

Үсіпбек Ботагөз Абдыханқызының
«6D060700-Биология» мамандығы бойынша философия докторы (PhD)
дәрежесін алу үшін дайындалған диссертациясына
АҢДАТПА
«Митохондрия метаболизмінің өзгерісіндегі
тотығу стресінің рөлін зерттеу»

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Жұмыс митохондрия метаболизмі өзгерісіндегі тотығу стресінің рөлін зерттеуге арналған. Соның ішінде сульфидтік метаболизм жолы мен CoQ биосинтезінің өзгерісі.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. Барлық аэробты организмдердің тіршілігі үшін оттегі қажет. Ұлпалар тұтынатын оттегінің шамамен 5%-ы бос радикалдарға айналады. Оттегінің белсенді формалары, яғни бос радикал ретінде жасушада үнемі өндіріліп отырады, бірақ олардың деңгейі төмен болғандықтан жасуша оларды антиоксидантты жүйенің көмегімен белсенділігін тежейді. Бірақ, бос радикалды тотығу қарқындылығының жоғарылауынан түрлі факторлардың патогенді әсеріне алып келеді. Нәтижесінде жасушалардың биохимиясы бұзылып, тотығу стресі пайда болады. Оттегінің белсенді формалары органдар мен ұлпаларға әр түрлі дәрежеде әсер етеді және тотығу стресс процесінде әр түрлі тұрақтылықты көрсетеді.

Бос радикалдардың көбеюі АТФ деңгейінің төмендеуіне және жасушалардың энергия тапшылығына әкеледі. Нәтижесінде митохондрияның тыныс алу тізбегіндегі кешендердің, онда жүретін бірқатар биосинтез процестері бұзылады. Сонымен бірге митохондриялық дисфункция және ұлпаларда митохондриялық мутациялардың жинақталуы қартаю үдерісіне және нейродегенерациямен сипатталатын бірқатар аурулардың патогенезіне алып келеді. Соның бір процесі сутек сульфиді метаболизм жолы мен CoQ биосинтезі болып табылады. CoQ биосинтезінің негізгі элементінің бірі коэнзим Q10. Ол - митохондриялық тыныс алу тізбегінің құрамдас бөлігі. Коэнзим Q10 биосинтезінің бұзылуы бірқатар митохондриялық ауруларға әкелуі мүмкін. Митохондриялық аурулар - митохондриялар мен ұлпалардың тыныс алуының құрылымы мен қызметінің бұзылуынан туындаған тұқым қуалайтын аурулардың және патологиялық жағдайлардың күрделі гетерогенді тобы. Соның ішінде белгілі аурулардың бірі - Лей синдромы. Коэнзим Q10 тапшылығы кезінде күкіртті сутек метаболизм шешуші рөл атқарады. Сүтқоректілер клеткаларындағы сульфидтер алмасуына транссульфурация (биосинтетикалық) және күкіртті сутек (H_2S) тотығу (катаболикалық) жолдары жатады. H_2S тотығуының бұзылуы коэнзим Q жетіспеушілігінде тотығу стресіне ықпал етуі мүмкін немесе Q коферменті тапшылығында ұлпалардың ерекшелігінің патогенезінде тотығу стресімен синергетикалық рөл атқаруы мүмкін. Клеткадағы оттектің белсенді түрлері әсерінен туындайтын жағымсыз өзгерістерді бейтараптайтын қорғаныстық жүйе компоненті глутатион болып табылады. Глутатион клетка тіршілігі үшін маңызы зор. Митохондриядағы оттектің белсенді формаларының деңгейінің модуляциясы арқылы глутатион

жасушаның бұзылу процесіне әсер етуі мүмкін. Митохондрияда глутатион деңгейінің азаюы немесе жойылуы оттегінің белсенді формаларының және белсенді азот деңгейінің жоғарылауына, осы органеллалардың дисфункциясына әкеледі, бұл жасуша өлімі процесінің апоптоздан некрозға ауысуына әкелуі мүмкін.

Осындай процестердің митохондрия метаболизміне әсері бірқатар аурулармен жетіспеушіліктерді тудырады. Қазіргі таңда алдын алу мақсатында көптеген клиникаға дейінгі емдеу алды терапиялық жолдар қолданылуда. Оның бірі зерттелініп отырған нысанның бір органына оң әсерін берсе, келесі органына оң әсерін бермеуі мүмкін. Тотығу стресі нәтижесінде туындайтын митохондрия метаболизмі дисфункциясы нәтижесінде көптеген митохондриялық аурулардың пайда болуы және оның емінің болмауы дүниежүзін толғандырып отыр.

Зерттеудің мақсаты. CoQ жетіспеушілігі бар тышқан топтарының рациондарына күкіртті амин қышқылдардың мөлшеріне диеталық шектеулер қоюмен немесе N-ацетил-L-цистеинді қолданып өңдеу жүргізу арқылы сульфидтік метаболизм жолындағы өзгерістерді анықтау және Кешен I жетіспеушілігі бар тышқан топтарының глутатион жүйесінің артуын бағалау.

