

АННОТАЦИЯ

диссертация на соискание степени доктора философии (PhD)
по специальности 6D060700 –Биология

Шэйбек Алтынай Жұпарқызы

Предотвращение восстановленным глутатионом деструкции панкреатических β -клеток, вызываемой диабетогенными цинксвязывающими веществами и исследование механизмов его предупреждающего действия

Актуальность темы. В последние 40-50 лет отмечается интенсивный рост числа больных сахарным диабетом в большинстве стран. В Казахстане число зарегистрированных больных также быстро увеличивается. В 1998 г. их было 93 тыс., к концу 2011 г. число больных возросло до 208 тыс., а к 2016 г. приблизилось к 300 тыс. За 18 лет число зарегистрированных больных выросло, таким образом, более чем в 3 раза. Общее число больных с учетом незарегистрированных лиц и лиц с латентными формами заболевания оценивается в 600-700 тыс., что составляет около 3% от общей численности населения Казахстана по сравнению с 0,7-0,8% в 1998 г. Большую часть 80-90% составляют больные диабетом 2-го типа. Каждые 10-12 лет по данным Международной федерации диабета в мире происходит удвоение числа больных диабетом. В развитых странах Европы количество больных составляет в среднем от 5 до 8% от общей численности населения, что выше, чем в Казахстане, а в отдельных странах оно достигает 18-20%.

Более 70 лет тому назад впервые было установлено, что отдельные химические соединения способны избирательно поражать панкреатические В-клетки, что сопровождается их гибелью и развитием сахарного диабета. Сегодня известно более 20 веществ, обладающих подобными свойствами. Использование химических моделей сахарного диабета в диабетологии дало возможность получить большой объем данных, позволивших изучить причины и механизмы развития сахарного диабета, поскольку такие модели являются «чистыми», то есть, повреждаются только В-клетки поджелудочной железы, вызывая эссенциальную форму диабета, не связанную в причинном плане с другими органами и системами организма.

Установлено, что из более чем 20 известных на сегодня диабетогенных химических веществ 18 являются цинксвязывающими (хелаторами). Некоторые из их числа входят в качестве основного компонента в состав некоторых противомикробных лекарственных препаратов, либо синтезируются в организме при определенных условиях. Введение их в организм сопровождается в течение нескольких минут связыванием с цинком В-клеток с формированием токсических комплексов «цинк-хелатор», которые оказывают разрушающее влияние на В-клетки, приводя их к гибели в течение нескольких минут.

В настоящее время установлена способность отдельных веществ при предварительном введении в организм препятствовать действию диабетогенных цинксвязывающих соединений при последующем их введении и, таким образом, предупреждать развитие диабета. Имеются указания на то, что такой способностью обладают некоторые соединения, содержащие в структуре молекулы SH-группы (сульфгидрильные группы), в частности, аминокислота трипептид глутатион. Настоящее исследование ориентировано на исследование способности одного из таких веществ – аминокислоты глутатиона к предотвращению развития диабета, вызываемого цинксвязывающими хелаторами и изучению механизмов ее протективного действия.

Цель диссертации: изучить механизмы действия восстановленного глутатиона, предупреждающего развитие экспериментального диабета, вызываемого диабетогенными цинксвязывающими соединениями.

Объектами исследования были инсулинпродуцирующие В-клетки ткани поджелудочной железы и культуры изолированных панкреатических островков белых крыс и кроликов, периферическая кровь животных с экспериментальным дитизоновым диабетом и диабетом, вызываемом 8-пара(толуолсульфониламино) хинолином (8ТСХ).

Научная новизна исследования:

1. Впервые исследованы способность и механизмы аминокислоты восстановленный глутатион предотвращать развитие экспериментального диабета, вызываемого диабетогенными цинксвязывающими соединениями. Показано, что эта способность обусловлена наличием в молекуле восстановленного глутатиона SH-радикала, благодаря которому происходит блокирование цинка, что препятствует формированию химических комплексов с хелаторами, разрушающих В-клетки.

2. Выполненная работа является первым исследованием, связанным с изучением механизмов противодиабетогенного действия глуктатиона как и аминокислот, содержащих в своем составе SH-радикал. Это также первое исследование, в котором использованы высокоспецифичные и чувствительные методы гистохимического и гистологического анализа ткани поджелудочной железы и В-клеток панкреатических островков, равно как и метода культуры изолированных панкреатических островков, позволяющего исследовать характер прямого влияния диабетогенных веществ и аминокислот, содержащих SH-радикал, непосредственно на В-клетки и исключая возможные внепанкреатические влияния.

Структура и объем диссертации. Структура диссертации определена поставленными задачами и состоит из определений, обозначений и сокращений, введения, обзора литературы, материала и методов, результатов и обсуждения, заключения, списка использованных литературных источников. Она изложена на 128 страницах машинописного текста, иллюстрирована 20 таблицами и рисунками (48 микрофотографий), содержит список литературы из 197 наименований.

Основные результаты.

