулерде SOD белсенділігінің жоғарылауы байқалғанымен, адам және жануарлар модельдеріндегі зерттеулердің көбінде SOD белсенділігінің төмендеуі туралы айтылады. Тағы бір зерттеулерде CAT белсенділігінің жоғарылауы байқалғанымен, біз үш топтың арасында айырмашылықтарды таба алмадық. Дегенмен, қант диабетімен ауыратын топта макротамырлық асқынулары бар науқастарда CAT мәндері басқа науқастарға қарағанда айтарлықтай жоғары болды: ҚД2Т АЖ vs. ҚД2Т+А: $34939,7 \pm 1399,6$, $n = 22$, vs. $31502,7 \pm 894,3$, $n = 40$, $p = 0,035$ (деректер нәтижелерде ұсынылмаған). Сондай-ақ, біз CAT пен жалпы холестерин арасындағы кері корреляцияны байқадық, ол диабетиктерде, жыныс пен ДСИ бойынша түзетілген ($r = -0,363$, $p = 0,004$), бұл оның төмен антиоксиданттық белсенділігінің әлсіз липидті профильмен байланысты екендігін көрсетеді [193].

Каталаза H_2O_2 -ны H_2O -ға айналдыруда катализатор ретінде қызмет атқарса да, басқа ферменттер, мысалы, GPx және GRd, редокс күйін сақтауда басты рөл атқарады. Алайда біздің популяциядағы асқынуларды болжау үшін бинарлық логистикалық регрессия анализі CAT және GPx ферменттерінің маңызы бар болжамдық мәні бар екенін және жоғары AUC көрсеткішін

көрсететіні дәлелденді [194]. GSH деңгейлерінің төмендегені байқалды, бұл GRd белсенділігінің төмендеуімен байланысты болды, ал ол өз кезегінде NADPH шектелуімен ішінара байланысқан болуы мүмкін. NADPH гипергликемия жағдайында глюкозадан сорбитол түзу үшін альдозоредуктазамен қолданылады [195]. Сонымен қатар, G6PD белсенділігінің төмендеуі NADPH деңгейлерінің азаюына алып келеді, бұл GRd белсенділігін шектейді [196]. Глутатионның антиоксиданттық метаболизмін ескере отырып, бұл нәтижелер ҚД2Т-і бар науқастарда бақылау тобымен салыстырғанда GSSG/GSH қатынасының жоғарылауын түсіндіре алады, ол жоғары тотығу стресінің белгісі болып табылады [197]. Диабеттік топта, жынысы мен ДСИ-ге түзету жасалғанда, біз GPx және холестерин арасында, GPx және HOMA-IR арасында теріс корреляцияны, сондай-ақ GRd және глюкоза арасында оң корреляцияны анықтадық. Сонымен қатар, GPx белсенділігі қант диабетімен ауыратын науқастар арасындағы макротамырлық асқынулардың қауіп факторы ретінде танылды.

Зерттеу барысында гипергликемияның G6PD белсенділігін және әртүрлі тіндердегі экспрессиясын аурудың бастапқы кезеңдерінде арттыратыны көрсетілген. Дегенмен, қант диабетінің прогрессиясы соңында G6PD белсенділігінің төмендеуіне әкелетінін біз осы зерттеуде анықтадық. Соңғы зерттеулерде G6PD жетіспеушілігі бар африкалық ұлт өкілдері диабет асқынулары, мысалы, ретинопатия және нейропатияның шалдығудың жоғары қаупін көрсеткен [198,199]. Біздің зерттеуімізде G6PD белсенділігінің төмендеуі мен гликемиялық күй арасында корреляция болмады, бірақ G6PD мен жалпы холестерин және төмен тығыздықты липопротеиндердің (ЛПНП) деңгейлері арасындағы теріс корреляциялар осы ферменттің метаболикалық өзгерістермен байланысын көрсетеді. Сонымен қатар, біз GPx және GRd-ті тамырлы асқынулардың дамуына қатысуы тұрғысынан қосымша талдауды талап ететін маркерлер ретінде қарастыруды ұсынамыз.

Күтілгендей, бұл зерттеуде қант диабетімен ауыратын науқастарда, тамырлық асқынулардың болуына немесе болмауына қарамастан, IL-6, IL-8, IL-18 және MCP-1 экспрессиясының айтарлықтай жоғарылағаны анықталды. Алайда IL-1, IL-10 және TNF- α деңгейлері бойынша елеулі айырмашылықтар байқалған жоқ. Қызықты жайт, зерттеу тобының мексикалық популяцияға жүргізген алдыңғы зерттеуінен айырмашылығы, IL-6 қант диабеті мен жүрек-қантамыр асқынуларының дамуында айтарлықтай болжамдық мәнге ие болмады. Бұл мексикалық зерттеуге қатысушылардың барлығының дене салмағының индексі жоғары болғанымен байланысты болуы мүмкін, ал осы зерттеуде ҚД2Т+А тобының дене салмағының индексі бақылау тобымен салыстырғанда айтарлықтай жоғары болды, бұл IL-6 деңгейінің артуы семіздікпен байланысты екенін көрсетуі мүмкін [200]. Қант диабетімен ауыратын науқастарда IL-8, IL-18 және молекулалық зақымдану маркерлері (АОРР және ЛПО) арасындағы байланыстар олардың тотығу зақымдануына қатысатынын көрсетеді (Кесте). Сонымен қатар, MCP-1 GRd-мен теріс және креатинин деңгейімен оң корреляция көрсетті, бұл көрсеткіштер жынысы мен

дене салмағының индексі ескере отырып бағаланды (Кесте). Айта кетерлік жайт, MCP-1 қант диабеті мен жүрек-қантамыр ауруларының дамуында жоғары болжамдық мәнге ие болып, логистикалық регрессиялық талдау нәтижелері және ROC қисығы арқылы расталды [201].

MCP-1 (моноцитарлық хемоаттрактантты белок-1), CCL2 ретінде де белгілі, иммундық жауапта маңызды рөл атқарып, моноциттерді, жады Т-жасушаларын және дендриттік жасушаларды қабыну ошақтарына бағыттайды [202]. MCP-1 қабынудың негізгі медиаторларының бірі болып табылады, ал оның биомаркер ретіндегі маңыздылығы ҚД2Т-нің және оның жүрек-қантамырлық асқынуларының өршуіне ықпал ететін қабыну жағдайын көрсету қабілетімен расталады. Сонымен қатар, MCP-1 деңгейі мен GRd белсенділігі арасында айтарлықтай теріс корреляция анықталды (MCP-1/GRd: $r = -0.339$, $p = 0.025$), бұл оның тотығу стресі дамуындағы рөлін көрсетеді [203]. ҚД2Т кезінде май тінінде және басқа мүшелерде MCP-1 экспрессиясының жоғарылауы макрофагтардың миграциясы мен белсендірілуін күшейтіп, қабыну процесін цитокиндер мен оттегінің белсенді түрлерін өндіру арқылы арттырады [204]. Сонымен қатар, MCP-1 қант диабетінің болжамдық моделіне (B1 моделі) енгізілгені анықталды. Осы маркерді әрі қарай зерттеуге назар аудару қажет деп есептейміз.

Біз miR-126-ны қант диабеті бар науқастардағы тамырлық асқынулардың даму қаупін болжауға арналған модельге қостық (2 және 3-модельдер). Соңғы жылдары жүргізілген зерттеулер ҚД2Т және жүрек-қантамырлық асқынулары бар науқастарда miR-21-5p деңгейінің едәуір жоғарылап, ал miR-126-3p деңгейінің төмендегенін көрсетті [205, 206]. Кейінгі зерттеулер бұл мәліметтерді растады [207]. Дегханидің деректеріне сәйкес, miR-126 деңгейі преддиабеті бар және ҚД2Т-мен ауыратын науқастарда бақылау тобымен салыстырғанда біртіндеп төмендеген [208]. Сонымен қатар, бұл зерттеу miR-126 экспрессиясы мен перифериялық қанның моноклеарлық жасушаларындағы NF- κ B арасындағы теріс корреляцияны анықтады, бұл оның қабынуға қарсы әсерін көрсетеді. miR-126 эндотелий жасушаларын тотығу зақымдануынан қорғайды, бұл SIRT1 және SOD2 экспрессиясын индукциялау арқылы жүзеге асады [209]. Сонымен қатар, ол эндотелий жасушаларының ангиогендік фактор болып табылатын қан тамырлық эндотелий өсу факторына (VEGF) деген жауабын реттеуге қатысады, бұл митогенез және өткізгіштік процестеріне ықпал етеді [210].

Бұл зерттеуде с-miR-126 экспрессиясы ҚД2Т+А тобында БТ және ҚД2Т АЖ топтарымен салыстырғанда төмендегені анықталды. Анықталған нәтиже бірнеше соңғы зерттеулердің деректерімен сәйкес келеді. Бұған дейінгі мексикалық популяцияға жүргізілген зерттеуде де оның экспрессиясының төмендеуі байқалған [211]. Сонымен қатар, miR-126, miR-21, сондай-ақ GPx және AOPP деңгейлері ҚД2Т-і бар науқастардағы тамырлық зақымданудың ықтимал биомаркерлері ретінде ұсынылған. Кейбір талдаулар гипергликемияның жүрек пен плазмадағы miR-126 концентрациясын

төмендететінін және бұл өзгеріс диабеттік микро- және макроангиопатияның дамуына ықпал ететінін көрсетеді [212].

miR-126 деңгейі жалпы зерттелушілер тобында және диабеті бар науқастарда ТГ-мен оң корреляция көрсетті (корреляция = 0,344, $p = 0,001$). Алайда, жыныс, жас және ДСИ түзетулері енгізілгеннен кейін бұл байланыс сақталмады, бірақ miR-126 пен ЛПО арасында жаңа оң корреляция анықталды. Бұл зерттеудің маңызды ерекшелігі – бақылау тобында холестерин мен ТТЛП деңгейлерінің екі диабет тобына қарағанда жоғары болуы. Мұндай липидтік профиль диабеті жоқ, іріктеу критерийлеріне сәйкес келетін адамдар үшін күтілетін деңгейден төмен [213]. Ал липидтік профилі жақсы науқастар, мүмкін, холестеринді төмендететін терапия алған болуы ықтимал. Дегенмен, диабеті бар науқастардың қан үлгілеріндегі жоғары ЛПО деңгейлері, сондай-ақ ЛПО мен холестерин, ЛПО мен ТГ арасындағы оң корреляциялар айқын тотығу зақымдануын көрсетеді [214].

Біз қант диабетімен ауыратын науқастардың плазмасындағы айналымдағы miR-155 деңгейі бақылау тобымен салыстырғанда жоғарылағанын анықтадық. Сол сияқты, ҚД2Т+А тобында да жоғарылау үрдісі байқалды, бірақ ол статистикалық тұрғыдан маңызды болмады. Жақында жүргізілген зерттеу c-miR-155-5p-тің 2-типті қант диабетінің ықтимал айналымдағы биомаркері бола алатынын және басқа қабыну маркерлерімен бірге семіздігі бар науқастарда диабеттің даму қаупін анықтауда маңызды екенін көрсетті.

Гемопозддік жасушаларда жоғары деңгейде экспрессияланатын miR-155 бірнеше функцияларды орындайды, соның ішінде туа біткен иммундық жауапқа қатыса отырып, қабынуға қарсы рөл атқарады [215]. Алайда, оның экспрессия деңгейі қабыну процесінің әртүрлі фазаларына байланысты өзгеруі мүмкін [216]. Бірқатар зерттеулерде айналымдағы miR-155-тің диабеттің дамуындағы рөлі сипатталған: ҚД2Т-мен ауыратын науқастарда оның сарысулық деңгейі сау бақылау тобына қарағанда айтарлықтай төмен екені анықталған [217, 218]. Сонымен қатар, басқа зерттеулерде, соның ішінде 1-типті диабетке қатысты зерттеулерде, miR-155 экспрессиясының жоғарылағаны көрсетілген [219]. Қазіргі уақытта miR-155 экспрессия деңгейі мен диабеттік асқынулар арасындағы байланыстың нақты механизмі туралы біркелкі пікір жоқ, бірақ бұл микроРНК май тінінің метаболизмін реттеуде маңызды рөл атқаруы мүмкін деп болжанады [220]. Біздің зерттеуімізде miR-155 экспрессиясы мен глюкоза деңгейі арасында барлық қатысушыларда, барлық диабетпен ауыратын науқастарда және жынысы, ДСИ мен жасы бойынша түзетілген диабеттік топта оң корреляция анықталды. Сонымен қатар, miR-155-ті диабет қаупін бағалау моделіне қосу оның маңыздылығын едәуір арттырды. Бұл нәтиже бұрын алынған мәліметтермен сәйкес келеді, олар гипергликемия жағдайында miR-155 экспрессиясының жоғарылайтынын, *in vitro* және *in vivo* жағдайларда дәлелдеген. Алайда, біздің зерттеуімізде miR-155 деңгейінің өзгеруі диабеттің макротамырлық асқынуларының даму қаупін болжау үшін айтарлықтай диагностикалық мәнге ие екені анықталмады.

Алдыңғы зерттеулерде ҚД2Т науқастарының перифериялық қанында miR-210 экспрессиясының жоғарылағаны анықталған, сондай-ақ ҚД2Т және семіздікке шалдыққан науқастардың сарысуынан бөлінген экзосомаларда оның деңгейінің артқаны көрсетілген [221, 222]. Біздің зерттеуімізде де диабетпен ауыратын екі топта miR-210 экспрессиясының деңгейі бақылау тобымен салыстырғанда айтарлықтай жоғары болды.

Сонымен қатар, біз miR-210 деңгейі мен HbA1c арасында оң корреляция, ал жалпы холестерин, ТТЛП және TNF- α арасында теріс корреляция анықтадық. Алайда, жас, жынысы және ДСИ бойынша түзетуден кейін miR-210 мен TNF- α арасындағы байланыс жоғалды. Бұл miR-210 реттелуінің глюкоза және липид алмасу процестерімен байланысын көрсетуі мүмкін.

