

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ФАНЛАР АКАДЕМИЯСИ
БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ**

Қўлёзма ҳуқуқида
УДК: 577.217+577.218

МАМАТҚУЛОВ ДОНИЁР АНВАРОВИЧ

**ҚАЛҚОНСИМОН БЕЗ ХУЖАЙРАЛАРИДАГИ ЎСМА ҲОСИЛ
БЎЛИШИДА ТИРЕОГЛОБУЛИН ГЕНИ ЭКСПРЕССИЯСИ
ҚОНУНЛАРИ ВА СТРУКТУРА-ФУНКЦИОНАЛ ТУЗИЛИШИ**

03.00.04-Биокимё

биология фанлари номзоди илмий даражасини
олиш учун тақдим қилинган диссертация

АВТОРЕФЕРАТИ

Тошкент – 2010

Диссертация иши Ўзбекистон Республикаси Фанлар Академияси Биокимё институтининг гормонлар биокимёси лабораториясида бажарилган.

Илмий раҳбар:

биология фанлари доктори
ҚОДИРОВА Дилбар Абдуллаевна

Расмий тақризчилар:

биология фанлари доктори, профессор
ДАЛИМОВА Сурайё Нугмановна

биология фанлари доктори, профессор
ЗИЛЯЛИЕВА Марьям Валиевна

Етакчи ташкилот:

Ўзбекистон Республикаси Фанлар
Академияси Биофизика ва физиология
институти

Ҳимоя « _____ » _____ 2010 йил соат _____ да ЎзР ФА Биокимё институтини ҳузуридаги биология фанлари доктори илмий даражасини бериш учун диссертациялар ҳимоясига ихтисослаштирилган Д 015.16.01 кенгаш йиғилишида ўтказилади, кенгаш манзили: Тошкент, 100143, Ҳ.Абдуллаев кўч, 56.

Телефон: (99871) 262-25-66, факс: (998) 262-24-41.

Диссертация билан ЎзР ФА Биокимё институтини кутубхонасида танишиш мумкин.

Автореферат « _____ » _____ 2010 йилда тарқатилди.

Ихтисослаштирилган кенгаш
илмий котиби биология фанлари
номзоди

Г.У.Усманова

ИШНИНГ УМУМИЙ ТАВСИФИ.

Мавзунинг долзарблиги: Канцерогенез–мураккаб, кўп босқичли жараён бўлиб, у нормал хужайраларда чуқур бузилишларга олиб келади. Натижада, ўсма хужайралари пайдо бўлади. Канцерогенез назариялари орасида мутация назарияси алоҳида эътиборга лойиқ. Ушбу назарияга кўра, ўсмалар генетик касаллик бўлиб, унинг патогенетик субстрати хужайранинг генетик материалидир (нуктавий мутациялар, хромосома абберрациялари, хроматиннинг таркибий–функционал ўзгаришлари, индивидуал полирибосомаларнинг таркибий ўзгаришлари). ДНК специфик соҳаларининг зарарланиши хужайра пролиферацияси ва дифференциациясини назорат қилувчи механизмларда бузилишларга олиб келади ва, пировардида, ўсма ҳосил бўлади.

Қалқонсимон без ўсмалари барча ёмон сифатли ўсма касалликлари орасида 0,5-3 % ни ташкил этади. Қалқонсимон без саратони муаммоси ҳозиргача долзарблигича қолаётганлигининг сабаби тугунли буқоқ аҳолининг 4% ида учраши ва қалқонсимон без саратони 90 % ҳолатда аденома сифатида намоён бўлиши билан боғлиқдир. Маълумки, қалқонсимон без саратонининг ривожланиши ҳақидаги тасаввур тўлиқсизлигича қолиб келмоқда, ушбу хужайралар трансформациясига таъсир қилувчи омиллар ҳозирга қадар аниқланмаган. Қалқонсимон без саратони билан яхши сифатли тугунлар, буқоқ ҳамда ёмон сифатли хужайра ҳосил бўлишида ДНК репликацияси, транскрипцияси, мутация жараёнлари орасидаги боғлиқлик ҳақидаги савол хануз жавобсиз қолмоқда.