1. Впервые установлено, что аминокислота восстановленный глутатион, содержащий в своей структуре SH-группы, в дозе 1000 мг/кг способна предотвращать у всех опытных животных развитие экспериментального диабета, вызываемого диабетогенными цинксвязывающими В-цитотоксическими соединениями дитизоном и 8-ТСХ, тогда как окисленный глутатион, отличающийся от восстановленного отсутствием в своей структуре SH-групп, не предотвращает его возникновение у животных

2. Впервые показано, что в механизме действия глутатиона, как и аминокислоты цистеина, основное значение имеет его способность связывать островковый цинк благодаря его взаимодействию с SH-радикалом (сульфгидрильные группы), не давая возможности ДЦВ формировать токсичные комплексы с цинком, разрушающие В-клетки. Впервые установлено, что окисленный глутатион, имеющий такое же химическое строение, но не содержащий SH-радикала, противодиабетогенным действием не обладает

3. В опытах на культуре изолированных панкреатических островков с использованием двух форм глутатиона впервые установлено, что восстановленный глутатион оказывает не опосредованное внепанкреатическое, а прямое воздействие непосредственно на В-клетки, что сопровождается практически полным связыванием островкового цинка, препятствующего действию цинксвязывающих диабетогенных веществ.

4. Впервые показано, что использование восстановленного глутатиона сопровождается повышением уровня активности антиоксидантных ферментов системы глутатионового звена, принимающего активное участие в обезвреживании токсических соединений, поступающих или образующихся в организме, дополнительно обеспечивая его защитные свойства в отношении ДЦВ.

5. Впервые показано, что метод подавления эндогенного синтеза в организме одного из цинксвязывающих веществ -4,8-дигидроксихинолин-2-карбоновой кислоты (ксантуреновой кислоты)-обладает меньшей эффективностью: ее уровень в моче хотя и снижался в 3 раза по сравнению с опытными животными, но все же оставался в 2,5-3 раза выше по сравнению с контрольной группой, что способствовало снижению уровня гликемии с 12,4 ммоль/л до 8,0 ммоль /л.

Научно-практическая значимость работы. Теоретическая значимость исследования заключается в том, что были получены экспериментальные данные, свидетельствующие о способности аминокислоты восстановленный глутатион предотвращать в эксперименте развитие сахарного диабета, вызываемого широкой группой диабетогенных цинксвязывающих веществ (ДЦВ). Установлено, что предотвращающий эффект глутатиона обусловлен его способностью формировать внутрикомплексные соединения с цинком, содержащимся в панкреатических В-клетках, что предотвращает его взаимодействие с диабетогенными цинксвязывающими веществами при их последующем введении. Приведены прямые доказательства того, что

блокирование цинка глутатионом осуществляется благодаря наличию в структуре молекулы глутатиона сульфгидрильных SH-групп, атом серы которых имеет высокое химическое сродство по отношению к цинку. Установлено также, что глутатион повышает активность антиоксидантных ферментов, что дополнительно способствует снижению токсического эффекта цинксвязывающих веществ.

Практическая значимость обусловлена тем, что в отличие от ранее известных методов предупреждения диабета, вызываемого ДЦВ, с помощью химических веществ, не содержащихся в организме и не участвующих в процессах обмена, аминокислота глутатион постоянно поступает в организм, участвуя в различных обменных процессах, что потенциально значительно повышает интерес к ней в плане возможного использования для предотвращения развития диабета, связанного с действием ДЦВ, в частности, тех из них, которые эндогенно синтезируются в организме при некоторых нарушениях обмена или поступают в организм извне в том числе при использовании отдельных фармпрепаратов антимикробного действия, основным компонентом которых являются диабетогенные производные 8-оксихинолина, относящиеся к числу наиболее активных цинксвязывающих диабетогенных веществ

Апробация работы и публикации

Основное содержание диссертации отражено в 28 печатных работах, включая 2 статьи в цитируемых зарубежных журналах по базам Thomson Reuters и Scopus, в 12 статьях рекомендованных ККСОН МОН РК, 3 статьи в журналах по базе РИНЦ. 3 работы были представлены и опубликованы в материалах европейских и американского научных конгрессов. Ряд работ были также представлены и опубликованы в материалах международных конференций, проведенных в Казахстане и России. Основные результаты были обсуждены на 75-м Американском Конгрессе диабетологов (г.Бостон, 2015), на 18-м Европейском Трансплантологическом Конгрессе (г.Барселона, 2017), на Европейском конгрессе по проблемам зрения при диабета (Франция, 2014), на Европейском Конгрессе по технологиям лечения диабета (г.Вена, 2018): на 22-м Всемирном Конгрессе диабетологов (г.Мельбурн, 2013): на 15-м Конгрессе Международной Ассоциации морфологов (г.Ханты-Мансийск, Россия, 2020г.) По результатам исследования издано 1 методическая рекомендация, получены Акты внедрения результатов исследования в практику научной работы и в учебный процесс в университетах Астаны, Ханты-Мансийска.