

Скворцова Лилия Александровнанын
«6D060700 –Биология» мамандығы бойынша философия докторы
(Ph.D.) ғылыми дәрежесін алу үшін дайындалған диссертациясына

АНДАТПА

Қазақстан тұрғындарындағы жүрек-тамыр ауруларының дамуымен
антиоксидантты ферменттерді кодтайтын гендер полиморфизмінің
ассоциациясы

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Диссертациялық жұмыс жүрек-қан тамырлары патологиясының дамуындағы антиоксиданттық қорғаныс механизмдерін зерттеуге арналған. Жұмыста атеросклероздың дамуындағы антиоксиданттық ақуыздар санының экспрессиясын бағалау үшін модельдік эксперименттердің деректері ұсынылған және қазақстандық популяцияда жүректің ишемиялық ауруына тұқым қуалайтын бейімділіктің қалыптасуындағы антиоксиданттық қорғаныс белоктарын кодтайтын гендердің полиморфизмдерінің рөлін молекулярлық эпидемиологиялық бақылау кезіндегі зерттеу нәтижелері ұсынылды.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. Статистикаға сәйкес, жүрек-қан тамырлары аурулары әлемдегі ең маңызды денсаулық сақтау проблемасы болып саналады. Қазақстан да «жүрек-қан тамырлары» зерттеу бойынша зерттеулерін жүргізуде. Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымының сарапшылары негізінен дамыған және дамушы елдерде жүрек-қан тамырлары ауруларынан болатын аурушандық пен өлім-жітімнің одан әрі өсуін болжайды.

Жүрек-қан тамыр ауруларының негіздерін білудегі және негізгі «классикалық» қауіп факторларын анықтаудағы заманауи ғылым мен медицинаның жетістіктері көптеген дамыған елдерде жүрек патологиясынан болатын өлімді азайтуға және бақылауға алуға мүмкіндік берді. Дегенмен, осы параметрлерді төмендету үшін жүрек-қан тамырлары патологияларының неғұрлым сезімтал және жеке маркерлерін зерттеу қажет.

Жүрек-тамыр ауруларына молекулалық-генетикалық бейімділік саласындағы зерттеулер бүкіл әлем дәрігерлерінің де, ғалымдардың да назарын аударып, қызығушылық танытады. Организмнің әртүрлі қауіп факторларына реакциясы қоршаған орта факторларының әсерімен жеке генотиптердің өзара әрекеттесуімен анықталады. Олар белгілі қоршаған орта факторларымен бірге жүрек-қан тамырлары патологиясының қауіп факторларының арасында жоғары орын алып, жеке генетикалық сипаттамаларды талдау ЖҚА патогенезіндегі негізгі гендердің мутациялары мен полиморфизмдерін анықтауға мүмкіндік береді..

Қазақстан үшін қан айналымы жүйесінің ауруы арасында ең маңыздысы – жүректің ишемиялық ауруы. 2019 жылға қарай бұл патология қан айналымы жүйесінің барлық патологияларының үштен екісін құрап, аурушандық пен өлім бойынша жетекші орынды иеленді. Соңғы

онжылдықтарда жүректің ишемиялық ауруының молекулярлық-генетикалық негіздерін түсіну қарқынды дамыды. Жүректің ишемиялық ауруымен байланысты 600-ден астам гендер молекулярлық биология және байланысты тұқым қуалаушылық талдауы (Genome Wide Association Studies – GWAS) арқылы анықталды. Бұл ақуыз өнімдері жүректің ишемиялық ауруының басталуына, ағымына және өршуіне сигнал беру жолдарына қатыса алатын гендер: Ras және MAPK сигналдық жүйелері; TNF- α және NF- κ B; модификацияланған липопротеидтердің жинақталуына жауап ретінде эндотелий жасушалары арқылы қабынудың сигналдық жолдарының каскадын белсендіру; лейкоциттердің қабыну ошағына активтенуі, миграциясы және адгезиясы; көбік жасушаларының түзілуі және тегіс бұлшықет жасушаларының көбеюі; сондай-ақ антиоксиданттық жүйелер.