ТГ-қалқонсимон без хужайралари-синтезлайдиган ва тиреоид гормонлар метаболизмида асосий роль ўйнайдиган оқсил. Қалқонсимон без ўсмалари пайдо бўлишида асосий омиллардан бири ТГ синтезининг бузилиши ҳисобланиб, саратон хужайралари ТГ синтезламайди, яъни ТГ бутунлай йўқ. Ўсма ҳосил бўлиш жараёнларини ўрганиш учун индивидуал полирибосомалар ва улардан ажратиб олинган натив мРНК бўлиши лозим, чунки индивидуал полирибосомалар миқдори ва мРНК таркиби, тузилиши ва функциялари ўзгариши ўсма пайдо бўлиш механизмларидан бири, деб ҳисоблаш мумкин.

Ҳозирги кунда қалқонсимон безда ўсмалар пайдо бўлишининг барча босқичлари батафсил ўрганилган бўлса-да, бироқ айрим қалқонсимон без ўсмалари ривожланишининг аниқ механизмлари турлича ва бу ўзгаришларнинг тўлиқ манзарасини кўрсатиб беришнинг имкони йўқ. Олинган маълумотларнинг ўзи ҳозирда айрим қалқонсимон без ўсмаларининг ривожланаётганидан далолат беради. Бироқ, маълумотлар қалқонсимон безнинг ҳар хил ўсмаларини эрта ташхислаш ва самарали даволаш терапияси усулларини ривожлантириш учун етарли эмас. Қалқонсимон без ўсмаларининг олдини олиш, ташхислаш ва даволаш энг долзарб муаммолардан биридир.

Мазкур муаммо қалқонсимон без ўсмаларининг учраш даражаси юқори бўлган республикамиз шароитида ҳал этилиши зарур. Бу масалаларни кўп ахборотли методлар воситасида ҳар томонлама ўрганиш касалликни профилактика ва даволаш мақсадида эрта дифференциал ташхислаш асосини яратиш имконини беради.

ТГ гени экспрессияси регуляцияси бузилишларини, ушбу геннинг таркибий ташкил топишини ва унинг эрта ташхислашдаги аҳамиятини тадқиқ қилиш энг муҳим вазифалардан биридир.

Юқорида айтилгандек, ҳар хил қалқонсимон без ўсмаларида ТГ гени экспрессияси қонуниятларини ўрганиш, ушбу хасталикларни эрта ташхислашнинг назарий асосларини яратиш долзарб масаладир.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси: Қалқонсимон без янги хужайра ҳосилалари фақат ушбу хасталикда учрайдиган генетик ўзгаришларгагина хосдир. Хромосома транслокациялари, протоонкогенлар ва ўсма супрессорлари, ТГ гени экспрессияси регуляциясидаги бузилишлар, индивидуал ТГ полирибосомалар миқдорининг ўзгариши, хромосомалардаги таркибий–функционал ўзгаришлар шулар жумласидандир. Бундай ўзгаришларнинг ўзига хослигини қуйидаги сабаблар билан тушунтириш мумкин. Биринчидан, маълум тур хужайраларда айрим генетик бузилишлар эҳтимоли юқори бўлиши мумкин. Иккинчидан, маълум бир онкогенлар ёки ўсма ген супрессорларининг экспрессияси ёки таъсири тўқималарга хос бўлиши мумкин. Учинчидан, ҳар хил хужайралар ёмон сифатли фенотипга ўтиши учун ҳар хил биологик хоссалар тўплами зарур бўлиши мумкин. Қалқонсимон безнинг ҳар хил ўсмаларида тез–тез учрайдиган генетик бузилишлар-бу ТГ гени экспрессияси регуляциясининг бузилиши, хроматиннинг таркибий–функционал ўзгаришлари, РНК-полимераза фаоллигининг ўзгариши, ТГ синтезининг бузилиши, ТГ синтезловчи полирибосомалар миқдорининг камайишидир.