Бұған дейінгі зерттеулерде диабетпен және атеросклерозбен ауыратын науқастардың тамырларының интима қабатында, сондай-ақ майларға бай рационды қабылдаған жануарлардың қолқасында miR-210 экспрессиясының едәуір артқаны анықталған [223]. MiR-210 әртүрлі физиологиялық функцияларды атқарады. Оның экспрессиясының айтарлықтай жоғарылауы NF- κ B-тәуелді қабыну цитокиндерінің өндірілуін күшейтіп, SOCS1 (цитокиндік сигнал жолының супрессоры 1) белсенділігін тежейтіні анықталған [224]. Бұл макрофагтардың M2 фенотипінен M1 күйіне ауысуына ықпал етіп, май тініндегі созылмалы қабыну мен инсулинге төзімділіктің дамуына әкеледі, нәтижесінде семіздікке байланысты ҚД2Т дамуы мүмкін. Біздің зерттеуімізде қант диабеті бар науқастарда липидтік профильдің жақсарғаны анықталды. Бұл miR-210 экспрессиясы мен липид деңгейлері (холестерин және ТГ) арасындағы күтілгеннен өзгеше байланысқа әсер етуі мүмкін. Сонымен қатар, жас, жынысы және ДСИ бойынша түзетуден кейін miR-210 мен TNF- α арасындағы теріс корреляция жоғалды. Айта кететін жайт, осы жағдайда miR-210 ЛПО және САТ деңгейлерімен оң корреляция көрсетті, бұл оның диабетпен байланысты зақымдану процестеріне ықтимал қатысуын көрсетеді. Бұл тұжырым miR-210 және miR-155, ЛПО, GRd және ДСИ қамтылған B2 моделі диабет қаупін болжауда ең жоғары предиктивтік маңыздылыққа ие болғанымен расталады (AUC = 1.000).

MiR-146a-3p алғашқылардың бірі болып қабынуға қарсы микроРНК ретінде сипатталған, себебі ол IRAK1 (IL-1 рецепторымен байланысты киназа 1) және TRAF6 (TNF-рецепторымен байланысты фактор 6) деңгейін төмендету арқылы NF- κ B белсендігін тежей алады [225]. MiR-146a экспрессиясының деңгейі әртүрлі биологиялық үлгілерде (плазма, перифериялық қанның моноклеарлық жасушалары, ұйқы безі) өзгеріп отырады және ем түрі, жас пен жынысы сияқты факторларға байланысты болуы мүмкін. Жақында жүргізілген зерттеулер көрсеткендей, miR-146a-5p төмен экспрессиясы HG-INS-1 жасушаларының (гипергликемиялық жағдайда ұйқы безі жасушалары) пролиферациясы мен инсулин секрециясын жоғарылатады [226]. Қабыну кезінде miR-146a экспрессиясының артуы, шамадан тыс қабыну цитокиндерінің бөлінуін шектеуге бағытталған теріс кері байланыс механизмі болуы мүмкін. Біздің зерттеуде miR-146a диабеті бар науқастарда глюкоза деңгейімен оң

корреляция көрсетті (корреляция = 0,424, $p = 0,002$), бірақ оның қабыну маркерлерімен байланысы анықталған жоқ.

ҚД2Т және нефропатиясы бар науқастардың қан сарысуында, сондай-ақ жануарлар үлгілерінде miR-27a экспрессиясының жоғарылағаны туралы алдыңғы зерттеулерде хабарланған [227]. MiR-27a адипогенез бен липогенездің реттеушісі ретінде танылып, макрофагтардың поляризациясына әсер етеді, атап айтқанда, қабыну процесін күшейтетін M1 фенотипін индукциялайды, қоңыр май тінінің түзілуіне, холестериннің гомеостазына және қабыну факторларының секрециясына қатысады [15,р. 19]. Біздің зерттеуімізде топтар арасында айтарлықтай айырмашылықтар анықталған жоқ. Алайда, қант диабетімен ауыратын науқастарда miR-27a мен ЛПО арасында оң корреляция байқалды, ал жас, жынысы және BMI бойынша түзетуден кейін miR-27a мен ЛПО/АОПП арақатынасы арасында оң байланыс анықталды. MiR-27a экспрессиясының жасушалық тотығу зақымдану маркерлерімен ықтимал байланысы Song J. және әріптестерінің зерттеулерімен сәйкес келеді [12,р. 7]. Олар miR-27a ҚД2Т дамуында Nrf2/Keap-1 сигналдық жолын реттеу арқылы тотығу стресін күшейтуі мүмкін екенін болжаған.

MiR-21 экспрессиясының диабетпен ауыратын науқастарда айтарлықтай жоғарылағанын көрсететін бірнеше зерттеулер бар, бірақ оның диабеттік асқынулармен байланысы толық анықталмаған. Сонымен қатар, miR-21 экспрессиясының динамикасы биологиялық үлгі түріне және диабеттік асқыну түріне байланысты өзгеріп, оның шыққан тінімен өзара қатынаста болады. Akpinar және авторластар өз зерттеуінде диабеті бар және альбуминуриясы жоғары науқастарда miR-21-3p экспрессиясының төмендегенін анықтап, оның диабеттік нефропатияның дамуына ықпал етуі мүмкін екенін болжады [11,р. 3]. Бұдан бөлек, TNP-IL4-индукцияланған макрофагтардан бөлінген экзосомалардың (TNP1-IL4-exo) бастапқы макрофагтарды қабынуға қарсы фенотипке бағыттауы және олардың липид алмасуын реттейтіні көрсетілді [10,р. 6]. Бұл әсерлер TNP1-IL4-exo жасушалық микроРНК деңгейлерін, соның ішінде miR-21-5p және miR-146a-5p деңгейін жоғарылату қабілетімен байланысты болды. MiR-21-5p PTEN-AKT сигналдық жолын реттеу арқылы адипоциттердің глюкозаны сіңіру қабілетін жақсартып, инсулинге төзімділіктен қорғай алады. Алайда, айналымдағы miR-21 экспрессиясының жоғарылағаны метаболикалық синдромы және предиабеті бар науқастарда анықталған. Сонымен қатар, диабеттік жүрек-қан тамырлары асқынулары бар науқастарда, диабеттік ретинопатияда, кардиомиопатияда, күрделі жүрек-қан тамырлары асқынуларын өткерген науқастарда, сондай-ақ нефропатияда miR-21 деңгейінің жоғарылағаны туралы мәліметтер келтірілген. Біздің нәтижелеріміз көрсеткендей, miR-21 деңгейлерінің жоғарылауы ЛПО деңгейінің жоғарылауымен және диабет науқастарындағы SOD антиоксиданттық белсенділігінің төмендеуімен байланысты болды, соның ішінде жас, жынысы және ДСИ бойынша түзетулер енгізілген. miR-21 экспрессиясы мен гликемиялық параметрлердің (глюкоза және HbA1c деңгейлері) арасындағы оң корреляция оның диабеттің дамуындағы рөлін көрсетеді. Біздің деректеріміз

miR-21-дің диабеттің алдын алудағы болжамды моделіне енгізілгенін және Ла Сала зерттеуімен сәйкестігін және miR-21-дің ҚД2Т жоғары тәуекелі бар науқастарда тотығу стресінен туындаған зақымдардың болжаушысы ретінде қатысуын растайды [2,р. 32].

Ақырында, miR-484 деңгейінің салыстырмалы экспрессиясы ҚД2Т және асқынулары бар науқастарда дені сау қатысушылармен салыстырғанда айтарлықтай жоғары болды. MiR-484 көздеушісі болып табылатын эндотелиальді синтаза оксидінің (eNOS) 3'UTR мРНҚ-ның Seed тізбегі бар және miR-484 эндотелиальді дисфункцияда маңызды рөл атқарып, сонымен қатар жүрек-қан тамырлары ауруларына қатысуы мүмкін деген болжам жасалуы мүмкін. Ескере кететіні, miR-484 адамның ишемиялық жүрек үлгілерінде және коронарлы атеросклеротикалық жүрек ауруы бар науқастардың эндотелиальді беткі жасушаларында және плазмасында жоғары экспрессия деңгейлерін көрсетті. Dachshund отбасының транскрипциялық факторы 1 (DACH1) miR-484-тің бір мишені болып табылады [23,р. 3]. Тышқандардың жүрек эндотелиальді жасушаларындағы DACH1 экспрессиясының төмендеуі эндотелиальді жасушалардың дамуы мен миграциясын нашарлатып, олардың қызметін өзгертуге әкеледі. Сонымен қатар, миокардтың ишемия-реперфузия жағдайында егеуқұйрықтарда miR-484 Fis1 ақуыз деңгейін төмендетеді, бұл митохондриялардың бөлінуін тежейтін ақуыз. Бұдан басқа, miR-484 диабетпен байланысты, себебі ол инсулин экспрессиясын реттейтін молекула болуы мүмкін - глюкоза деңгейінің жоғарылауына жауап ретінде β -клеткаларында оның деңгейін төмендетеді. miR-484 экспрессиясының ұлғаюы біздің зерттелген популяциямызда макротамырлық асқынулардың пайда болуымен байланысты болды. Сонымен қатар, miR-484 екі жүрек-қан тамырлы асқынулардың даму болжамдық модельдеріне енгізілген, бұл оның статистикалық маңыздылығын айтарлықтай арттырады. Бұдан басқа, біздің популяцияда зерттелген микроРНҚ-лар арасында ол макротамырлық асқынулардың дамуы үшін ең маңызды болжамдық құндылыққа ие. Осы себептен, ҚД2Т мен оның асқынуларында miR-484 эндотелиалды зақымдануды реттейтін арнайы механизмдерді тереңірек зерттеу қажет.

Бұл зерттеуде әр топтағы үлгілердің саны шектеулі болды. Алайда бұл зерттеу үлкен қатысушылар саны бар болашақ зерттеулер үшін маңызды ақпаратты ұсынады. Сонымен қатар, ҚД2Т асқынуларымен байланысты айналымдағы микроРНҚ-ның молекулалық белгілерін анықтау және растау үшін ұзақ мерзімді зерттеулер жүргізу қажет. Бұдан басқа, ҚД2Т және тамырлы асқынулары бар науқастар тобында басқа топпен салыстырғанда ерлер мен әйелдер санында айырмашылықтар болды, себебі науқастар кездейсоқ іріктелді, бірақ зерттелген көрсеткіштер бойынша жынысқа байланысты айтарлықтай айырмашылықтар анықталған жоқ. Алдағы уақытта ауруханаларда ҚД2Т-не арналған клиникалық бөлімшелер негізгі зерттеу салаларымен байланысты болуы керек, бұл үлгілерді жіберуге мүмкіндік береді және молекулярлық биомаркерлерді зерттеу мен олардың науқастардың клиникалық жағдайына қолданылуын сенімдірек етеді. Мақсат - медицинаны барынша жеке тұлғаға

бейімделген ету. Бұл маркерлер жаңа емдеу әдістерін іздеуде маңызды ақпаратты ұсынатын болады.

Зерттеу нәтижелері 2 типті қант диабетімен (ҚД2) ауыратын науқастарда макротамырлық асқынулардың дамуына қатысатын бірқатар молекулалық және биохимиялық маркерлердің болуын көрсетті. Оксидативті күй мен қабыну процестері бұл патологияның негізгі компоненттері болып табылады. Диабетпен және тамырлық асқынулармен ауыратын науқастарда липидтердің асқын тотығу өнімдері (LPO) және тотығу салдарынан зақымданған ақуыз өнімдері (AOPP) деңгейінің жоғарылауы анықталды. Бұл деректер тамыр қабырғасының зақымдалу деңгейінің жоғары екендігін көрсетеді және олар жануарларға жүргізілген бұрынғы зерттеулермен сәйкес келеді.

Супероксиддисмутаза (SOD) белсенділігінің төмендеуі, әсіресе ҚД2 бар барлық топтарда байқалуы, антиоксиданттық қорғаныстың әлсіреуін көрсетеді. Сонымен қатар, глутатионредуктаза (GRd) белсенділігінің азаюы және глутатионпероксидаза (GPx) белсенділігінің артуы тотығу-қалпына келу тепе-теңдігінің бұзылғанын білдіреді. GRd және GPx ферменттері макротамырлық асқынулардың даму қаупін болжауда маңызды маркерлер ретінде қарастырылды. Бұл нәтижелер NADPH деңгейінің төмендеуімен байланысты болуы мүмкін, себебі ол глутатион антиоксиданттық жүйесінің жұмысын тежейді. Сонымен қатар, глюкоза-6-фосфатдегидрогеназа (G6PD) белсенділігінің төмендеуі де NADPH тапшылығына ықпал етеді.

Қан сарысуындағы микроРНК-лардың (miRNA) салыстырмалы экспрессиясы маңызды диагностикалық және болжамдық маңызға ие екені анықталды. Атап айтқанда, miR-21, miR-155, miR-146a және miR-210 деңгейі ҚД2 тобы мен бақылау тобы арасында едәуір жоғары болды. Макроангиопатиясы бар науқастарда miR-126 экспрессиясының едәуір төмендеуі және miR-484, miR-210 сияқты miRNA деңгейінің жоғарылауы байқалды. ROC-талдау нәтижелері бойынша miR-484, GPx, CAT және жалпы холестеринді қамтитын модель макротамырлық асқынулардың даму қаупін дәл болжай алатыны көрсетілді (AUC = 0.904).

Жүргізілген корреляциялық талдау глюкоза мен HbA1c деңгейлерінің miR-21, miR-146a және miR-155 экспрессиясымен оң байланысты екенін көрсетті. Ал TNF- α мен miR-210 арасындағы теріс байланыс қабыну реакциясының тежелуін көрсетеді. Сонымен қатар, miR-126 және триглицеридтер арасында оң корреляция анықталды. Бұл нәтижелер микроРНК экспрессиясының тек гликемиялық бақылаумен ғана емес, сонымен қатар липидтік профильмен және тотығу стресімен тығыз байланысты екенін дәлелдейді.

Жалпы, бұл зерттеу ҚД2 кезінде макротамырлық асқынулардың дамуын болжауға арналған ықтимал биомаркерлердің жаңа тобын – микроРНК-ларды, тотығу және қабыну маркерлерін – ұсынуға мүмкіндік береді. Алынған нәтижелер болашақта ерте диагностика мен мақсатты терапияны дамытуға негіз бола алады.

ҚОРЫТЫНДЫ

1. 2-типті қант диабеті бар науқастарда плазмалық микроРНК экспрессиясында нақты өзгерістер байқалды. miR-21, miR-146a, miR-155, miR-126, miR-210 және miR-484 деңгейі, әсіресе макротамырлық асқынулары бар науқастарда, бақылау тобына қарағанда экспрессиясы бірнеше есе артты. Бұл микроРНК-лар қабыну сигналдық жолдарын, эндотелий қызметін және тотығу стресін реттеуге қатысады, сондықтан олардың жоғарылауы қантамырлық зақымданулар мен асқынулардың дамуын көрсететін молекулалық механизм болып табылады. Ал кейбір микроРНК-ларда айырмашылық байқалмауы олардың макротамырлық асқынулардағы рөлі салыстырмалы түрде шектеулі екенін көрсетеді. Осылайша, зерттеу микроРНК-ларды диабеттік тамырлық асқынулардың потенциалды биомаркері ретінде қарастыруға негіз бола алады.