Тотығу стрессі және антиоксиданттық қорғаныс көптеген ауруларды сипаттайтын өзара байланысты екі процесс. Заманауи концепцияларға сәйкес, тотығу стрессі атеросклероздың және онымен қатар жүретін жүректің ишемиялық ауруларының патогенезінде маңызды рөл атқарады. Тотығу стрессінің жоғары деңгейі және антиоксиданттық статустың төмендеуі жүректің ишемиялық ауруы ағымын айтарлықтай нашарлатуы мүмкін. Сонымен қатар, бұл екі процестің молекулалық-генетикалық статусы атеросклероздың және жүректің ишемиялық ауруы патогенезінің ағымына басқаша әсер етуі мүмкін. Бұл факт профилактикалық медицина аясында жүректің ишемиялық ауруы дамуының қосымша ішкі қауіп факторларын анықтау үшін түбегейлі маңызды болып табылады. Бұл бағытта зерттеулер әлі толық емес және қарама-қайшы. Осыған байланысты бұл жұмыстың мақсаты атеросклероздағы тамыр қабырғасы үлгі нысанын пайдалана отырып, Қазақстандық популяцияда жүректің ишемиялық ауруының дамуындағы антиоксиданттық қорғаныс гендеріндегі генетикалық вариациялардың ролін зерттеу, сондай-ақ антиоксиданттық қорғаныстың ең маңызды ақуыздарының экспрессия динамикасын анықтау болды.

Зерттеу нысаны: Chinchilla тұқымының 10 қояны (бақылау және тәжірибелік топтар); шартты түрде сау адамдар (341 адам) және жүректің ишемиялық ауруы анықталған диагнозы бар науқастар (360 адам) когорталары.

Зерттеу пәні: қалыпты тамыр қабырғасында және атеросклероздан зардап шеккен антиоксиданттық ақуыздардың SOD3 және GPX1 экспрессиясы; антиоксиданттық қорғаныс гендеріндегі генетикалық вариациялар *GCLC* -129C / T, *GCLM* -588C / T, *GPX1* Ala5-7, *SOD3* Ala58Thr, *GPX4* Leu220 = және жүректің ишемиялық ауруы.

Зерттеу мақсаты: Атеросклероздың дамуындағы бірқатар антиоксиданттық белоктардың экспрессия сипатын бағалау және жүректің ишемиялық ауруына тұқым қуалайтын бейімділіктің қалыптасуында антиоксиданттық белоктарды кодтайтын гендердің полиморфизмдерінің ролін анықтау.

Зерттеу міндеттері:

1. *Chinchilla* қоянының үлгі нысанын пайдалана отырып, қалыпты тамыр қабырғасында және атеросклероздан зардап шеккен антиоксиданттық ақуыздардың *SOD3* және *GPX1* экспрессия деңгейін анықтау.

2. Жүректің ишемиялық ауруы бар науқастар когортасын құру үшін жүректің ишемиялық ауруы анықталған диагнозы бар адамдардан ерікті негізінде биоматериалдарды жинау. Сонымен қатар; қатысушылардың алынған жеке деректерін талдап, жасына, жынысына және ұлтына сәйкес бақылау тобын таңдау.

3. *Ala58Thr* мононуклеотидті полиморфизмінің генотипін жүргізу, супероксид-дисмутаза ферменті жүйесінің гені – *SOD3*, алынған мәліметтерді статистикалық өңдеуді жүзеге асыру және әртүрлі генотип өкілдерінде жүректің ишемиялық ауруының салыстырмалы қаупін бағалау.

4. Промоторлық полиморфизмдердің генотиптерін, глутатион антиоксиданттық фермент жүйесінің гендерін – *GCLC* -129C/T және *GCLM* -588C/T, алынған мәліметтерді статистикалық өңдеуді жүзеге асыру және аллельдері -129T *GCLC* гені және 588T *GCLM* генінің өкілдері үшін жүректің ишемиялық ауруының салыстырмалы қаупін бағалау.

5. Полиморфты үш нуклеотидті тандемді генотиптеуді жүзеге асыру үшін *Ala5-7* қайталау, глутатион антиоксиданттық фермент жүйесінің гені – *GPX1* және үш аллельді жүйені ескере отырып, әр түрлі генотип өкілдерінде жүректің ишемиялық ауруының салыстырмалы қаупін бағалау.

6. Бір нуклеотидті полиморфизм *C718T*, глутатион антиоксиданттық фермент жүйесінің гені – *GPX4* генотипін жүргізу, алынған мәліметтерді статистикалық өңдеуді жүргізу және әртүрлі генотиптері бар өкілдерде жүректің ишемиялық ауруының салыстырмалы қаупін бағалау.

