

АННОТАЦИЯ

диссертации на соискания степени доктора философии (PhD) по образовательной программе «8D05102-Биомедицина»

Дүйсенбек Аяулы Агабекқызы

«Изучение роли плазматических микроРНК связанных с воспалением и состоянием сосудистой системы при сахарном диабете 2 типа»

Общая характеристика работы. Данная диссертационная работа посвящена всестороннему изучению экспрессии плазменных микроРНК, тесно связанных с воспалительными процессами и сосудистой дисфункцией при сахарном диабете 2 типа. В ходе исследования особое внимание уделяется роли микроРНК в нарушении функции эндотелия, усилении окислительного стресса и влиянию этих факторов в патогенез сосудистых осложнений. Кроме того, оценивается биомаркерное и прогностическое значение микроРНК, а также их потенциал в ранней диагностике и профилактике макро- и микрососудистых осложнений, связанных с диабетом.

Актуальность темы исследования. Сахарный диабет 2 типа - одно из наиболее распространённых хронических заболеваний, характеризующееся развитием сердечно-сосудистых осложнений. Макрососудистые нарушения, такие как ишемическая болезнь сердца, инсульт и периферическое артериальное заболевание, значительно повышают риск смертности среди пациентов с диабетом 2 типа. Существующие в настоящее время диагностические методы не позволяют выявлять риск развития сосудистых осложнений на ранних стадиях, что способствует прогрессированию заболевания и снижению качества жизни пациентов. В связи с этим изучение механизмов развития сосудистых осложнений при сахарном диабете 2 типа и определение новых биомаркеров является одной из актуальных научных и клинических задач.

В последние годы особое внимание уделяется молекулам микроРНК, которые играют важную роль в регуляции генной экспрессии как на внутриклеточном, так и на внеклеточном уровне. Исследования показали взаимосвязь микроРНК с воспалительными процессами, эндотелиальной дисфункцией и окислительным стрессом, что подтверждает их ключевое значение в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. В частности, такие основные сигнальные пути, как NF-κB и NLRP3-инфламмосома, регулируются микроРНК, способствуя усилению или ослаблению воспалительных реакций.

Окислительный стресс играет важную роль в развитии сахарного диабета 2 типа. Дисбаланс антиоксидантных систем в клетках усиливает перекисное окисление липидов и приводит к снижению активности супероксиддисмутазы и каталазы, что способствует повреждению сосудистых стенок и развитию эндотелиальной дисфункции. При этом уровни воспалительных медиаторов при сахарном диабете 2 типа остаются стабильно высокими, что

свидетельствует о хроническом воспалительном процессе и его негативном влиянии на сердечно-сосудистую систему.

Результаты подобных исследований могут послужить основой для разработки новых диагностических и прогностических методов, позволяющих оценивать риск развития сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.

Цель исследования. Определение новых прогностических критериев путем изучения взаимосвязи между экспрессией плазматических микроРНК, окислительным стрессом и воспалительными маркерами при развитии макрососудистых осложнений при сахарном диабете 2 типа.

Для достижения цели были поставлены следующие пять задачи:

1. Определить относительный уровень экспрессии основных микроРНК (hsa-miR-21-5p, hsa-miR-126-3p, hsa-miR-146a-3p, hsa-miR-155-5p, hsa-miR-210-3p, hsa-miR-484-5p и hsa-miR-27a-3p), а также биохимические показатели у пациентов с сахарным диабетом 2 типа (с сосудистыми осложнениями и без них) и в контрольной группе.

2. Изучить различия в уровнях активности маркеров окислительного стресса (LPO, AOPP, NOx) и антиоксидантных ферментов (SOD, CAT, GPx, GRd, G6PD, соотношение GSSG/GSH), связанных с наличием сосудистых осложнений.

3. Оценить уровень воспалительных цитокинов (IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, MCP-1, TNF- α) в плазме крови у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и определить их связь с развитием сосудистых осложнений.

4. Выявить микроРНК, демонстрирующие наивысшую корреляцию с маркерами воспаления и окислительного стресса, и оценить их диагностическую значимость;

5. Определить влияние пола, липидного профиля и других клинических факторов на уровень экспрессии микроРНК и содержание воспалительных маркеров у пациентов с сахарным диабетом 2 типа.