2. ҚД2Т+А тобында тотығу стресі күшейгені байқалды: AOPP, LPO және NOx деңгейлері жоғары болып, бұл ақуыздар мен липидтердің тотығу зақымдануының артуын көрсетеді. Антиоксиданттық ферменттердің белсенділігі (SOD, CAT, GPx, GRd, G6PD) төмендеген, бұл өз кезегінде жасушалық қорғаныс механизмдерінің әлсіреуін және тотығу зақымдануының арту қаупін білдіреді. SOD және CAT белсенділігі супероксид радикалдары мен сутегі пероксидін бейтараптандыру қабілеті арқылы, GPx және GRd глутатион циклі арқылы, ал G6PD NADPH түзілуін бағалау арқылы өлшенеді. GPx деңгейінің кейбір жағдайларда жоғарылауы ферменттің адаптациялық реакциясын және жасушалардың тотығу стресіне қарсы белсенділігін көрсетеді.

3. Қант диабетінде созылмалы төмен дәрежелі қабыну жағдайы байқалды. ҚД2Т+А тобында IL-6, TNF- α , IL-8, MCP-1 және IL-18 деңгейі бақылау тобына қарағанда жоғарылаған, бұл созылмалы жүйелік қабынудың күшейгенін дәлелдейді. Сонымен қатар, антиқабыну цитокині IL-10 деңгейі үш топта да айтарлықтай өзгермеген, бұл қабынуға қарсы компенсаторлық жауаптың жеткіліксіз екенін көрсетеді. Бұл жағдай инсулинге төзімділік пен эндотелий дисфункциясының одан әрі өршуіне әсер етуі мүмкін.

4. МикроРНК деңгейі мен тотығу стресі, сондай-ақ биохимиялық көрсеткіштер арасында айқын статистикалық байланыстар анықталды. Корреляциялық талдау нәтижесінде miR-21 SOD-пен теріс байланыста, ал miR-126 және miR-27a LPO, AOPP сияқты тотығу өнімдерімен оң байланысты екені анықталды. Сонымен қатар, miR-146a және miR-155 глюкоза деңгейімен, miR-126 - триглицеридтермен, ал miR-210 - TNF- α деңгейімен байланыс көрсетті. Бұл микроРНК-лар организмдегі тотығу және қабыну процестеріне транскрипциялық емес деңгейде жауап беретінін, сондай-ақ потенциалды функционалдық маркер бола алатынын дәлелдейді.

5. ROC-талдау негізінде әзірленген диагностикалық модельдер макротамырлық асқынуларды жоғары дәлдікпен болжауға мүмкіндік берді. Зерттеу барысында құрылған үш ROC-модельдің нәтижесінде: классикалық клиникалық көрсеткіштерден тұратын модель (HbA1c, креатинин, ДСИ) AUC =

0.986 көрсетті; микроРНК, қабыну және тотығу маркерлерін қамтыған модель $AUC = 0.978$; ал кеңейтілген модель $AUC = 1.000$ нәтижесін көрсетті.

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.

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

Диссертацияда келтірілген мағлұматтар әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-да Зат алмасу және энергияның реттелуі» және «Қолданбалы эндокринология» 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 Silveira Rossi J.L., Barbalho S.M., Reverete de Araujo R., Bechara M.D., Sloan K.P., Sloan L.A. Metabolic syndrome and cardiovascular diseases: Going beyond traditional risk factors // *Diabetes. Metab. Res. Rev.* – 2022. – Vol. 38. – P. 15-20.
- 2 Mazereel V., Detraux J., Vancampfort D., Van Winkel R., De Hert M. Impact of Psychotropic Medication Effects on Obesity and the Metabolic Syndrome in People With Serious Mental Illness // *Front. Endocrinol.* – Lausanne, 2020. - Vol. 11. – P. 1–10.
- 3 Sergi D., Boulestin H., Campbell F.M., Williams L.M. The Role of Dietary Advanced Glycation End Products in Metabolic Dysfunction // *Mol. Nutr. Food Res.* – 2021. - Vol. 65. – P. 1–11.
- 4 Fishman S.L., Sonmez H., Basman C., Singh V., Poretsky L. The role of advanced glycation end-products in the development of coronary artery disease in patients with and without diabetes mellitus: A review // *Mol. Med.* – 2018. - Vol. 24. – P. 1–12.
- 5 Дүйсенбек А.А., Аблайханова Н.Т., Қалдықараева А.Т. 2 типті қант диабеті бар науқастарда эндотелиальды дисфункциямен байланысты тамырлы асқынулар // *Fundamental and Experimental Biology.* – 2022. - №107(3). – Б. 176-184.
- 6 Berger S.L., Kouzarides T., Shiekhata R., Shilatifard A. An operational definition of epigenetics // *Genes Dev.* – 2009. - Vol. 23. – P. 781–783.
- 7 Natarajan R. Epigenetic mechanisms in diabetic vascular complications and metabolic memory: The 2020 edwin bierman award lecture // *Diabetes.* – 2021. - Vol. 70. – P. 328–337.
- 8 Dyr M. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus // *N. Engl. J. Med.* – 1993. - Vol. 329. – P. 977–986.
- 9 Shalini Jamwal, Sharma Saurabh. Vascular endothelium dysfunction: a conservative target in metabolic disorders // *Inflammation Research.* – 2018. - Vol. 67, №5. – P. 391-405.
- 10 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. – P. 1–17.
- 11 Pirola L. The DCCT/EDIC study: Epigenetic clues after three decades // *Diabetes.* - 2014. - Vol. 63. – P. 1460–1462.
- 12 Al-Dabet M.M., Shahzad K., Elwakiel A., Sulaj A., Kopf S., Bock F., Gadi I., Zimmermann S., Rana R., Krishnan S. et al. Reversal of the renal hyperglycemic memory in diabetic kidney disease by targeting sustained tubular p21 expression // *Nat. Commun.* – 2022. - Vol. 13. – P. 1–17.
- 13 Terzi M.Y., Izmirli M., Gogebakan B. The cell fate: senescence or quiescence // *Mol. Biol. Rep.* – 2016. - Vol. 43. – P. 1213–1220.

- 14 Kato M., Natarajan R. Epigenetics and epigenomics in diabetic kidney disease and metabolic memory // *Nat. Rev. Nephrol.* – 2019. - Vol. 15. – P. 327.
- 15 Bianchi M., Renzini A., Adamo S., Moresi V. Coordinated actions of microRNAs with other epigenetic factors regulate skeletal muscle development and adaptation // *Int. J. Mol. Sci.* - 2017. - №1. – P. 19-27.
- 16 Liu D.D., Zhang C.Y., Zhang J.T., Gu L.M., Xu G.T., Zhang J.F. Epigenetic modifications and metabolic memory in diabetic retinopathy: beyond the surface // *Neural Regen. Res.* – 2023. - Vol. 18. – P. 1441–1449.
- 17 Itoh H., Ueda M., Suzuki M., Kohmura-Kobayashi Y. Developmental Origins of Metaflammation; A Bridge to the Future Between the DOHaD Theory and Evolutionary Biology // *Front. Endocrinol.* – Lausanne, 2022. - Vol. 13. – P. 1–7.
- 18 Appari M., Channon K.M., McNeill E. Metabolic Regulation of Adipose Tissue Macrophage Function in Obesity and Diabetes // *Antioxidants Redox Signal.* – 2018. - Vol. 29. – P. 297–312.
- 19 Fan R., Toubal A., Goñi S., Drareni K., Huang Z., Alzaid F., Ballaire R., Ancel P., Liang N., Damdimopoulos A. et al. Loss of the co-repressor GPS2 sensitizes macrophage activation upon metabolic stress induced by obesity and type 2 diabetes // *Nat. Med.* – 2016. - Vol. 22. – P. 780–791.
- 20 Ying W., Riopel M., Bandyopadhyay G., Dong Y., Birmingham A., Seo J.B., Ofrecio J.M., Wollam J., Hernandez-Carretero A., Fu W. et al. Adipose Tissue Macrophage-Derived Exosomal miRNAs Can Modulate in Vivo and in Vitro Insulin Sensitivity // *Cell.* - 2017. - Vol. 171. – P. 372-384.
- 21 Xu L., Nagata N., Chen G., Nagashimada M., Zhuge F., Ni Y., Sakai Y., Kaneko S., Ota T. Empagliflozin reverses obesity and insulin resistance through fat browning and alternative macrophage activation in mice fed a high-fat diet // *BMJ Open Diabetes Res. Care.* - 2019. - Vol. 7. – P. 1–11.
- 22 Hotamisligil G.S. Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders // *Nature.* – 2017. - Vol. 542. – P. 177–185.
- 23 Alicka M., Marycz K. The effect of chronic inflammation and oxidative and endoplasmic reticulum stress in the course of metabolic syndrome and its therapy // *Stem Cells Int.* – 2018. - №1. – P. 238.
- 24 Kumar P., Liu C., Suliburk J., Hsu J.W., Muthupillai R., Jahoor F., Minard C.G., Taffet G.E., Sekhar R.V. Supplementing Glycine and N-Acetylcysteine (GlyNAC) in Older Adults Improves Glutathione Deficiency, Oxidative Stress, Mitochondrial Dysfunction, Inflammation, Physical Function, and Aging Hallmarks: A Randomized Clinical Trial // *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* – 2023. - Vol. 78. – P. 75–89.
- 25 Adeva-Andany M.M., Martínez-Rodríguez J., González-Lucán M., Fernández-Fernández C., Castro-Quintela E. Insulin resistance is a cardiovascular risk factor in humans // *Diabetes Metab. Syndr.* – 2019. - Vol. 13. – P. 1449–1455,
- 26 Cojocaru K.A., Luchian I., Goriuc A., Antoci L.M., Ciobanu C.G., Popescu R., Vlad C.E., Blaj M., Foia L.G. Mitochondrial Dysfunction, Oxidative Stress, and Therapeutic Strategies in Diabetes, Obesity, and Cardiovascular Disease // *Antioxidants.* – Basel; Switzerland, 2023. - Vol. 12. – P. 658.

- 27 Luo C. et al. Nut consumption and risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis // *The American journal of clinical nutrition*. – 2014. – Vol. 100, №1. – P. 256-269.
- 28 Deshwal S., Forkink M., Hu C.H., Buonincontri G., Antonucci S., Di Sante M., Murphy M.P., Paolocci N., Mochly-Rosen D., Krieg T. et al. Monoamine oxidase-dependent endoplasmic reticulum-mitochondria dysfunction and mast cell degranulation lead to adverse cardiac remodeling in diabetes // *Cell Death Differ.* – 2018. – Vol. 25. – P. 1671–1685.
- 29 Ferreira I., Machado De Oliveira R., Carvalho A.S., Teshima A., Beck H.C., Matthiesen R., Costa-Silva B., Macedo M.P. Messages from the Small Intestine Carried by Extracellular Vesicles in Prediabetes: A Proteomic Portrait // *J. Proteome Res.* – 2022. – Vol. 21. – P. 910–920.
- 30 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. 394. – P. 173.
- 31 López-Armas G.C., Yessenbekova A., González-Castañeda R.E., Arellano-Arteaga K.J., Guerra-Librero A., Abilaikhanova N., Florido J., Escames G., Acuña-Castroviejo D., Rusanova I. (2022 Role of c-miR-21, c-miR-126, Redox Status, and Inflammatory Conditions as Potential Predictors of Vascular Damage in T2DM Patients // *Antioxidants*. – 2022. – Vol. 11. – P. 29-36.
- 32 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. – Vol. 2. – P. 36-46.
- 33 Uruno A., Yagishita Y., Yamamoto M. The Keap1-Nrf2 system and diabetes mellitus // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2015. – Vol. 1. – P. 49-59.
- 34 He F., Ru X., Wen T. NRF2, a Transcription Factor for Stress Response and Beyond // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21. – P. 1–23.
- 35 Ma Q. Role of nrf2 in oxidative stress and toxicity // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2013. – Vol. 53. – P. 401–426.
- 36 Shin D., Kim E.H., Lee J., Roh J.L. Nrf2 inhibition reverses resistance to GPX4 inhibitor-induced ferroptosis in head and neck cancer // *Free Radic. Biol. Med.* – 2018. – Vol. 129. – P. 454–462.
- 37 Ulasov A.V., Rosenkranz A.A., Georgiev G.P., Sobolev A.S. Nrf2/Keap1/ARE signaling: Towards specific regulation // *Life Sci.* – 2022. – Vol. 291. – P. 111.
- 38 Sergi D., Naumovski N., Heilbronn L.K., Abeywardena M., O’Callaghan N., Lionetti L., Luscombe-Marsh N. Mitochondrial (dys)function and insulin resistance: From pathophysiological molecular mechanisms to the impact of diet // *Front. Physiol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 532.
- 39 Bhatti J.S., Bhatti G.K., Reddy P.H. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders - A step towards mitochondria based

therapeutic strategies // *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.* – 2017. - Vol. 1863. – P. 1066–1077.

40 Jornayvaz F.R., Shulman G.I. Regulation of mitochondrial biogenesis // *Essays Biochem.* - 2010. - Vol. 47. – P. 69–84.

41 Yang X., Liu Q., Li Y., Tang Q., Wu T., Chen L., Pu S., Zhao Y., Zhang G., Huang C. et al. The diabetes medication canagliflozin promotes mitochondrial remodelling of adipocyte via the AMPK-Sirt1-Pgc-1 α signalling pathway // *Adipocyte.* – 2020. - Vol. 9. – P. 484–494.

42 Shenouda S.M., Widlansky M.E., Chen K., Xu G., Holbrook M., Tabit C.E., Hamburg N.M., Frame A.A., Caiano T.L., Kluge M.A. et al. Altered mitochondrial dynamics contributes to endothelial dysfunction in diabetes mellitus // *Circulation.* – 2011. - Vol. 124. – P. 444–453.

43 Xiang L., Shao Y., Chen Y. Mitochondrial dysfunction and mitochondrion-targeted therapeutics in liver diseases // *J. Drug Target.* – 2021. - Vol. 29. – P. 1080–1093.

44 Amorim J.A., Coppotelli G., Rolo A.P., Palmeira C.M. Ross J.M., Sinclair D.A. Mitochondrial and metabolic dysfunction in ageing and age-related diseases // *Nat. Rev. Endocrinol.* – 2022. - Vol. 18. – P. 243–258.

45 Akhtar S., Siragy H.M. Pro-renin receptor suppresses mitochondrial biogenesis and function via AMPK/SIRT-1/PGC-1 α pathway in diabetic kidney // *PLoS One.* – 2019. - Vol. 14. – P. 20.

46 Nedosugova L.V., Markina Y.V., Bochkareva L.A., Kuzina I.A., Petunina N.A., Yudina I.Y., Kirichenko T.V. Inflammatory Mechanisms of Diabetes and Its Vascular Complications // *Biomedicines.* – 2022. - Vol. 10. – P. 28-39.