7. Антиоксиданттық қорғаныс ферменттерін кодтайтын гендердің зерттелген нұсқаларының жүрек-қан тамырлары патологиясының дамуына қосқан үлесін бағалау.

Зерттеу әдістемелері: Жұмыста молекулярлық-генетикалық, иммуногистохимиялық және эпидемиологиялық әдістер, сондай-ақ статистикалық мәліметтерді өңдеу әдістері қолданылды.

Жұмыстың ғылыми жаңалығы. *Chinchilla* қояндарындағы индукцияланған атеросклероздың үлгі жүйесін пайдалана отырып, қалыпты қолқа қабырғасындағы және атеросклероздан зардап шеккен *GPX1* және *SOD3* ақуыздарының экспрессия үлгісі анықталды. *SOD3* экспрессиясы атеросклероздың ерте кезеңдерінде (липидті дақтардың сатысында) ішкі серпімді мембрана мен интиманың тікелей астында жатқан тамырдың медиальды қабатында индукцияланатыны көрсетілді. *SOD3* ақуызының экспрессиясы атеросклероздың кеш кезеңдерінде (атерома сатысы) жасушадан тыс матрицаның ыдырау дәрежесіне байланысты. *GPX1* жасушаішілік антиоксиданттық протеиннің қарқынды экспрессиясы тамырдың адвентиция қабатында атеросклероздың ерте кезеңдерінде (липидті дақтардың сатысында) байқалады. *GPX1* экспрессиясы тамырдың интимдік қабатында атеросклероздың соңғы кезеңдерінде (атерома сатысында) айтарлықтай басылады.

Алғаш рет алматылықтардың Қазақстандық популяциясы үшін антиоксиданттық ақуыздарды кодтайтын *SOD3*, *GCLC*, *GCLM*, *GPX1* және *GPX4* гендеріндегі аллельді нұсқалардың жиілік таралуы анықталды және олардың жүректің ишемиялық ауруы қаупімен байланысы зерттелді. *GCLC-129C/T* және *GCLM-588C/T* гендерінің промоторлық полиморфизмдері қазақстандық популяция үшін жүректің ишемиялық ауруы дамуының ішкі, генетикалық қауіп факторлары ретінде әрекет ете алатыны анықталды. Қазақтардың этникалық тобы үшін жүректің ишемиялық ауруы дамуының қосымша қауіп факторы *GPX1* генінің Ala5-7 аланиндік қайталанулар санының полиморфизмі болуы мүмкін. *SOD3* және *GPX4* гендерінің зерттелген полиморфты нұсқалары қазақстандық популяцияда жүректің ишемиялық ауруы қаупімен байланысын көрсетпейді.

Жұмыстың теориялық және практикалық маңызы. Үлгілерде тамыр қабырғасының қабынуы дамуы кезінде антиоксиданттық ақуыздардың экспрессиясын зерттеу бойынша диссертациялық жұмыстың нәтижелері жүректің негізгі патофизиологиялық ишемиялық ауруының басты буыны - атеросклероздың даму механизмдерін ашу саласындағы зерттеулерді толықтырады. Алынған мәліметтерді талдау және теориялық негіздеу жүректің ишемиялық ауруы дамуының молекулалық-генетикалық себебін одан әрі егжей-тегжейлі зерттеуге ықпал етеді. Антиоксиданттық белоктардың генетикалық факторларын зерттеу жүректің ишемиялық ауруы дамуында организмнің антиоксиданттық қорғанысының тиімділігіне полиморфизмдердің генетикалық әртүрлілігінің әсерін тереңірек түсінуге мүмкіндік береді. Осы саладағы әрі қарай зерттеулер жүректің ишемиялық ауруы патогенезіне қатысатын әмбебап және пациенттердің этникалық, жыныстық және жас ерекшеліктерін ескере отырып, гендік панельдерді анықтауды жеңілдетеді. Бұл жүректің ишемиялық ауруын дамытуда профилактикалық медицинаның тиімділігін, сондай-ақ жүректің ишемиялық ауруы қаупі бар науқастарды басқару және емдеудің оңтайлы хаттамаларын дамытуға ықпал етеді.