Мақсатқа жету үшін келесідей негізгі **міндеттер** қойылды:

1. CoQ жетіспеушілігі бар тышқан топтарының рациондарына күкіртті амин қышқылдардың мөлшеріне диеталық шектеулер қоюмен немесе *N-ацетил-L-цистеинді* қолданып өңдеу жүргізу арқылы өмір сүрудің пайыздық көрсеткіштерін айқындау.

2. Мидың митохондрия фракциялары мен бүйрек, бұлшықет ұлпаларындағы сутекті сульфидтік метаболизм жолының алғашқы ферменті - сульфидхинон оксиредуктаза (SQOR) деңгейінің өзгеруіне, цистатионин γ-лиаза (CSE) деңгейіне және цистатионин-β-синтаза (CBS) деңгейіне баға беру.

3. Жалпы глутатион өзгерісін, соның ішінде глутатион ферменттерінің (GPx және GRd) деңгейін анықтау.

4. Ми, бүйрек және бұлшықет ұлпаларындағы SAAR және NAC-пен өңдеуден кейінгі CoQ9, CoQ10, DMQ9 деңгейлеріндегі және DMQ9/CoQ9 қатынасындағы айырмашылықтарын салыстыру және митохондрия тыныс алу тізбегі кешендерінің қалыптасуы мен тұрақтылығын бағалау.

5. Кешен I жетіспеушілігі бар тышқан топтарының өмір сүрудің пайыздық көрсеткіштеріне баға беру және жалпы глутатион жүйесін, оның ішінде ферменттер (GPx және GRd) деңгейін анықтау.

Зерттеу материалдары. CoQ жетіспеушілігі және Кешен I жетіспеушілігі бар тышқан модельдері қолданылды.

Зерттеу әдістері. Жануарлардың тәжірибелік үлгісін алу, Вестерн-блоттинг анализі, кері фазалық жоғары эффективті сұйық хроматография, Нативті электрофорез әдісі, флуоресцентті спектроскопия (Bio-Tek Instruments Inc., Winooski, VT, USA), спектрофотометрия (NanoDrop), статистикалық талдау әдістері (GraphPad Prism) пайдаланылды.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы. Тұңғыш рет *in vivo* жағдайында клиникаға дейінгі терапия мақсатта CoQ жетіспеушілігі бар тышқан моделінің

рационына күкіртті амин қышқылдардың мөлшеріне диеталық шектеулер қоюмен немесе N-ацетил-L-цистеинмен өңдеу арқылы зерттеу жүргізілді. CoQ жетіспеушілігі бар тышқандардың ұлпаларына кейбір жағдайда әсері бірдей болмайтындығы белгілі болды. Олардың тиімді мөлшерлері мен қолдану уақыты анықталды. Алынған мәліметтер негізінде терапиялық жолды жасау мақсатында зерттеулер жүргізілді. In vivo жағдайында жасалған күкіртті амин қышқылдардың мөлшеріне диеталық шектеулер қоюмен немесе N-ацетил-L-цистеинмен өңдеу арқылы сульфидті метаболизм жолының бірінші ферменті SQOR деңгейінің бұлшықет ұлпаларында жоғарылауы, ал бүйрек ұлпаларында N-ацетил-L-цистеинмен өңдеу нәтижесінде жоғарылағандығын байқалды. Кешен I жетіспеушілігі бар тышқан моделінің ми ұлпаларында *Ndufs4*^{+/+} бақылау тышқан топтарына қарағанда SQOR деңгейі жоғарылауы алғашқы рет көрсетілді және жалпы глутатион деңгейінің және GSSG/GSH қатынасының жоғарылауы анықталды.

Жұмыстың теориялық маңызы. Диссертациялық жұмыстың нәтижелері, әсіресе, соның ішінде алғаш рет CoQ жетіспеушілігі бар тышқан топтарына тәжірибе жүргізу кезінде тамақтану рациондарына күкіртті амин қышқылдардың (SAAR) мөлшеріне және N-ацетил-L-цистеинмен (NAC) диеталық шектеулер ми, бүйрек, бұлшықет ұлпаларына әсері анықталды, ал кешен I жетіспеушілігі бар тышқан топтарына жасалған тәжірибелер глутатион жүйесінің арта түскендігін көрсетті. Алынған зерттеу нәтижелері қолданылған өңдеулерге сараптама жүргізуге бірден-бір мүмкіншілік береді және осы мәселелерге арналған ізденістердің теориялық негізін толықтыра түсті.

Жұмыстың практикалық құндылығы. Алынған мәліметтер негізінде CoQ жетіспеушілігі бар тышқандарды емдеудің және кешен I жетіспеушілігі бар тышқандардың алдын алудың жолдарын қалыптастыру. Зерттеулер барысында тышқандардың тамақтану рациондарына күкіртті амин қышқылдардың (SAAR) мөлшерін және N-ацетил-L-цистеинмен (NAC) диеталық шектеулермен өңдеу жасау *Coq9*^{R239X} тәжірибелі топ тышқандарына қосымша да, дербес те емдік шара ретінде қолдануға болатын жаңа терапиялық емдеудің негізі болуға лайық.