47 Katakami N. Mechanism of development of atherosclerosis and cardiovascular disease in diabetes mellitus // *J. Atheroscler. Thromb.* – 2018. - Vol. 25. – P. 27–39.

48 Abuarab N., Munsey T.S., Jiang L.H., Li J., Sivaprasadarao A. High glucose-induced ROS activates TRPM2 to trigger lysosomal membrane permeabilization and Zn²⁺-mediated mitochondrial fission // *Sci. Signal.* – 2017. - Vol. 10. – P. 161.

49 Rovira-Llopis S., Bañuls C., Diaz-Morales N., Hernandez-Mijares A., Rocha M., Victor V.M. Mitochondrial dynamics in type 2 diabetes: Pathophysiological implications // *Redox Biol.* – 2017. - Vol. 11. – P. 637–645.

50 Naik E., Dixit V.M. Mitochondrial reactive oxygen species drive proinflammatory cytokine production // *J. Exp. Med.* – 2011. - Vol. 208. – P. 417–420.

51 Abderrazak A., Syrovets T., Couchie D., Hadri K., Friguet B., Simmet T., Rouis M. NLRP3 inflammasome: from a danger signal sensor to a regulatory node of oxidative stress and inflammatory diseases // *Redox Biol.* – 2015. - Vol. 4. – P. 296–307.

52 Chen W., Zhao M., Zhao S., Lu Q., Ni L., Zou C., Lu L., Xu X., Guan H., Zheng Z. et al. Activation of the TXNIP/NLRP3 inflammasome pathway contributes

to inflammation in diabetic retinopathy: a novel inhibitory effect of minocycline // *Inflamm. Res.* – 2017. - Vol. 66. – P. 157–166.

53 Olson A.L. Regulation of GLUT4 and Insulin-Dependent Glucose Flux // *ISRN Mol. Biol.* – 2012. - Vol. 2. – P. 1–12.

54 Softic S., Meyer J.G., Wang G.X., Gupta M.K., Batista T.M., Lauritzen H.P., Fujisaka S., Serra D., Herrero L., Willoughby J. et al. Dietary Sugars Alter Hepatic Fatty Acid Oxidation via Transcriptional and Post- translational Modifications of Mitochondrial Proteins // *Cell Metab.* – 2019. - Vol. 30. – P. 735-753.

55 Al-Dabet Moh'D Mohanad et al. Reversal of the renal hyperglycemic memory in diabetic kidney disease by targeting sustained tubular p21 expression // *Nature communications.* – 2022. - Vol. 13, №1. – P. 5062.

56 Keenan S.N., Watt M.J., Montgomery M.K. Inter-organelle Communication in the Pathogenesis of Mitochondrial Dysfunction and Insulin Resistance // *Curr. Diab. Rep.* – 2020. - Vol. 20. – P. 27-43.

57 La Sala L., Prattichizzo F., Ceriello A. The link between diabetes and atherosclerosis // *Eur. J. Prev. Cardiol.* – 2019. - Vol. 26. – P. 15–24.

58 Korunes K.L., Liu J., Huang R., Xia M., Houck K.A., Corton J.C. A gene expression biomarker for predictive toxicology to identify chemical modulators of NF- κ B // *PLoS One.* – 2022. - Vol. 17. – P. 33-46.

59 Meyerovich K., Ortis F., Cardozo A.K. The non-canonical NF- κ B pathway and its contribution to β -cell failure in diabetes // *J. Mol. Endocrinol.* – 2018. - Vol. 61. – P. 1–6.

60 Gora I.M., Ciechanowska A., Ladyzynski P. Nlrp3 inflammasome at the interface of inflammation, endothelial dysfunction, and type 2 diabetes // *Cells.* - 2021. - Vol. 10. – P. 1–29.

61 Peng M.L., Fu Y., Wu C.W., Zhang Y. Ren H., Zhou S.S. Signaling Pathways Related to Oxidative Stress in Diabetic Cardiomyopathy // *Front. Endocrinol.* – Lausanne, 2022. - Vol. 13. – P. 1–20.

62 Sharma B.R., Kanneganti T.D. NLRP3 inflammasome in cancer and metabolic diseases // *Nat. Immunol.* – 2021. - Vol. 22. – P. 550–559.

63 Slaats J., Ten Oever J., Van de Veerdonk F.L., Netea M.G. IL-1 β /IL-6/CRP and IL-18/ferritin: Distinct Inflammatory Programs in Infections // *PLoS Pathog.* – 2016. - Vol. 12. – P. 19-27.

64 Vandanmagsar B., Youm Y.H., Ravussin A., Galgani J.E., Stadler K., Mynatt R.L., Ravussin E., Stephens J.M., Dixit V.D. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance // *Nat. Med.* – 2011. - Vol. 17. – P. 179–189.

65 Robblee M.M., Kim C.C., Abate J.P., Valdearcos M., Sandlund K.L.M., Shenoy M.K., Volmer R., Iwawaki T., Koliwad S.K. Saturated Fatty Acids Engage an IRE1 α -Dependent Pathway to Activate the NLRP3 Inflammasome in Myeloid Cells // *Cell Rep.* – 2016. - Vol. 14. – P. 2611–2623.

66 Есенбекова А. Е., Аблайханова Н. Т., Дүйсенбек А., Беисова А.А., Есимсиитова З.Б., Мухитдинов А.М. Екінші типті қант диабеті кезіндегі

гематологиялық және биохимиялық қан көрсеткіштеріне мелатониннің әсерін зерттеу // *Experimental Biology*. – 2023. – Т. 94, №1. – Б. 1563-0218.

67 Hu S., Hu H., Wang R., He H., Shui H. MicroRNA-29b prevents renal fibrosis by attenuating renal tubular epithelial cell–mesenchymal transition through targeting the PI3K/AKT pathway // *Int. Urol. Nephrol.* – 2021. - Vol. 53. – P. 1941–1950.

68 Gao C., Fei X., Wang M., Chen Q., Zhao N. Cardamomin protects from diabetes-induced kidney damage through modulating PI3K/AKT and JAK/STAT signaling pathways in rats // *Int. Immunopharmacol.* – 2022. - Vol. 107. – P. 108610.

69 Cho C.H., Roh K.H., Lim N.Y., Park S.J., Park S.G., Kim H.W. Role of the JAK/STAT pathway in a streptozotocin-induced diabetic retinopathy mouse model. *Graefes Arch. Clin // Exp. Ophthalmol.* – 2022. - Vol. 260. – P. 3553–3563.

70 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. 1. – P. 146.

71 Duan T., Du Y., Xing C., Wang H.Y., Wang R.F. Toll-Like Receptor Signaling and Its Role in Cell-Mediated Immunity // *Front. Immunol.* – 2022. - Vol. 13. – P. 774.

72 Habas A., Reddy Natala S., Bowden-Verhoek J.K., Stocking E.M., Price D.L., Wrasidlo W., Bonhaus D.W., Gill M.B. NPT1220-312, a TLR2/TLR9 Small Molecule Antagonist, Inhibits Pro-Inflammatory Signaling, Cytokine Release, and NLRP3 Inflammasome Activation // *Int. J. Inflam.* – 2022. - Vol. 1. – P. 56-73.

73 Sharifi S., Böger M., Lortz S., Mehmeti I. Luminal H₂O₂ promotes ER Ca²⁺ dysregulation and toxicity of palmitate in insulin-secreting INS-1E cells // *FASEB J.* – 2023. - Vol. 37. – P. 1–16.

74 Li W., Cao T., Luo C., Cai J., Zhou X., Xiao X., Liu, S. Crosstalk between ER stress, NLRP3 inflammasome, and inflammation // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2020. - Vol. 104. – P. 6129–6140.

75 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 // *Antioxidants Redox Signal.* – 2018. - Vol. 29. – P. 749–791.

76 Darwish N.M., Elnahas Y.M., AlQahtany F.S. Diabetes induced renal complications by leukocyte activation of nuclear factor κ -B and its regulated genes expression // *Saudi J. Biol. Sci.* – 2021. - Vol. 2. – P. 46-52.

77 Jimenez-Lucena R., Alcala-Diaz J.F., Roncero-Ramos I., Lopez-Moreno J., Camargo A., Gomez-Delgado F., Quintana-Navarro G.M., Vals-Delgado C., Rodriguez-Cantalejo F., Luque R.M. et al. MiRNAs profile as biomarkers of nutritional therapy for the prevention of type 2 diabetes mellitus: From the CORDIOPREV study // *Clin. Nutr.* – 2021. - Vol. 40. – P. 1028–1038.

78 Mori M.A., Ludwig R.G., Garcia-Martin R., Brandão B.B., Kahn C.R. Extracellular miRNAs: From Biomarkers to Mediators of Physiology and Disease // *Cell Metab.* – 2019. - Vol. 30. – P. 656–673.

- 79 Isaac R., Reis F.C.G., Ying W., Olefsky J.M. Exosomes as mediators of intercellular crosstalk in metabolism // *Cell Metab.* – 2021. - Vol. 33. - P. 1744–1762.
- 80 Théry C., Witwer K.W., Aikawa E., Alcaraz M.J., Anderson J.D., Andriantsitohaina R., Antoniou A., Arab T., Archer F., Atkin-Smith G.K. et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines // *J. Extracell. Vesicles.* - 2018. - Vol. 7. – P. 750.
- 81 Saas P., Ceroi A.B., Hosseinkhani B., Kuypers S., Van Den Akker N.M.S., Molin D.G.M., Michiels L. Extracellular Vesicles Work as a Functional inflammatory Mediator Between Vascular endothelial // *Cells and immune cells.* – 2018. - Vol. 9. – P. 6.
- 82 Burger D., Turner M., Xiao F., Munkonda M.N., Akbari S., Burns K.D. High glucose increases the formation and pro-oxidative activity of endothelial microparticles // *Diabetologia.* – 2017. - Vol. 60. – P. 1791–1800.
- 83 Mensà E., Guescini M., Giuliani A., Bacalini M.G., Ramini D., Corleone G., Ferracin M., Fulgenzi G., Graciotti L., Prattichizzo F. et al. Small extracellular vesicles deliver miR-21 and miR-217 as pro-senescence effectors to endothelial cells // *J. Extracell. Vesicles.* - 2020. - Vol. 9. – P. 285.
- 84 Zhang Y., Mei H., Chang X., Chen F., Zhu Y., Han X. Adipocyte-derived microvesicles from obese mice induce M1 macrophage phenotype through secreted miR-155 // *J. Mol. Cell Biol.* – 2016. - Vol. 8. – P. 505–517.
- 85 Castaño C., Kalko S., Novials A., Párrizas M. Obesity-associated exosomal miRNAs modulate glucose and lipid metabolism in mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2018. - Vol. 115. – P. 12158–12163.
- 86 Xie Y., Chu A., Feng Y., Chen L., Shao Y., Luo Q., Deng X., Wu M., Shi X., Chen Y. MicroRNA-146a: A comprehensive indicator of inflammation and oxidative stress status induced in the brain of chronic T2DM rats // *Front. Pharmacol.* – 2018. - Vol. 2. – P. 63.
- 87 Zhao X., Jin Y., Li L., Xu L., Tang Z., Qi Y., Yin L., Peng J. MicroRNA-128-3p aggravates doxorubicin-induced liver injury by promoting oxidative stress via targeting Sirtuin-1 // *Pharmacol. Res.* – 2019. - Vol. 146. – P. 104276.
- 88 Gong, Y.Y., Luo J.Y., Wang L., Huang Y. MicroRNAs Regulating Reactive Oxygen Species in Cardiovascular Diseases // *Antioxid. Redox Signal.* – 2018. - Vol. 29. – P. 1092–1107.
- 89 Ginckels P., Holvoet P. Oxidative Stress and Inflammation in Cardiovascular Diseases and Cancer: Role of Non-coding RNAs // *Yale J. Biol. Med.* – 2022. - Vol. 95. – P. 129–152.
- 90 Liu Q.Q., Ren K., Liu S.H., Li W.M., Huang C.J., Yang X.H. MicroRNA-140-5p aggravates hypertension and oxidative stress of atherosclerosis via targeting Nrf2 and Sirt2 // *Int. J. Mol. Med.* – 2019. - Vol. 43. – P. 839–849.
- 91 Tahamtan A., Teymoori-Rad M., Nakstad B., Salimi V. Anti-inflammatory MicroRNAs and their potential for inflammatory diseases treatment // *Front. Immunol.* – 2018. - Vol. 9. – P. 1–14.

- 92 La Sala L., Mrakic-Spota 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 // *Medical and Health Sciences* 1103 *Clinical Sciences // Cardiovasc. Diabetol.* – 2019. - Vol. 18. – P. 1–12.
- 93 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. – P. 1713.
- 94 Mensà E., Giuliani A., Matakchione G., Gurău F., Bonfigli A.R., Romagnoli F., De Luca M., Sabbatinelli J., Olivieri F. Circulating miR-146a in healthy aging and type 2 diabetes: Age- and gender-specific trajectories // *Mech. Ageing Dev.* – 2019. - Vol. 180. – P. 1–10.
- 95 Cerda A., Amaral A.A., De Oliveira R., Moraes T.I., Braga A.A., Graciano-Salazar M.E., Fajardo C.M., Hirata T.D.C., Bonezi V., Campos-Salazar A.B. et al. Peripheral blood mirome identified mir-155 as potential biomarker of mets and cardiometabolic risk in obese patients // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. - Vol. 22. - P. 1–14.
- 96 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. - №1. – P. 37–51.
- 97 Noren Hooten N., Evans M.K. Extracellular vesicles as signaling mediators in type 2 diabetes mellitus // *Am. J. Physiol. - Cell Physiol.* – 2020. - Vol. 318. – P. 1189–1199.
- 98 Wu S.F., Noren Hooten N., Freeman D.W., Mode N.A., Zonderman A.B., Evans M.K. Extracellular vesicles in diabetes mellitus induce alterations in endothelial cell morphology and migration // *J. Transl. Med.* – 2020. - Vol. 18. – P. 1–15.
- 99 Hubal M.J., Nadler E.P., Ferrante S.C., Barberio M.D., Suh J.H., Wang J., Dohm G.L., Pories W.J., Mietus-Snyder M., Freishtat R.J. Circulating adipocyte-derived exosomal MicroRNAs associated with decreased insulin resistance after gastric bypass // *Obesity.* - Silver Spring, 2017. - Vol. 25. – P. 102–110.
- 100 Yin R., Zhu X., Wang J., Yang S., Ma A., Xiao Q., Song J., Pan X. MicroRNA-155 promotes the ox-LDL-induced activation of NLRP3 inflammasomes via the ERK1/2 pathway in THP-1 macrophages and aggravates atherosclerosis in apoe^{-/-} mice // *Ann. Palliat. Med.* – 2019. - Vol. 8. – P. 676–689.
- 101 Ying W., Gao H., Dos Reis F.C.G., Bandyopadhyay G., Ofrecio J.M., Luo Z., Ji Y., Jin Z., Ly C., Olefsky J.M. MiR-690, an exosomal-derived miRNA from M2-polarized macrophages, improves insulin sensitivity in obese mice // *Cell Metab.* – 2021. - Vol. 33. – P. 781–790.
- 102 Liu T., Sun Y.C., Cheng P., Shao H.G. Adipose tissue macrophage-derived exosomal miR-29a regulates obesity-associated insulin resistance // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2019. - Vol. 515. – P. 352–358.
- 103 Massart J., Sjögren R.J.O. Lundell L.S., Mudry J.M., Franck N., O’Gorman D.J., Egan B., Zierath J.R., Krook A. Altered miR-29 expression in type 2 diabetes

influences glucose and lipid metabolism in skeletal muscle // *Diabetes*. - 2017. - Vol. 1. – P. 141.