Қорғауға ұсынылатын негізгі мәліметтер:

1. Жасушадан тыс антиоксиданттық қорғаныс ақуызы *SOD3* қояндардың қалыпты қолқасының субинтимальды және адвентициялық қабаттарында көрінеді. Индукцияланған атеросклероздың бастапқы кезеңдерінде (липидті дақтардың сатысы) интимальды қабаттың астындағы медиальды қабатта жасушадан тыс ақуыз *SOD3* экспрессиясының бірінші реттік активтенуі орын алады, бұл атерома сатысында жасушадан тыс матрицаның болуымен корреляцияланады.

2. *GPX1* антиоксиданттық протеинінің фондық экспрессиясы қояндардың қалыпты қолқасының интимдік, адвентициялық және медиальды қабаттарының бір бөлігінде байқалады. Индукцияланған атеросклерозда *GPX1* протеинінің экспрессиясының жоғарылауы липидті дақтар мен липидті жолақтар кезеңдерінде барлық қабаттарда болады; *GPX1* ақуызының экспрессиясы атерома сатысында интимдік қабатта басылады. *GPX1* протеинінің адвентиция қабатындағы қарқынды экспрессиясы

атеросклероздың дамуы кезінде тамыр қабырғасының күрделі реакциясы арқылы жүзеге асады.

3. Алматы қаласының дені сау тұрғындарының популяциясында (69,5% қазақтар, 20,82% орыстар, басқалары - 9,68%) *GCLM* генінің полиморфты аллельінің -588Т жиілігі (0,139) еуропалық популяцияның жиілік сипаттамасына сәйкес келеді (0,152); *GCLC* генінің полиморфты аллельінің -129Т жиілігі (0,111) азиялық популяция үшін анықталған жиілікке (0,133) сәйкес келеді; *GPX1* генінің Ala5 полиморфты аллельінің жиілігі (0,661) әлем популяциясы үшін ұсынылған жиіліктен (0,345-0,398) әлдеқайда жоғары; *SOD3* генінің 58Thr полиморфты аллельінің жиілігі (0,462) еуропалық (0,374-0,383) және азиялық (0,1-0,279) популяцияларына тән жиіліктерден жоғары; аллель жиілігі Leu220 = *GPX4* гені (0,603) азия популяциясының жиіліктеріне сәйкес келеді (0,558-0,606)

4. Қазақстандық популяцияда жүректің ишемиялық ауруының жоғары қаупі *GCLM* генінің -588Т генотипте (OR = 2,91; CI = 0,93-9,10; p = 0,009) және/немесе *GCLC* гені -129Т генотиптерінде (OR = 3,22; CI = 0,88-11,80; p = 0,03) екі аллельінің болуымен айтарлықтай байланысты. Сенімділіктің жоғары дәрежесімен *GCLM* гені үшін -588ТТ генотипі (OR = 4,23; CI = 0,89–20,16; p=0,04) және/немесе *GCLC* гені үшін -129ТТ (OR = 4,79; CI = 1,02-22,39; p=0,04) генотипі бар этникалық қазақтар үшін жүректің ишемиялық ауруы қаупі байқалды.

5. Этникалық қазақтарда жүректің ишемиялық ауруының даму қаупі *GPX1* генінде гомозиготалы күйде бес аланин қайталымдарының Ala5 болуымен байланысты болуы мүмкін (Ala5/5: OR = 1,88; 95% CI = 1,30-2,71; $\chi^2 = 16,902$, p=0,005).

6. *SOD3* генінің Ala58Thr полиморфизмі және *GPX4* генінің Leu220 = полиморфизмі қазақстандық популяция үшін жүректің ишемиялық ауруы қауіпті факторлары болып табылмайды (p>0,05).

Басылымдар. Диссертация тақырыбы бойынша зерттеудің негізгі нәтижелері 1 мақала мақала импакт-факторы бар халықаралық рецензияланған журналдарда және 3 мақала ҚР БҒМ БҒСБК ұсынған журналдарда ҚКСОН ұсынған рейтингтік республикалық басылымдарда және 2 тезис Халықаралық конференцияларда жарияланған.

Жұмыстың құрылымы. Диссертациялық жұмыс 138 беттен тұрады және мыналарды қамтиды: кіріспе, әдебиеттерге шолу, материалдар мен әдістер, нәтижелер мен талқылау, қорытынды, пайдаланылған әдебиеттер тізімі (314 атау) және 5 қосымша. Диссертация 19 суреттер мен 14 кестелермен қамтылған.