Қорғауға ұсынылатын негізгі қағидалар:

1. CoQ жетіспеушілігі бар тышқан топтарының рациондарына диеталық шектеулермен өңдеу жүргізу арқылы өмір сүрудің пайыздық көрсеткіштері айқындалды.

2. Күкіртті амин қышқылдардың мөлшеріне диеталық шектеулермен өңделген *Coq9*^{R239X} тәжірибелі тышқан ми ұлпаларында, N-ацетил-L-цистеинмен өңдеу кезінде бүйрек ұлпаларында, SAAR мен NAC өңдеулерінде бұлшықет ұлпаларында SQOR деңгейі жоғарылауы көрсетілді.

3. Тәжірибелі тышқан топтарын SAAR мен NAC өңдеулерінен кейін цистатионин γ -лиаза (CSE) және цистатионин- β -синтаза (CBS) деңгейі ми, бүйрек және бұлшықет ұлпаларына әртүрлі әсері бар екені көрсетілді.

4. Тышқан топтарының рациондарына күкіртті амин қышқылдардың мөлшеріне диеталық шектеулер қоюмен немесе N-ацетил-L-цистеинді

қолданып өңдеу жүргізу арқылы мидың митохондрия фракцияларындағы және бүйрек, бұлшықет ұлпаларындағы жалпы глутатион өзгерісін, соның ішінде глутатион ферменттерінің (GPx және GRd) деңгейі анықталды.

5. Ми, бүйрек және бұлшықет ұлпаларындағы CoQ9, CoQ10, DMQ9 деңгейлерінде, DMQ9/CoQ9 қатынасындағы айырмашылықтары және митохондрия тыныс алу тізбегі I, II, III, IV кешендерінің, суперкешеннің (SC) қалыптасу көрсеткіштері бүйрек митохондрия фракцияларында SAAR және NAC-пен өңдеуден кейін әртүрлі әсері бар екені анықталды.

6. Кешен I жетіспеушілігі бар тышқан топтарының өмір сүрудің пайыздық көрсеткіштеріне баға берілді және жалпы глутатион жүйесін, оның ішінде ферменттер деңгейінің ерекшеліктері анықталды.

Қорғауға ұсынылатын ғылыми жұмыс нәтижелерінің жинақталуына диссертанттың жеке үлесі. Зерттеу жұмысының әдебиет көздеріне шолу жасау, қойылған мақсат пен міндеттерді анықтап, сонымен қоса тәжірибелік жұмыстардың орындалуы мен мәліметтердің жинақталуында статистикалық талдау және өңдеу автордың жеке қатысуымен жүргізілді.

Жұмыстың ғылыми зерттеу бағдарламасымен байланыстылығы. Бұл жұмыс митохондрия метаболизміндегі тотығу стресінің өзгерісін зерттеуге бағытталды. Гранада университеті, Биомедицина зерттеу орталығының молекулалық биология зертханасының жобасымен жасалды (ғылыми жобаның жетекшісі Гранада Университетінің профессоры Л.К. Лопес). Сонымен қатар әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-нің Биофизика, биомедицина және нейроғылым кафедрасының зертханасында орындалды.

Жұмыстың апробациясы

Диссертациялық жұмыстың негізгі қойылған қағидалары мен зерттеу нәтижелері төмендегідей халықаралық, республикалық ғылыми конференцияларда баяндалды және талқыланды:

- Халықаралық Фараби оқулары «Фараби әлемі» атты студенттер мен жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференциясы (2019 ж, Алматы);
- Халықаралық ғылыми конференция «I CONGRESS OF RESEARCHERS FROM THE PTS» (2019, Гранада, Испания);
- Халықаралық Фараби оқулары «Фараби әлемі» атты студенттер мен жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференциясы (2020 ж, Алматы).
- Халықаралық Фараби оқулары «Фараби әлемі» атты студенттер мен жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференциясы (2022 ж, Алматы).

Басылымдар. Диссертациялық жұмысының негізгі нәтижелері 9 ғылыми басылымдарда, оның *Web of Science* және *Scopus* базасындағы журналдарда 1 мақала, ҚР Білім және ғылым саласындағы бақылау Комитеті ұсынған ғылыми басылымдарда 3 мақала, Халықаралық және республикалық конференция материалдарында 5 тезис жарық көрді.

Диссертацияның құрылымы. Диссертация 92 беттен, нормативтік сілтемелерден және белгілеулер мен қысқартулардан, кіріспе, әдебиеттік шолудан және материалдармен әдістерден, зерттеу нәтижелері мен қорытынды, 211 пайдаланған дереккөздер мен 38 суреттен тұрады.