104 Yao Y., Song Q., Hu C., Da X., Yu Y., He Z., Xu C., Chen Q., Wang Q.K. Endothelial cell metabolic memory causes cardiovascular dysfunction in diabetes // *Cardiovasc. Res.* – 2022. - Vol. 118. – P. 196–211.

105 Ding H., Li J., Li Y., Yang M., Nie S., Zhou M., Zhou Z., Yang X., Liu Y., Hou F.F. MicroRNA-10 negatively regulates inflammation in diabetic kidney via targeting activation of the NLRP3 inflammasome // *Mol. Ther.* – 2021. - Vol. 29. – P. 2308–2320.

106 Wang Y., Han Z., Fan Y., Zhang J., Chen K., Gao L., Zeng H., Cao J., Wang C. MicroRNA-9 Inhibits NLRP3 Inflammasome Activation in Human Atherosclerosis Inflammation Cell Models through the JAK1/STAT Signaling Pathway // *Cell. Physiol. Biochem.* – 2017. - Vol. 41. – P. 1555–1571.

107 Zhong X., Liao Y., Chen L., Liu G., Feng Y., Zeng T., Zhang J. The MicroRNAs in the pathogenesis of metabolic memory // *Endocrinol.* - United States, 2015. - Vol. 156. – P. 3157–3168.

108 Bhaumik Dipa, Scott G.K., Schokrpur S., Hiruyeh Patil C.K., Orjalo A.V., Lithgow G.J., Campisi J. MicroRNAs miR - 146a / b negatively modulate the senescence // *Associated inflammatory mediators IL - 6 and IL - 8*. – 2009. - Vol. 1. – P. 402–411.

109 Marshall S.M. 60 Years of Metformin Use: a Glance At the Past and a Look To the Future // *Diabetologia*. – 2017. - Vol. 60. – P. 1561–1565.

110 Gou L., Liu G., Ma R., Regmi A., Zeng T., Zheng J., Zhong X., Chen L. High fat-induced inflammation in vascular endothelium can be improved by *Abelmoschus esculentus* and metformin via increasing the expressions of miR-146a and miR-155 // *Nutr. Metab.* – 2020. - Vol. 17. – P. 1–15.

111 Amara V.R., Surapaneni S.K., Tikoo K. Metformin attenuates cardiovascular and renal injury in uninephrectomized rats on DOCA-salt: Involvement of AMPK and miRNAs in cardioprotection // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2019. - Vol. 362. – P. 95–104.

112 Bakhshab S., Ahmed F., Schulten H.J., Ahmed F.W., Glanville M., Al-Qahtani M.H., Weaver J.U. Proangiogenic effect of metformin in endothelial cells is via upregulation of VEGFR1/2 and their signaling under hyperglycemia-hypoxia // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. - Vol. 19. – P. 1–18.

113 Demirsoy I.H., Ertural D.Y., Balci Ş., Çlnklr Ü., Sezer K., Tamer L., Aras N. Profiles of Circulating miRNAs Following Metformin Treatment in Patients with Type 2 Diabetes // *J. Med. Biochem.* – 2018. - Vol. 37. – P. 499–506.

114 Nandula S.R., Kundu N., Awal H.B., Brichacek B., Fakhri M., Aimalla N., Elzarki A., Amdur R.L., Sen S. Role of Canagliflozin on function of CD34+ve endothelial progenitor cells (EPC) in patients with type 2 diabetes // *Cardiovasc. Diabetol.* – 2021. - Vol. 20. – P. 235.

115 Mensà E., Giuliani A., Matakchione G., Gurău F., Bonfigli A.R., Romagnoli F., De Luca M., Sabbatinelli J., Olivieri F. Circulating miR-146a in

healthy aging and type 2 diabetes: Age- and gender-specific trajectories // *Mech. Ageing Dev.* – 2019. - Vol. 180. – P. 1–10.

116 Prattichizzo F., Giuliani A., Mensà E., Sabbatinelli J., De Nigris V., Rippo M.R., La Sala L., Procopio A.D., Olivieri F., Ceriello A. Pleiotropic effects of metformin: Shaping the microbiome to manage type 2 diabetes and postpone ageing // *Ageing Res. Rev.* – 2018. - Vol. 48. – P. 87–98.

117 Katila N., Bhurtel S., Park P.H., Choi D.Y. Metformin attenuates rotenone-induced oxidative stress and mitochondrial damage via the AKT/Nrf2 pathway // *Neurochem. Int.* – 2021. - Vol. 148. – P. 120.

118 Castaño Carlos et al. Treatment with EV-miRNAs alleviates obesity-associated metabolic dysfunction in mice // *International Journal of Molecular Sciences.* - 2022. - Vol. 23. – P. 14920.

119 Nunez Lopez Y.O., Retnakaran R., Zinman B., Pratley R.E., Seyhan A.A. Predicting and understanding the response to short-term intensive insulin therapy in people with early type 2 diabetes // *Mol. Metab.* – 2019. - Vol. 20. – P. 63–78.

120 Mone P., Lombardi A., Kansakar U., Varzideh F., Jankauskas S.S., Pansini A., Marzocco S., De Gennaro S., Famiglietti M., Macina G. et al. Empagliflozin Improves the MicroRNA Signature of Endothelial Dysfunction in Patients with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction and Diabetes // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2023. - Vol. 384. – P. 116–122.

121 Zhang Q., Xiao X., Zheng J., Li M., Yu M., Ping F., Wang T., Wang X. Vildagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, attenuated endothelial dysfunction through miRNAs in diabetic rats // *Arch. Med. Sci.* – 2021. - Vol. 17. – P. 1378–1387.

122 Toh S., Reichman M.E., Graham D.J., Hampp C., Zhang R., Butler M.G., Iyer A., Rucker M., Pimentel M., Hamilton J. et al. Prospective Postmarketing Surveillance of Acute Myocardial Infarction in New Users of Saxagliptin: A Population-Based Study // *Diabetes Care.* – 2018. - Vol. 41. – P. 39–48.

123 Flowers E., Aouizerat B.E., Abbasi F., Lamendola C., Grove K.M., Fukuoka Y., Reaven G.M. Circulating microRNA-320a and microRNA-486 predict thiazolidinedione response: Moving towards precision health for diabetes prevention // *Metabolism.* – 2015. - Vol. 64. – P. 1051–1059.

124 Nunez Lopez Y.O., Casu A., Kovacova Z., Petrilli A.M., Sideleva O., Tharp W.G., Pratley R.E. Coordinated regulation of gene expression and microRNA changes in adipose tissue and circulating extracellular vesicles in response to pioglitazone treatment in humans with type 2 diabetes // *Front. Endocrinol.* – Lausanne, 2022. - Vol. 13. – P. 593.

125 Kalderon B., Azazmeh N., Azulay N., Vissler N., Valitsky M., Bar-Tana J. Suppression of adipose lipolysis by long-chain fatty acid analogs // *J. Lipid Res.* – 2012. - Vol. 53. – P. 868–878.

126 Escames G., León J., Macías M., Khaldy H., Acuña-Castroviejo D. Melatonin counteracts lipopolysaccharide-induced expression and activity of mitochondrial nitric oxide synthase in rats // *FASEB J.* – 2003. - Vol. 2. – P. 692.

- 127 García J.A., Volt H., Venegas C., Doerrier C., Escames G., López L.C., Acuña-Castroviejo D. Disruption of the NF- κ B/NLRP3 connection by melatonin requires retinoid-related orphan receptor- α and blocks the septic response in mice // *FASEB J.* – 2015. - Vol. 1. – P. 63-79.
- 128 Zhang Y., Li X., Grailer J.J., Wang N., Wang M., Yao J., Zhong R., Gao G.F., Ward P.A., Tan D.X. et al. Melatonin alleviates acute lung injury through inhibiting the NLRP3 inflammasome // *J. Pineal Res.* – 2016. - Vol. 60. – P. 405–414.
- 129 Fern M., Sayed R.K.A. Melatonin / Nrf2 / NLRP3 Connection in Mouse Heart Mitochondria during // *Aging.* – 2020. - №1. – P. 28-39.
- 130 Sayed R.K.A., Fernández-Ortiz M., Fernández-Martínez J., Martínez P.A., Guerra-Librero A., Rodríguez-Santana C., Haro T. de, Escames G., Acuña-Castroviejo D., Rusanova I. Article the impact of melatonin and nlrp3 inflammasome on the expression of micrnas in aged muscle // *Antioxidants.* – 2021. - Vol. 10. – P. 524.
- 131 Yu L.M., Dong X., Xue X.D., Xu S., Zhang X., Xu Y.L., Wang Z.S., Wang Y., Gao H., Liang Y.X. et al. Melatonin attenuates diabetic cardiomyopathy and reduces myocardial vulnerability to ischemia-reperfusion injury by improving mitochondrial quality control: Role of SIRT6 // *J. Pineal Res.* – 2021. - Vol. 70. – P. 1–21.
- 132 Che H., Li H., Li Y., Wang Y.Q., Yang Z.Y., Wang R.L., Wang L.H. Melatonin exerts neuroprotective effects by inhibiting neuronal pyroptosis and autophagy in STZ-induced diabetic mice // *FASEB J.* – 2020. - Vol. 34. – P. 14042–14054.
- 133 Fan Z., Qi X., Yang W., Xia L., Wu Y. Melatonin Ameliorates Renal Fibrosis Through the Inhibition of NF- κ B and TGF- β 1/Smad3 Pathways in db/db Diabetic Mice // *Arch. Med. Res.* – 2020. - №1. – P. 39-50.
- 134 Kuo C.S., Chen C.Y., Huang H.L., Tsai H.Y., Chou R.H., Wei J.H., Huang P.H., Lin S.J. Melatonin Improves Ischemia-Induced Circulation Recovery Impairment in Mice with Streptozotocin-Induced Diabetes by Improving the Endothelial Progenitor Cells Functioning // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. - Vol. 23. – P. 1–14.
- 135 Mahjabeen W., Khan D.A., Mirza S.A. Role of resveratrol supplementation in regulation of glucose hemostasis, inflammation and oxidative stress in patients with diabetes mellitus type 2: A randomized, placebo- controlled trial. *Complement // Ther. Med.* – 2022. - Vol. 66. – P. 102819.
- 136 Chen J., Ou Z., Gao T., Yang Y., Shu A., Xu H., Chen Y., Lv Z. Ginkgolide B alleviates oxidative stress and ferroptosis by inhibiting GPX4 ubiquitination to improve diabetic nephropathy // *Biomed. Pharmacother.* – 2022. - Vol. 156. – P. 113953.
- 137 Doncheva A.I., Romero S., Ramirez-Garrastacho M., Lee S., Kolnes K.J., Tangen D.S., Olsen T., Drevon C.A., Llorente A., Dalen K.T. et al. Extracellular vesicles and microRNAs are altered in response to exercise, insulin sensitivity and overweight // *Acta Physiol.* – 2022. - Vol. 236. – P. 1–17.

- 138 Pu L.J., Chen W., Liu Q.H., Huang A.P., Zhao Q., Gu H.H. Relationship between miR-375 regulating Ndrp2/IL-6/STAT3 signaling pathway and diabetic retinopathy in rats // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2020. - Vol. 24. – P. 2189–2195.
- 139 Polovina M., Lund L.H., Đikić C., Petrović-Đorđević C.I., Krljanac G., Milinković C.I., Veljić C.I., Piepoli M.F., Rosano G.M.C., Ristić A.D. et al. Type 2 diabetes increases the long-term risk of heart failure and mortality in patients with atrial fibrillation // *Eur. J. Heart Fail.* – 2020. - Vol. 22. – P. 113–125.
- 140 Lu X., Xie Q., Pan X., Zhang R., Zhang X., Peng G., Zhang Y., Shen S., Tong N. Type 2 diabetes mellitus in adults: Pathogenesis, prevention and therapy. *Signal Transduct // Target. Ther.* – 2024. - Vol. 9. – P. 262.
- 141 Li Y., Liu Y., Liu S., Gao M., Wang W., Chen K., Huang L., Liu Y. Diabetic vascular diseases: Molecular mechanisms and therapeutic strategies. *Signal Transduct // Target. Ther.* – 2023. - Vol. 8. – P. 152.
- 142 Afsharmanesh M.R., Mohammadi Z., Mansourian A.R., Jafari S.M. A Review of micro RNAs changes in T2DM in animals and humans // *J. Diabetes.* – 2023. - Vol. 15. – P. 649–664.
- 143 Duisenbek A., Lopez-armas G.C., Miguel P., Avil D., Aguilar M., Pereira R., Ortega J.G., Yessenbekova A., Ablaihanova N., Escames G. et al. Insights into the Role of Plasmatic and Exosomal microRNAs in Oxidative Stress-Related Metabolic Diseases // *Antioxidants.* – 2023. - Vol. 12. – P. 1290.
- 144 Liu J., Zhang Y., Tian Y., Huang W., Tong N., Fu X. Integrative biology of extracellular vesicles in diabetes mellitus and diabetic complications // *Theranostics.* - 2022. - Vol. 12. – P. 1342–1372.
- 145 Chandrasekera D., Katare R. Exosomal microRNAs in diabetic heart disease // *Cardiovasc. Diabetol.* – 2022. - Vol. 21. – P. 122.
- 146 Medina-Leyte D.J., Zepeda-García O., Domínguez-Pérez M., González-Garrido A., Villarreal-Molina T., Jacobo-Albavera L. Endothelial dysfunction, inflammation and coronary artery disease: Potential biomarkers and promising therapeutical approaches // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. - Vol. 22. – P. 3850.
- 147 Yuan J., Chen M., Xu Q., Liang J., Chen R., Xiao Y., Fang M., Chen L. Effect of the Diabetic Environment on the Expression of MiRNAs in Endothelial Cells: Mir-149-5p Restoration Ameliorates the High Glucose-Induced Expression of TNF- α and ER Stress Markers // *Cell. Physiol. Biochem.* – 2017. - Vol. 43. – P. 120–135.
- 148 He Y., Ding Y., Liang B., Lin J., Kim T.K., Yu H., Hang H., Wang K. A systematic study of dysregulated MicroRNA in type 2 diabetes mellitus // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. - Vol. 18. – P. 456.
- 149 Castaño C., Kalko S., Novials A., Párrizas M. Obesity-associated exosomal miRNAs modulate glucose and lipid metabolism in mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. – USA*, 2018. - Vol. 115. – P. 12158–12163.
- 150 Li X., Xu L., Hou X., Geng J., Tian J., Liu X., Bai X. Advanced Oxidation Protein Products Aggravate Tubulointerstitial Fibrosis Through Protein Kinase C-

Dependent Mitochondrial Injury in Early Diabetic Nephropathy // *Antioxid. Redox Signal.* – 2019. - Vol. 30. – P. 1162–1185.