Объекты исследования: В качестве объектов исследования использовались образцы периферической крови пациентов с сахарным диабетом 2 типа (с сосудистыми осложнениями и без них), а также образцы крови здоровых лиц, включённых в контрольную группу.

Методы исследования. В исследовании для определения уровней глюкозы, креатинина, триглицеридов, холестерина (общего, ЛПНП, ЛПВП), инсулина и HbA_{1c} применялись биохимические методы. В ходе диссертационной работы были собраны образцы биоматериала, определены антропометрические показатели, проведён анализ липидного профиля (ферментативные методы), флуоресцентная спектроскопия (Bio-Tek Instruments Inc., Winooski, VT, USA), спектрофотометрия, УФ-спектрофотометрия, иммуноферментный анализ (ИФА), выделение нуклеиновых кислот, обратная транскрипция ПЦР и количественная ПЦР в режиме реального времени.

Статистическая обработка данных выполнялась с использованием IBM SPSS Statistics for MacOS, версия 20.0, и GraphPad Prism; применялись методы

проверки нормальности распределения, дисперсионного анализа, корреляционного и логистического регрессионного анализа, а также построения ROC-кривых.

Научная новизна исследования:

Наиболее значимыми научными результатами диссертации являются:

Впервые проведено комплексное исследование особенностей экспрессии плазменных микроРНК, связанных с развитием макрососудистых осложнений у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. Установлено, что окислительный стресс и хронические воспалительные процессы, снижающие активность ферментов антиоксидантной системы и приводящие к накоплению продуктов окислительного повреждения, оказывают влияние на уровень микроРНК.

Определены микроРНК, находящиеся в тесной взаимосвязи с маркерами воспаления и показателями окислительного стресса, и обоснована их функциональная роль в патогенезе сосудистых осложнений. Впервые предложена комплексная модель прогнозирования риска развития диабетических ангиопатий на основе объединения молекулярно-биохимических показателей. Полученные в ходе исследования данные подтвердили клиническую значимость микроРНК в качестве диагностических и прогностических биомаркеров, а также обозначили перспективу их внедрения в систему раннего выявления и профилактики сосудистых осложнений при сахарном диабете 2 типа.

Теоретическая значимость работы.

МикроРНК играют важную роль в регуляции окислительного стресса и эндотелиальной дисфункции, поэтому их рассмотрение в качестве маркеров для оценки степени развития сахарного диабета 2 типа позволяет обеспечить персонализированное наблюдение за пациентами и выбрать оптимальную тактику лечения для профилактики сердечно-сосудистых осложнений.

Полученные результаты расширяют представления о молекулярных механизмах патогенеза сосудистых осложнений. Циркулирующие микроРНК и маркеры окислительного стресса участвуют в развитии эндотелиальной дисфункции при гипергликемии и в патофизиологии сахарного диабета 2 типа. Они могут служить предикторами сосудистых повреждений и сердечно-сосудистых осложнений. Эти маркеры позволяют прогнозировать течение заболевания ещё до появления сердечно-сосудистых осложнений, что может способствовать профилактике сосудистых повреждений и снижению риска смертности от сердечно-сосудистых заболеваний среди пациентов с диабетом.

Эпигенетические исследования подтверждают влияние факторов внешней среды на регуляцию метаболических процессов. В этом контексте микроРНК обладают потенциалом в качестве физиопатологических биомаркеров, способных отражать динамику заболевания и эффективность проводимой терапии. Настоящее исследование подтверждает клиническую значимость молекулярных биомаркеров и формирует теоретическую основу для дальнейшего развития методов персонализированного мониторинга пациентов с сахарным диабетом 2 типа.

Практическая ценность работы:

Результаты данного исследования могут быть использованы для раннего выявления групп пациентов с сахарным диабетом 2 типа, имеющих высокий риск развития макрососудистых осложнений. Изменения экспрессии микроРНК, связанных с защитными механизмами эндотелия и воспалительными процессами, могут стать основой для разработки новых терапевтических подходов, направленных на регулирование функции сосудов. Прогностическая модель, включающая молекулярные и биохимические маркеры, поможет более точно оценивать риск сосудистых осложнений и способствовать совершенствованию профилактических стратегий в клинической практике.

