

Дүйсенбек Аяулы Ағабекқызының
«8D05102-Биомедицина» білім беру бағдарламасы бойынша философия
докторы (PhD) дәрежесін алу үшін дайындалған диссертациясына

АНДАТПА

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

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Бұл диссертациялық жұмыс 2-типті қант диабеті кезінде дамидың қабыну 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 асқинулардың патогенезіне қосатын үлесіне ерекше назар аударылады. Сонымен қатар, микроРНК-лардың биомаркерлік және болжамдық маңыздылығы бағаланып, олардың диабетпен байланысты макро-және микротамырлық асқинуларды ерте диагностикалаудағы және алдын алудағы әлеуеті қарастырылады.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. 2-типті қант диабеті - жүрек-қан тамырлары асқинулардың 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. Қазіргі қолданыстағы диагностикалық әдістер тамырлық асқинулардың даму қаупін ерте кезеңде анықтауға мүмкіндік бермейді, бұл аурудың асқинуына және науқастардың өмір сапасының төмендеуіне алып келеді. Осыған байланысты, 2-типті қант диабеті кезінде тамырлық асқинулардың 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 қабыну процестерімен, эндотелий дисфункциясымен және тотығу стресімен өзара байланысын дәлелдеп, олардың жүрек-қантамыр жүйесінің патогенезінде шешуші рөл атқаратынын көрсетті. Атап айтқанда, NF-κB және NLRP3-инфламмасома сияқты негізгі сигналдық жолдар микроРНК арқылы реттеліп, қабыну жауаптарының күшеюіне немесе бәсеңдеуіне ықпал етеді. 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. Сонымен қатар, қабыну медиаторлары 2-типті қант диабеті кезінде тұрақты жоғары деңгейде болады, бұл созылмалы

қабыну процестерінің дамуын және оның жүрек-қантамыр жүйесіне теріс әсерін растайды. Осы 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 бес міндет 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

калыпты 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 қан тамырларының қызметін реттеуге бағытталған жаңа терапиялық тәсілдерді дамытуға негіз бола алады. Молекулалық және биохимиялық маркерлерді қамтитын 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 магистратура 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 өз үлесін қосты.

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 макрамырлық асқынулардың дамуындағы ролі 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.