151 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. – P. 417–426.

152 Escames G., Khaldy H., León J., González L., Acuña-Castroviejo D. Changes in iNOS activity, oxidative stress and melatonin levels in hypertensive patients treated with lacidipine // *J. Hypertens.* – 2004. - Vol. 22. – P. 629–635.

153 López-Armas G.C., Yessenbekova A., González-Castañeda R.E., Arellano-Arteaga K.J., Guerra-Librero A., Ablakhanova 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 in T2DM Patients // *Antioxidants.* – 2022. - Vol. 11. – P. 1675.

154 Sikalidis A.K., Maykish A. The gut microbiome and type 2 diabetes mellitus: Discussing a complex relationship // *Biomedicine.* – 2020. - Vol. 8. – P. 28.

155 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. – P. 20290–20305.

156 Andrade-Sierra J., Pazarín-Villaseñor L., Yanowsky-Escatell F.G., Díaz-de la Cruz E.N., García-Sánchez A., Cardona-Muñoz E.G., Munguía-Galaviz F.J., de Alba-Razo A., Miranda-Díaz A.G. The Influence of the Severity of Early Chronic Kidney Disease on Oxidative Stress in Patients with and without Type 2 Diabetes Mellitus // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. - Vol. 23. – P. 11196.

157 Paneque A., Fortus H., Zheng J., Werley G., Jacinto E. The hexosamine biosynthesis pathway: Regulation and function // *Genes.* – 2023. - Vol. 14. – P. 993.

158 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. Activity-expression profiling of glucose-6-phosphate dehydrogenase in tissues of normal and diabetic mice // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2020. - Vol. 524. – P. 750–755.

159 Breyear J.H., Hellwege J.N., Schroeder P.H., House J.S., Poisner H.M., Mitchell S.L., Charest B., Khakharia A., Basnet T.B., Halladay C.W. et al. Adaptive selection at G6PD and disparities in diabetes complications // *Nat. Med.* – 2024. - Vol. 30. – P. 2480–2488.

160 Deshmane S.L., Kremlev S., Amini S., Sawaya B.E. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): An overview // *J. Interf. Cytokine Res.* – 2009. - Vol. 29. – P. 313–325.

161 Ahmed S.F., Shabayek M.I., Abdel Ghany M.E., El-Hefnawy M.H., El-Mesallamy H.O. Role of CTRP3, CTRP9 and MCP-1 for the evaluation of T2DM associated coronary artery disease in Egyptian postmenopausal females // *PLoS ONE.* - 2018. - Vol. 13. – P. 38.

162 Nunez Lopez, Yury O. et al. Coordinated regulation of gene expression and microRNA changes in adipose tissue and circulating extracellular vesicles in

response to pioglitazone treatment in humans with type 2 diabetes // *Frontiers in Endocrinology*. – 2022. - Vol. 139. – P. 55-593.

163 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. – P. 35372.

164 Dehghani M., Aghaei Zarch S.M., Vahidi Mehrjardi M.Y., Nazari M., Babakhanzadeh E., Ghadimi H., Zeinali F., Talebi M. Evaluation of miR-181b and miR-126-5p expression levels in T2DM patients compared to healthy individuals: Relationship with NF- κ B gene expression // *Endocrinol. Diabetes Nutr.* – 2020. - Vol. 67. – P. 454–460.

165 Yang W.Z., Yang J., Xue L.P., Xiao L.B., Li Y. MiR-126 overexpression inhibits high glucose-induced migration and tube formation of rhesus macaque choroid-retinal endothelial cells by obstructing VEGFA and PIK3R2 // *J. Diabetes Complicat.* – 2017. - Vol. 31. – P. 653–663.

166 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.

167 Catanzaro G., Conte F., Trocchianesi S., Splendiani E., Bimonte V.M., Mocini E., Filardi T., Po A., Besharat Z.M., Gentile M.C. et al. Network analysis identifies circulating miR-155 as predictive biomarker of type 2 diabetes mellitus development in obese patients: A pilot study // *Sci. Rep.* – 2023. - Vol. 13. – P. 19496.

168 Rodriguez A., Vigorito E., Clare S., Warren M.V., Couttet P., Soond D.R., Van Dongen S., Grocock R.J., Das P.P., Miska E.A. et al. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function // *Science*. – 2007. - Vol. 316. – P. 608–611.

169 Yin R., Zhu X., Wang J., Yang S., Ma A., Xiao Q., Song J., Pan X. MicroRNA-155 promotes the ox-LDL-induced activation of NLRP3 inflammasomes via the ERK1/2 pathway in THP-1 macrophages and aggravates atherosclerosis in apoe^{-/-} mice // *Ann. Palliat. Med.* – 2019. - Vol. 8. – P. 676–689.

170 Jankauskas S.S., Gambardella J., Sardu, C., Lombardi A., Santulli G. Functional role of miR-155 in the pathogenesis of diabetes mellitus and its complications // *Non Coding RNA*. – 2021. - Vol. 7. – P. 39.

171 Polina E.R., Oliveira F.M., Sbruzzi R.C., Crispim D., Canani L.H., Santos K.G. Gene polymorphism and plasma levels of miR-155 in diabetic retinopathy // *Endocr. Connect.* – 2019. - Vol. 8. – P. 1591–1599.

172 Papadopoulos K.I., Papadopoulou A.A., T.C. MicroRNA-155 mediates endogenous angiotensin II type 1 receptor regulation: Implications for innovative type 2 diabetes mellitus management // *World J. Diabetes*. – 2023. - Vol. 14. – P. 1334–1340.

- 173 Supak Smolcic, Lidija Bilic-Zulle Vesna, Fišić Elizabeta. Validation of methods performance for routine biochemistry analytes at Cobas 6000 analyzer series module c501 // *Biochemia Medica*. – 2011. - Vol. 21, №2. – P. 182-190.
- 174 Yuan Bo et al. Evaluation of newly-developed glycosylated hemoglobin clinical analytic reagents and chromatography column on Tosoh HLC-723 G8 Analyzer // *Practical Laboratory Medicine*. – 2023. - Vol. 37. – P. 338.
- 175 Bai X., Luo Q., Tan K., Guo L. Diagnostic value of VDBP and miR-155-5p in diabetic nephropathy and the correlation with urinary microalbumin // *Exp. Ther. Med.* – 2020. - Vol. 20. – P. 86.
- 176 Lindeberg Victoria. Evaluation of Manual and QIAcube miRNA Extraction from Plasma with the miRNeasy Advanced Kit from Qiagen. - 2020.
- 177 Kim N.H., Ahn J., Choi Y.M., Son H.J., Choi W.H., Cho H.J., Yu J.H., Seo J.A., Jang Y.J., Jung C.H. et al. Differential circulating and visceral fat microRNA expression of non-obese and obese subjects // *Clin. Nutr.* – 2020. - Vol. 39. – P. 910–916.
- 178 Wang Ziran et al. Performance evaluation of QuantStudio 1 plus real-time PCR instrument for clinical laboratory analysis: A proof-of-concept study // *Practical Laboratory Medicine*. – 2023. - Vol. 36. – P. 330.
- 179 Gao J., Zhao G., Li W., Zhang J., Che Y., Song M., Gao S., Zeng B., Wang Y. MiR-155 targets PTCH1 to mediate endothelial progenitor cell dysfunction caused by high glucose // *Exp. Cell Res.* – 2018. - Vol. 366. – P. 55–62.
- 180 Demircan N. et al. Determination of vitreous interleukin-1 (IL-1) and tumour necrosis factor (TNF) levels in proliferative diabetic retinopathy // *Eye*. - 2006. - Vol. 20, №12. – P. 1366-1369.
- 181 Wang Kehui et al. Validation and comparison of luminex multiplex cytokine analysis kits with ELISA: determinations of a panel of nine cytokines in clinical sample culture supernatants // *Journal of reproductive immunology*. – 2005. - Vol. 66, №2. – P. 175-191.
- 182 Rey Alonso, Susana C. The technology influence on the study of oxidative stress applied to biological samples: thesis. - 2018.
- 183 Witko-Sarsat Véronique et al. Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure1, 2 // *The Journal of immunology*. – 1998. - Vol. 161, №5. – P. 2524-2532.
- 184 Hissin Paul J., Russell Hilf. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues // *Analytical biochemistry*. – 1976. - Vol. 74, №1. – P. 214-226.
- 185 Taganov K.D., Boldin M.P., Chang K.J., Baltimore D. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2006. - Vol. 103. – P. 12481–12486.
- 186 Ghaffari M., Razi S., Zalpoor H., Nabi-Afjadi M., Mohebichamkhorami F., Zali H. Association of MicroRNA-146a with Type 1 and 2 Diabetes and their Related Complications // *J. Diabetes Res.* – 2023. - Vol. 1. – P. 258-7104.

- 187 Kelly Shannon C. et al. Glucose-dependent trans-plasma membrane electron transport and p70S6k phosphorylation in skeletal muscle cells // *Redox Biology*. – 2019. - Vol. 27. – P. 101075.
- 188 Le Berre Marie et al. Calculating half maximal inhibitory concentration (IC50) values from glycomics microarray data using GraphPad Prism. *Glycan Microarrays: Methods and Protocols*. - New York: Springer US, 2022. – P. 89-111.
- 189 Yaddanapudi Lakshmi Narayana. The American Statistical Association statement on P-values explained // *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*. – 2016. - Vol. 32, №4. – P. 421-423.
- 190 Hou X., Tian J., Geng J., Li X., Tang X., Zhang J., Bai X. MicroRNA-27a promotes renal tubulointerstitial fibrosis via suppressing PPAR γ pathway in diabetic nephropathy // *Oncotarget*. – 2016. - Vol. 7. – P. 47760–47776.
- 191 Song J., Zhang H., Sun Y., Guo R., Zhong D., Xu R., Song M. Omentin-1 protects renal function of mice with type 2 diabetic nephropathy via regulating miR-27a-Nrf2/Keap1 axis // *Biomed. Pharmacother.* – 2018. - Vol. 107. – P. 440–446.
- 192 Li J.M., Li X., Chan L.W.C., Hu R., Zheng T., Li H., Yang S. Lipotoxicity-polarised macrophage-derived exosomes regulate mitochondrial fitness through Miro1-mediated mitophagy inhibition and contribute to type 2 diabetes development in mice // *Diabetologia*. – 2023. - Vol. 66. – P. 2368–2386.
- 193 Akpınar K., Aslan D., Fenkçi S.M., Caner V. miR-21-3p and miR-192-5p in patients with type 2 diabetic nephropathy // *Diagnosis*. – 2022. - Vol. 9. – P. 499–507.
- 194 Duisenbek Ayauly et al. Unveiling the Predictive Model for Macrovascular Complications in Type 2 Diabetes Mellitus: microRNAs Expression, Lipid Profile, and Oxidative Stress Markers // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2024. - Vol. 25, №21. – P. 11763.
- 195 Guo X., Yin T., Chen D., Xu S., Ye R., Zhang Y. Astragaloside IV Regulates Insulin Resistance and Inflammatory Response of Adipocytes via Modulating MIR-21/PTEN/PI3K/AKT Signaling // *Diabetes Ther.* – 2023. - Vol. 13. – P. 1538–1547.
- 196 Doghish A.S., Elsisi A.M., Amin A.I., Abulsoud A.I. Circulating miR-148a-5p and miR-21-5p as Novel Diagnostic Biomarkers in Adult Egyptian Male Patients With Metabolic Syndrome // *Can. J. Diabetes*. – 2021. - Vol. 45. – P. 614–618.
- 197 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. – P. 15163.
- 198 Helal H.G., Rashed M.H., Abdullah O.A., Salem T.I., Daifalla A. MicroRNAs (-146a, -21 and -34a) are diagnostic and prognostic biomarkers for diabetic retinopathy // *Biomed. J.* – 2021. - Vol. 44. – S. 242–251.
- 199 Wang L., Li M., Zheng M., Tang Y., Yang Z., Ma G., Zheng Q., Li L., Wang Y., Ma F. et al. Diagnostic value of galectin-3, fractalkine, IL-6, miR-21 and

cardiac troponin I in human ischemic cardiomyopathy // *Aging*. – 2024. - Vol. 16. – P. 10539–10545.

200 Sun H., Chen T., Li X., Zhu Y., Zhang S., He P., Peng Y., Fan Q. The relevance of the non-invasive biomarkers lncRNA GAS5/miR-21 ceRNA regulatory network in the early identification of diabetes and diabetic nephropathy // *Diabetol. Metab. Syndr.* – 2023. - Vol. 15. – P. 197.

201 La Sala L., Mrakic-Spota 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 // *Medical and Health Sciences 1103 Clinical Sciences // Cardiovasc. Diabetol.* – 2019. - Vol. 18. – P. 1–12.

202 Gongol B., Marin T., Zhang J., Wang S.C., Sun W., He M., Chen, S., Chen, L., Li J., Liu J.H. et al. Shear stress regulation of miR-93 and miR-484 maturation through nucleolin // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2019. - Vol. 116. – P. 12974–12979.

203 Wang K., Long B., Jiao J.Q., Wang J.X., Liu J.P., Li Q., Li P.F. MiR-484 regulates mitochondrial network through targeting Fis1 // *Nat. Commun.* – 2012. - Vol. 3. – P. 781.

204 Jia Y.Z., Liu J., Wang G.Q., Song Z.F. miR-484: A Potential Biomarker in Health and Disease // *Front. Oncol.* – 2022. - Vol. 12. – P. 830420.