Результаты исследования были внедрены в курс лекции и семинаров по дисциплине: 1 курса докторантуры по образовательной программе «8D05102 - Биомедицина» по дисциплине «Регуляция обмена веществ и энергии» и программы 2 курса магистратуры образовательной программы «7M05102 - Биомедицина» по дисциплине «Прикладная эндокринология» кафедры биофизики, биомедицины и нейронауки факультета биологии и биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби.

Основные положения, выносимые на защиту:

- у пациентов с сахарным диабетом 2 типа были изучены уровни экспрессии микроРНК miR-21-5p, miR-126a-3p, miR-146a-3p, miR-155-5p, miR-210-3p, miR-484-5p и miR-27a-3p, а также проанализирована их связь с развитием макрососудистых осложнений;

- были выявлены различия в уровне активности маркеров окислительного стресса (LPO, AOPP, NOx) и антиоксидантных ферментов (SOD, CAT, GPx, GRd, G6PD, соотношение GSSG-GSH) между пациентами с сахарным диабетом 2 типа без осложнений и с сосудистыми осложнениями;

- установлена связь между нарушениями воспалительных процессов и изменениями экспрессии микроРНК, а также доказано их участие в развитии сосудистых осложнений;

- определены ключевые микроРНК, которые демонстрируют высокую корреляцию с маркерами воспаления и окислительного стресса, что подтвердило их патогенетическую значимость;

- на основе молекулярных и биохимических показателей разработана прогностическая модель, позволяющая оценивать риск развития сосудистых осложнений.

Личный вклад диссертанта в обобщение результатов научной работы, рекомендуемой к защите. Результаты диссертационной работы получены при непосредственном участии автора. Исследователь внес вклад в разработку концепции исследования, определение его целей и задач, а также в планирование экспериментов. Автор принимал участие в проведении исследований, обработке и анализе полученных данных, а также в подготовке научных публикаций.

Уровень исследования темы. Диссертационные исследования были

проведены на физиологическом, биохимическом и эпигенетическом уровнях.

Связь работы с программой научных исследований.

Диссертационная работа выполнена в рамках научных программ, направленных на изучение патогенеза сосудистых осложнений при 2-м типе сахарного диабета на молекулярном и биохимическом уровнях. В ходе исследования рассматривалось влияние окислительного стресса, воспалительных процессов и нарушений антиоксидантной защитной системы на экспрессию микроРНК, а также их роль в развитии дисфункции эндотелия и макрососудистых осложнений. Работа соответствует научным задачам, направленным на оценку биомаркерного и прогностического значения микроРНК, а также на разработку диагностической модели, позволяющей прогнозировать риск развития сосудистых осложнений на их основе.

Диссертационная работа выполнялась в рамках международного проекта (Grant for the Research Project by the Fundación Eugenio Rodríguez Pascual, Call 2021, CIBERfes (CB16-10-00238, ISCIII)) в лаборатории молекулярной биологии Центра биомедицинских исследований Университета Гранады под руководством профессора, PhD Русановой Ирины. Часть работы была реализована на базе лаборатории «Биофизики, биомедицины и хронобиологии» кафедры биофизики, биомедицины и нейронауки факультета биологии и биотехнологии Казахского национального университета имени аль-Фараби под научным руководством отечественного научного руководителя профессора Н.Т. Аблайхановой.

Апробация работы. Основные положения диссертации и результаты исследований были представлены на следующих международных научных конференциях и симпозиумах:

- Международная научная конференции студентов и молодых ученых «ФАРАБИ ЭЛЕМИ» (2021-2024 гг, Алматы, Қазақстан);
- EUROMIT 2023 (Bologna, Italy);
- BALS-2024 workshop (Granada, Spain);
- BIO Web of Conferences 100, 01008 (2024).

Публикации. Результаты исследования были опубликованы в 14 научных работах, в том числе 2 статьи в базе данных Scopus и Web of science Antioxidants (IF 7.675, Q1), International Journal of Molecular Sciences (IF 6.2, Q1). 4 статьи в рекомендуемых изданиях комитетом по контролю в сфере науки и высшего образования (МНВО РК КОКСНВО), 8 тезисах в сборниках материалов зарубежных и международно-республиканских конференций.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из 130 текстовых страниц, нормативных ссылок, обозначений и сокращений, вводной части, обзора литературы, материалов и методов исследования, а также результатов исследования и их обсуждения, заключения, включает в себя список литературы из 226 использованных источников, 11 таблиц и 31 рисунка.