205 Caparosa E.M., Sedgewick A.J., Zenonos G., Zhao Y., Carlisle D.L., Stefanescu L., Jankowitz B.T., Gardner P., Chang Y.F., Lariviere W.R. et al. Regional Molecular Signature of the Symptomatic Atherosclerotic Carotid Plaque // *Neurosurgery*. – 2019. - Vol. 85. – P. 284–293.

206 Macgrogan D., De La Pompa J.L. DACH1-Driven Arterialization: Angiogenic Therapy for Ischemic Heart Disease? // *Circ. Res.* – 2021. - Vol. 129. – P. 717–719.

207 Berikkyzy A., Duisenbek A., Mukhitdin B., Amanbay B., Kulbayeva M. Circulating biomarkers and their implications in COVID-19 pathogenesis // *In BIO Web of Conferences. EDP Sciences*. – 2024. - Vol. 100. - P. 1008.

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

209 Hissin P.J., Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues // *Anal. Biochem.* – 1976. - Vol. 74. - P. 214–216.

210 Jaskot R.H., Charlet E.G., Grose E.C., Grady M.A., Roycroft J.H., Roycroft J.H. An Automated Analysis of Glutathione Peroxidase, S-Transferase, and Reductase Activity in Animal Tissue // *J. Anal. Toxicol.* – 1983. - Vol. 7. – P. 86–88.

211 Misra H.P., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase // *J. Biol. Chem.* – 1972. - Vol. 247. – P. 3170–3175.

212 Aebi H. Catalase in vitro assay methods. In *Methods Enzymology*. - The Netherlands; Amsterdam: Elsevier, 1984. – 122 p.

- 213 Monje A., Catena A., Borgnakke W.S. Association between diabetes mellitus/hyperglycaemia and peri-implant diseases: Systematic review and meta-analysis // *J Clin Periodontol.* - 2017. - Vol. 44, №6. – P. 636–648.
- 214 Banerjee I., Salomon-Estebanez M., Shah P., Nicholson J., Cosgrove K.E., Dunne M.J. Therapies and outcomes of congenital hyperinsulinism-induced hypoglycaemia // *Diabet Med.* - 2019. - Vol. 36, №1. – P. 9–21.
- 215 Pourhanifeh M.H., Hosseinzadeh A., Dehdashtian E., Hemati K., Mehrzadi S. Melatonin: new insights on its therapeutic properties in diabetic complications // *Diabetol Metab Syndr.* - 2020. - Vol. 12, №30. – P. 103-119.
- 216 Cole J.B., Florez J.C. Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications // *Nat Rev Nephrol.* - 2020. - Vol. 16, №7. – P. 377–390.
- 217 Shi Y., Vanhoutte P.M. Macro- and microvascular endothelial dysfunction in diabetes // *J Diabetes.* - 2017. - Vol. 9, №5. – P. 434–449.
- 218 Krüger-Genge A., Blocki A., Franke R.P., Jung F. Vascular Endothelial Cell Biology: An Update // *Int J Mol Sci.* - 2019. - Vol. 20, №18. – P. 4411.
- 219 Eelen G., Zeeuw P., Treps L. Endothelial Cell Metabolism // *Physiol Rev.* - 2019. - Vol. 98, №1. – P. 3–58.
- 220 Jamwal S., Sharma S. Vascular endothelium dysfunction: a conservative target in metabolic disorders // *Inflamm Res.* - 2018. - Vol. 67, №5. – P. 391–405.
- 221 Dalal P.J., Muller W.A., Sullivan D.P. Endothelial Cell Calcium Signaling during Barrier Function and Inflammation // *Am J Pathol.* - 2020. - Vol. 190, №3. – P. 535–542.
- 222 Paone S., Baxter A.A., Hulett M.D., Poon I. Endothelial cell apoptosis and the role of endothelial cell-derived extracellular vesicles in the progression of atherosclerosis // *Cell. Mol. Life Sci.* - 2019. - Vol. 76, №6. – P. 1093–1106.
- 223 Zein S., Rachidi S., Hininger-Favier I. Is oxidative stress induced by iron status associated with gestational diabetes mellitus? // *J Trace Elem Med Biol.* - 2014. - Vol. 28, №1. – P. 65–69.
- 224 Abilaikhanova N., Okhas I., Tolebayeva Z., Duisenbek A.A., Mukhitdin B., Ussipbek B., Kozhamzharova L. Features of the distribution of the obesity phenotype depending on age // *Fundamental and Experimental Biology.* - 2025. - Vol. 11730, №1. – P. 113-121.
- 225 Kluge M.A., Fetterman J.L., Vita J.A. Mitochondria and endothelial function // *Circ Res.* - 2013. - Vol. 112, №8. – P. 1171–1188.
- 226 Alexander Y., Osto E., Schmidt-Trucksäss A. et al. Endothelial function in cardiovascular medicine: a consensus paper of the European Society of Cardiology Working Groups on Atherosclerosis and Vascular Biology, Aorta and Peripheral Vascular Diseases, Coronary Pathophysiology and Microcirculation, and Thrombosis // *Cardiovasc Res.* - 2021. - Vol. 117, №1. – P. 29–42.
- 227 Joffe J., Hellman J., Ince C., Ait-Oufella H. Endothelial Responses in Sepsis // *Am J Respir Crit Care Med.* - 2020. - Vol. 202, №3. – P. 361–370.

ҚОСЫМША А

Экспериментке қатысушылардың жазбаша келісімі

CONSENTIMIENTO INFORMADO – CONSENTIMIENTO POR ESCRITO DEL PACIENTE

TÍTULO: *Determinación de predictores moleculares del riesgo vascular mediado por la disfunción endotelial en personas con Diabetes Mellitus Tipo 2.*

Yo (Nombre y Apellidos):

- He tenido suficiente tiempo para evaluar y comentar con mi médico mi inclusión, y he recibido una respuesta a todas mis preguntas. También he leído y acepto las condiciones que se explican en esta información. Recibiré una copia de esta hoja y el original se conservará junto con mi historia clínica para indicar mi participación en este estudio.
- Entiendo que mi participación en el estudio es voluntaria y que puedo negarme a participar o retirar mi consentimiento en cualquier momento sin tener que dar explicaciones y sin que eso repercuta en mis cuidados médicos.
- He recibido suficiente información sobre el estudio. He hablado con el profesional sanitario informador:

- La participación en el estudio dará lugar a un tratamiento de datos de salud. Autorizo expresamente que dichos datos se mantengan en el fichero, en tanto no solicite su cancelación, y que sean tratados para la finalidad de la investigación objeto del proyecto. Entiendo que podré acceder, rectificar, cancelar, oponerme al tratamiento de los datos dirigiéndome a Dr.(a):
- Se me ha informado que todos los datos obtenidos en este estudio serán confidenciales y se tratarán conforme establece el Reglamento UE 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD), y a la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales.
- Consiento que las muestras puedan ir etiquetadas con mi código de participación en el estudio y que solamente mi médico pueda asociar dicho código con mis datos de carácter personal y así poder conocer mi identidad.
- Se me ha informado de que la donación/información obtenida sólo se utilizará para los fines científicos del estudio.
- Deseo ☐ no deseo ☐ (marque con una X su opción) que se me comuniquen los resultados de los análisis y de las pruebas a través de Dr.(a)

- Presto libremente mi conformidad para participar en el proyecto titulado *"Determinación de predictores moleculares del riesgo vascular mediado por la disfunción endotelial en personas con Diabetes Mellitus Tipo 2"*.

Firma del paciente	Firma del medico
He leído y entiendo este consentimiento informado. Mis dudas han sido aclaradas. Voluntariamente consiento participar.	Reconozco que he explicado personalmente la naturaleza, objetivos, duración, riesgos y beneficios potenciales del estudio al paciente y que él/ella ha otorgado hoy su consentimiento de forma libre y de carácter revocable.
Apellidos : _____ (mayúsculas)	Apellidos : _____ (mayúsculas)
Nombre: _____ (mayúsculas)	Nombre: _____ (mayúsculas)
Fecha:	Fecha:
Firma:	Firma:

ҚОСЫМША Ә

Зерттеу жобасының қатысушысына арналған ақпараттық парағы

HOJA DE INFORMACIÓN AL (LA) PACIENTE (PARTICIPANTE) DE UN PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Antes de proceder a la firma de este consentimiento informado, lea atentamente la información que a continuación se le facilita y realice las preguntas que considere oportunas.

NOMBRE DEL SUJETO:

NÚMERO DEL SUJETO:

Naturaleza:

Participación en el estudio de investigación.

TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: *"Determinación de predictores moleculares del riesgo vascular mediado por la disfunción endotelial en personas con Diabetes Mellitus Tipo 2".*

Importancia:

La Universidad de Granada, junto con el Hospital Universitario San Cecilio de Granada y los Hospitales de Alta Resolución de Alcalá la Real y de Alcaudete a través del Servicio de Medicina Interna une los 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.

¿CUÁL ES EL PROPÓSITO / OBJETIVO DEL ESTUDIO?

En el presente estudio pretendemos analizar las moléculas que podrían servir como posibles marcadores de la T2DM y predictores de las complicaciones relacionadas con la salud cardiovascular.

¿QUÉ SE ESPERA DE MÍ AL PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?

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

- Usted será citado al laboratorio clínico. Deberá acudir en ayunas. El personal cualificado del laboratorio clínico le sacará una muestra de sangre, de aproximadamente 8 ml, para este estudio. La sangre se guardará a 4°C y se utilizará para los análisis descritos en este estudio, con fines de investigación.
- Se le preguntará si tiene diabetes tipo II y cuanto tiempo ha pasado desde que fue diagnosticada esta enfermedad, 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.
- Se le preguntará su peso, altura, hábitos (fuma/no fuma), y si realiza el ejercicio físico de forma habitual, cuantas horas a la semana, y el tipo de ejercicio. Esta breve entrevista durará 5-10 minutos.
- Por último, en el caso de pacientes diagnosticados con la diabetes mellitus tipo II, el médico especialista que le atiende, anotará el tipo de tratamiento que recibe para la diabetes, sin modificarlo de ninguna manera.

Implicaciones para el paciente:

- En el mismo acto de extracción de la analítica programada se le extraerá una muestra adicional de sangre.
- El participante tendrá que responder a cuestionarios sobre hábitos de vida, lo que le supondrá un tiempo adicional de 5-10 minutos. Esta entrevista se realizará en la consulta programada con su endocrinólogo(a) o su médico(a) internista.

- Los investigadores autorizados podrán acceder a su historia clínica para obtener la información clínica requerida para el estudio.
- Las muestras biológicas obtenidas se utilizarán solamente para este proyecto con el objetivo especificado anteriormente. Los excedentes de muestras serán destruidas.
- La participación es totalmente voluntaria y el paciente puede retirarse del estudio cuando así lo manifieste, sin dar explicaciones y sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.
- Todos los datos de carácter personal obtenidos en este estudio son confidenciales y se tratarán conforme al Reglamento UE 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD), y a la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales. Por ello, es importante que conozca la siguiente información: Además de los derechos que ya conoce (acceso, modificación, oposición y cancelación de datos), ahora puede usted limitar el tratamiento de los datos que sean incorrectos, solicitar una copia o que se trasladen a un tercero los datos que usted ha facilitado para el estudio (portabilidad). Para ejercitar sus derechos, diríjase al investigador principal del estudio.
- La información obtenida se utilizará exclusivamente para los fines específicos de este estudio.

Riesgos de la investigación para el paciente:

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

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

- En primer lugar, aportará una información valiosa para la comunidad científica sobre el pronóstico de T2DM en el tema de salud cardiovascular.
- Si manifiesta su deseo, 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 nos permitirá reunir información para mejorar nuestro conocimiento sobre su enfermedad, lo que podrá permitir desarrollar mejores medios para el diagnóstico y tratamiento de la misma.

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).

Todos los datos carácter personal, obtenidos en este estudio son confidenciales y se tratarán conforme a la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal 15/99.

La donación/información obtenida se utilizará exclusivamente para los fines específicos de este estudio.

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.

Si requiere información adicional se puede poner en contacto con nuestro personal en el teléfono: (Dra. Iryna Rusanova, Investigadora Principal del Proyecto): 958241000, ext. 20196, o al móvil 685263421, o en el correo electrónico: irusanova@ugr.es

ҚОСЫМША Б

Гранада провинциясының биомедициналық зерттеулер этикасы жөніндегі комитеті



DICTAMEN ÚNICO EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE ANDALUCÍA

D. ANTONIO SALMERÓN GARCÍA, EN CALIDAD DE SECRETARIO DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE LA PROVINCIA DE GRANADA (CEIM/CEI GRANADA)

CERTIFICA:

Que este Comité ha evaluado la propuesta del promotor/investigador: , para realizar el estudio titulado:

TÍTULO DEL ESTUDIO: *Disfunción endotelial y diabetes.- Determinación de predictores moleculares del riesgo vascular mediado por la disfunción endotelial en personas con Diabetes Mellitus Tipo 2.*

Código protocolo: DMT2_01

Código Portal de Ética: 1643-N-21

Investigador Principal: IRYNA RUSANOVA RUSANOVA

Centro: Universidad de Granada

Versión de los documentos:

Protocolo	Versión corregida (15/07/21) de fecha 02/09/2021
HIP	Versión corregida (15/07/21) de fecha 02/09/2021
CI	Versión corregida (15/07/21) de fecha 02/09/2021

Y considera que:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y se ajusta a los principios éticos aplicables a este tipo de estudios.
- La capacidad del investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el proyecto.
- El protocolo del estudio contempla de forma adecuada toda la legislación aplicable
- Que los aspectos económicos involucrados en el proyecto, no interfieren con respecto a los postulados éticos.

Por lo que este Comité ha acordado emitir **DICTAMEN FAVORABLE** para la realización del dicho estudio, para lo cual corresponde a la Dirección del Centro/os correspondiente/s determinar si la capacidad y los medios disponibles son apropiados para llevarlo a cabo.

Lo que firmo en Granada

Es responsabilidad del Investigador Principal garantizar que todos los investigadores asociados con este proyecto, conozcan las condiciones de aprobación y los documentos aprobados.

El Investigador Principal debe informar a la Secretaría del CEIm, mediante una enmienda, informe anual de seguimiento o notificación, de

- Cualquier cambio significativo en el proyecto y la razón de ese cambio, incluida una indicación de las implicaciones éticas (si las hubiera)
- Cualquier evento imprevisto o inesperado, como desviaciones de protocolo
- El cambio de Investigador Principal
- Informe anual de seguimiento
- La fecha de finalización del estudio
- Informe final del estudio y/o publicación de resultados

ANEXO I COMPOSICIÓN DEL CEI/CEIM DE GRANADA

El Comité tanto en su composición como en los PNTs, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95)

En dicha reunión del Comité se cumplió el quórum preceptivo legalmente.

En caso de que se evalúe algún proyecto del que un miembro sea investigador/colaborador o se detecte conflicto de interés, este se ausentará de la reunión durante la discusión del proyecto.

Que a dicha sesión asistieron los siguientes integrantes del Comité:

PRESIDENTA: D ^a Aurora Bueno Cavanillas	Catedrática M. Preventiva y S. Pública (UGR)
VICEPRESIDENTA: D ^a Paloma Muñoz de Rueda	Doctora en Ciencias Biológicas - Unidad de Apoyo Investig - HUSCC
SECRETARIO: D. Antonio Salmerón García	F.E.A Farmacia Hospitalaria.- HUCSC
VOCALES:	
Álvarez López, Miguel	F.E.A Cardiología HUVN
Arias Santiago, Salvador	F.E.A. Dermatología UGR (Vinculado HUVN)
Cardona Contreras Jesús	F.E.A. Obstetricia y Ginecología HUCSC
Cobos Vargas, Angel	Enfermero HUCSC.-Respos. Seguridad del Paciente
Cuadros Celorrio, Marta Eugenia	Doctora en Farmacia UGR
Delgado Pérez, Juan Ramón	F.E.A. HUVN (Jefe Sección Oncología
Del Pozo Gavilán, Esperanza	Catedrática Farmacología Clínica UGR
Domenech Gil, Luis Miguel	Enfermero HUCSC

Espínola García Esther	Distrito Granada-Metropolitano (Farmaceutica AP)
Fernández Cabrera, Mariana	Catedrática Facultad Medicina UGR (Biomedicina)
Gálvez Martín, Patricia	Doctora en Farmacia.- BIOIBERICA S.A.U
García Lirola, M.ª Angeles	Distrito Granada-Metropolitano Farmaceutica A.P
García Valverde, M.ª Dolores	Profesora Facultad Derecho.-Doctora en Derecho
Gorlat Sánchez Berta	Enfermera/Supervisora HUVN
Guljosa Campos Pilar	Distrito Granada-Metropolitano (Epidemiología)
Jimenez Pacheco, Antonio	F.E.A Urología.- HUCSC
López Guadalupe Miguel	Miembro LEGO – Prof. titular Hª UGR
Luque Martínez, Francisco M.	Técnico Función Admva.- HUVN
Manzano Manzano Fco. Luis	F.E.A. Medicina Intensiva (HUVN)
Marín Jiménez, Rafael	Técnico Oficina Delegado Protección de datos del SSPA
Martin Díaz, Manuel	F.E.A. Cirugía General HOSP. SANTA ANA MOTRIL
Martínez Galán Joaquina	F.E.A. Oncología Médica HUVN
Martínez García, Encarnación	Matrona.- Hospital Alta Resolución Guadix
Martínez González Luis Javier	Doctor en Ciencias Biológicas. Investigador GENYO
Martínez Tapias Jesús	F.E.A. Docum. Clínica.- HUVN
Molina Rivas, Esther	Profesora Facultad Ciencias Salud (Enfermera)
Morales Romero Antonio	Enfermero.- Distrito Granada-Metropolitano
Moron Romero, Rocío	F.E.A. Farmacia Hospitalaria HUCSC
Mozas Moreno Juan	F.E.A. Obstétrica y Ginecología UGR Vinculado HUVN
O'Valle Ravassa, Francisco Javier	Vicerrectorado de Investigación UGR
Pérez Fernández , Antonio Juan	C. Ética Asistencial AGS Sur
Romero Coteló Juan	Médico de Familia Unidad del Dolor HUVN
Sánchez López, José Darío	F.E.A Cirugía Oral y Maxilofacial.- HUVN
Uberos Fernández Jose	F.E.A. Pediatría HUCSC

Que dicho Comité, está constituido y actúa de acuerdo con la normativa vigente y las directrices de la Conferencia Internacional de Buena Práctica Clínica.

Lo que firmo en Granada a

ҚОСЫМША В

Этикалық комитет отырысының хаттамасы

«ӨП-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ
ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ»
КОММЕРЦИАЛЫҚ ЕМЕС АҚШОНЕРЛІК ҚОҒАМЫ

ҒЫЛЫМ ЖӘНЕ ИННОВАЦИЯЛЫҚ
ҚЫЗМЕТ ЖӨНІНДЕГІ ДЕПАРТАМЕНТІ
ЖЕРГІЛІСТІ ЭТИКАЛЫҚ КОМИТЕТ

ЖЭК
ЛЭК

НЕКОММЕРЧЕСКОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АЛЫ-ФАРАБИ»
ДЕПАРТАМЕНТ ПО НАУКЕ
И ИННОВАЦИОННОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ
ЛОКАЛЬНЫЙ ЭТИЧЕСКИЙ КОМИТЕТ

От _____ № 592

На № _____ от _____

Жергілісті Этикалық комитетінің қорытындысы

1	Докторанттық Т.А.А.	Дүфсенбек Аяулы Агабековты
2	Докторантура мамандығы (білім беру бағдарламасы)	«М06102 - Биологияны»
3	Докторантураға оқу өзеңі	2021-2024 жж.
4	Диссертация тақырыбы, бекіту мерзімі	«2 типті қант диабетіндегі қаныту және тиыыр жүйесінің күйінен байланысты ксілмелік микроРНК ролін зерттеу», Докторлық диссертацияның тиымырбын түзету: 13.09.2023 ж. №3666-0/3
5	Ғылыми кінәліліктер туралы деректер – Т.А.А. (болған жағдайда) жұмыс оры және лауазымы, ғылыми деректері, апаратыны	Отандық ғылыми кенес беруші: «А-Фараби атындағы ҚазҰУ», биология ғылымдарының кандидаты, профессор м.а., Аблайханова Нұржанові Тауғановна; Шетелдік ғылыми кенес беруші: Гранада университеті (Гранада қ., Испания), PhD, профессор Русланова Ирина
6	Зерттеу объектілері	Адамның перифериялық қаны, қан плазмасы және сарысуы.
7	Ғылыми зерттеулерді жоспарлау, басалау, іріктеу және жүргізу процесіндегі бұлушылықтар	Анықталған жоқ
8	Ғылыми зерттеулер нәтижелерін тарату процесіндегі бұлушылықтар	Анықталған жоқ
9	Зерттеу объектілерінің (тірі табиғат объектілері мен мекендеу ортасы болған жағдайда) теориялық, тиыырбалық сұрықтары, құрықтары, қауіпсіздігі мен алуқатын көреу қауіп жүргізілді?	Зерттеу үшін биологиялық материал үлгілері тек қатысушылардың толық ақпараттыңарызған және ерікті келісімінен кейін, арнайы жауапқа келісімеге қол қойылған жағдайда ғана алынды. Үлгілерді жинау үлгісік мезгірлі міндетіңарының қатысуымен жүзеге асырылды. Алынған деректер құпия түрде қарастырылып, статистика қатысты барлық тапалтар қапия сақталды.
10	Мақұлдау нөмірі	ИРБ – А1694
11	Мақұлдау күні	29.05.2025

ЖЭК төрағасы _____ Г.М. Усаткина

ЖЭК катібісі _____ М.А. Шауқаров



ҚОСЫМША Г

Диссертациялық жұмыстың нәтижелерін оқу үрдісіне ендіру актісі

**ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
ӘЛ-ФАРАБИ атындағы ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ**

БЕКІТЕМІН



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

Биология және биотехнология факультетінің комиссия құрамы: Курманбаева Меруерт Сакеновна - биология және биотехнология факультетінің деканы, деканның ғылыми-инновациялық қызмет және халықаралық байланыстар жөніндегі орынбасары – Датхабаева Гаухар Кубеновна, биофизика, биомедицина және нейробиология кафедрасының меңгерушісі - Кустубаева Альмира Мәжесовна, биофизика, биомедицина және нейробиология кафедрасының әдістемелік бюросының төрайымы - Бактыбаева Ләйля Кыргызбаевна, осы акт 2024-2025 оқу жылында биофизика, биомедицина және нейробиология кафедрасында б.ғ.к., доцент Срашлова Гульфия Турапованың сабағына докторант Дүйсенбек Аяулы Ағабекқызының «2 типті қант диабетіндегі қабыну және тамыр жүйесінің күйімен байланысты плазмалық микроРНК ролін зерттеу» тақырыбындағы ғылыми-зерттеу жұмыстарының нәтижелері енгізілді.

№ п/п	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 қысқаша мазмұны
1	«2 типті қант диабетіндегі қабыну және тамыр жүйесінің күйімен байланысты плазмалық микроРНК ролін зерттеу» ҒЗЖ нәтижелері «7M05102- Биомедицина» мамандығы мамандығы бойынша 2-курс бакалавр студенттерінің “Қолданбалы эндокринология” (9 кредит) енгізілді.	Дәрістер – 1 сағат 2 типті қант диабетінде инсулин гормонының ағзадағы молекулалық процестермен байланысы.	Бұл дәрісте студенттер инсулин гормонының жасуша ішіндегі әсер ету жолдарын, глюкозаны тасымалдау, гликоген түзілуі, май алмасуы сияқты процестерді молекулалық деңгейде қалай реттейтінін үйренді. Сонымен қатар, 2 типті диабет кезінде инсулинге төзімділік дамып, осы процестердің бұзылатыны және бұл жағдайдың социалды қабынумен, микроРНК-лардың белсенуімен қалай байланысатыны түсіндірілді.

		Семинар - 1 сағат Гормоналды өзгерістер мен микроРНК	Семинар барысында студенттер қант диабеті кезінде туындайтын гормоналды өзгерістер (инсулин, лептин, адипонектин, кортизол және т.б.) мен микроРНК экспрессиясы арасындағы байланыстарды талдады. Мысалы, кейбір микроРНК-лар гормон деңгейіне жауап ретінде белсеніп, қабыну мен жасушааралық сигналдарды өзгертеді. Талқылау барысында студенттер микроРНК- лардың диагностика мен терапиядағы мүмкіндіктерін де қарастырды.
--	--	--	--

Осы актінің материалдары биология және биотехнология факультетінің әдістемелік бюросының отырысында қаралды (Хаттама № _____ 2025 ж.)

Комиссия мүшелері:

Биология және биотехнология
факультетінің деканы, б.ғ.д.,
профессор

 М.С. Курманбаева

Деканның ғылыми-инновациялық
қызмет және халықаралық байланыстар
жөніндегі орынбасары, б.ғ.к., доцент

 Т.К. Датхаева

Биофизика, биомедицина және
нейроғылым кафедрасының
меңгерушісі

 А.М. Кустубаева

Биофизика, биомедицина және
нейроғылым кафедрасының
методбүро төрайымы

 Д.К. Бастыбаева

**ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
ӘЛ-ФАРАБИ атындағы ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ**

БЕКІТЕМІН



Биология және биотехнология
факультетінің деканы б.ғ.д.,
профессор
Курманбаева М.С.

2025 ж.

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

Биология және биотехнология факультетінің комиссия құрамы: Курманбаева Меруерт Сағеновна - биология және биотехнология факультетінің деканы, деканның ғылыми-инновациялық қызмет және халықаралық байланыстар жөніндегі орынбасары – Датхабаева Гаухар Кубеновна, биофизика, биомедицина және нейроғылым кафедрасының меңгерушісі - Кустубаева Альмира Мұсаевна, биофизика, биомедицина және нейроғылым кафедрасының адистемелік бюросының төрайымы - Бақтыбаева Ләйлія Қырғызбаевна, осы акт 2024-2025 оқу жылында биофизика, биомедицина және нейроғылым кафедрасында б.ғ.к., профессор Аблайханова Нұржанит Татухановнаның сабағына докторант Дүйсенбек Ақулы Ағабекқызының «2 типті қант диабетіндегі қабылу және тамыр жүйесінің күйімен байланысты плазмалық микроРНК ролін зерттеу» тақырыбындағы ғылыми-зерттеу жұмыстарының нәтижелері енгізілді.

№ п/п	Енгізу түрі (жаңа курс, арнайы курс, дәріс бөлімінің атауы, зерттеу жұмыстары, енгізулер, оқу құралдары және т. б.); курс, мамандық	Енгізу көлемі (жазбас, дәрістік сағат саны)	Енгізілген жұмыстың қысқаша мазмұны
1	«2 типті қант диабетіндегі қабылу және тамыр жүйесінің күйімен байланысты плазмалық микроРНК ролін зерттеу» ГЗЖ нәтижелері 8D05102 -Биомедицина мамандығы бойынша 1-курс магистратура студенттерінің “Зат алмасу және энергияның реттелуі” (5 кредит) енгізілді.	Дәрістер – 1 сағат Зат алмасу процестерінің бұзылуынан туындайтын аурулар.	Докторанттар дәріс барысында зат алмасудың негізгі бағыттарын - көмірсу, май, ақуыз және минералды алмасуды, сондай-ақ оларды реттейтін гормоналды механизмдерді қайталап бекітті. Негізгі назар қант диабеті, метаболикалық синдром, семіздік сияқты аурулардың патогенезіне аударылды. Әсіресе, 2 типті қант диабеті және оның ағзаның түрлі жүйелеріне (тамырлық, жүйкелік, бүйрек, қору) әсері келінен қарастырылды. Сонымен қатар, докторанттар метаболизм бұзылыстары мен созылмалы қабыну процестерінің, тотығу стресі мен сигналдық жолдардың өзара байланысын талқылады.

		Семинар – 2 сағат Қант диабеті және зат алмасу.	Семинар барысында глюкоза алмасуындағы негізгі механизмдерге, инсулин секретциясы мен әрекетінің бұзылу себептеріне, сондай-ақ инсулинге төзімділіктің жасушалық деңгейдегі әсерлеріне назар аударылды. Май алмасуының өзгерістері, липидтік профильдің бұзылуы және бұл жағдайлардың диабет асқынуларын дамытудағы ролі қарастырылды. Сонымен қатар, зат алмасу бұзылыстарының клиникалық көріністері мен зерттеу әдістерін практикада қолдану мәселелері қарастырылып, клиникалық жағдайларды талдау жүргізілді.
--	--	---	---

Осы актінің материалдары биология және биотехнология факультетінің әдістемелік бюросының отырысында қаралды (Хіттами № _____ 2025 ж.)

Комиссия мүшелері:

Биология және биотехнология
факультетінің деканы, б.ғ.д.,
профессор

 М.С. Құрманбаева

Деканның ғылыми-инновациялық
қызмет және халықаралық байланыстар
жөніндегі орынбасары, б.ғ.к., доцент

 Г.К. Датхабаева

Биофизика, биомедицина және
нейроғылым кафедрасының
менгерушісі

 А.М. Кустубаева

Биофизика, биомедицина және
нейроғылым кафедрасының
методбүро төрайымы

 Л. К. Бактыбаева