Қалқонсимон безнинг ҳар хил ўсмаларида ТГ гени миқдорий вариацияланади, балки бу йодтиронинларнинг кам миқдорда ҳосил бўлиши билан боғлиқдир, бу эҳтимолийликнинг катталиги, гормоногенез жараёнининг ўзаро алоқаларининг таркибий–функционал бузилишлари билан изоҳланади ва қалқонсимон без ўсмаларининг пайдо бўлишидаги генетик нуқсонларнинг молекуляр асосларини аниқлаш имконини беради.

Диссертация ишининг ИТИ мавзу режаларига алоқадорлиги: Иш Ф-4.1.32 «Эндокрин безлар хужайраларидаги ўсмаларга жавобгар бўлган супрессор генлар ҳамда генлар экспрессияси қонунлари ва структура-функционал тузилиши ва уларни диагностика учун анализ қилиш» мавзусидаги фундаментал лойиҳа доирасида бажарилди.

Тадқиқотнинг мақсади: Қалқонсимон безда ўсмалар ҳосил бўлишининг молекуляр-генетик механизмлари ва ТГ гени экспрессияси регуляцияси бузилишларини ўрганиш.

Тадқиқотнинг вазифалари:

1. Нормада ва ҳар хил ўсмаларда қалқонсимон без ҳужайраларида ТГ полирибосомалар популяциялари миқдорини аниқлаш.
2. Қалқонсимон без ҳужайраларида ўсма пайдо бўлишида хроматиннинг таркибий – функционал хоссалари ва ДНК модификацияларини ўрганиш.
3. Айрим қалқонсимон без ўсмаларида ТГ гени экспрессияси регуляциясини ўрганиш.

Тадқиқотнинг объекти ва предмети: Тадқиқот объекти сифатида турли ўсма ҳолатларида беморларда ўтказилган жарроҳлик амалиётида олинган қалқонсимон без намуналари ва қалқонсимон безнинг ҳар хил ўсмалари билан оғриган беморлар қонидан ажратиб олинган ДНК (32 та папилляр аденокарцинома, 24 та фолликуляр аденокарцинома), назорат сифатида 12 нафар соғлом одам қонидан ажратиб олинган ДНК намуналаридан фойдаланилди.

Тадқиқот методлари: Мазкур ишни бажаришда биокимё ва молекуляр биологиянинг замонавий методларидан фойдаланилди: полирибосома ажратиб олишнинг магнийли усули, суммар РНК ажратиш, юқори молекуляр ДНК ажратиш, ДНК рестрикция таҳлили, ДНК гидролизи маҳсулотларининг рестриктазалар воситасида 0,8% агароза гелида электрофорезлаш, полимераза занжир реакцияси (ПЗР).

Ҳимояга олиб чиқиладиган асосий ҳолатлар:

1. Қалқонсимон безнинг ҳар хил ўсмаларида ТГ-синтезлайдиган полирибосомалар миқдори кескин камаяди. Ўсма ҳосил бўлиш жараёни ТГ синтезининг сезиларли камайиши билан кечади, бу ТГ гени экспрессияси регуляциясининг транскрипция ва трансляция даражасидаги бузилишлари билан изоҳланади.

2. Қалқонсимон безда ҳар хил ўсмаларнинг пайдо бўлишида ТГ генининг транскрипцион фаол бўлақларининг таркибий тузилиши ва хоссалари, ТГ гени потенциал фаол ҳолатини аниқловчи ва ушбу геннинг транскрипциясини таъминловчи омилларни аниқлаш муҳим аҳамиятга эгадир.

3. Қалқонсимон без ўсмаларининг пайдо бўлишида ДНК молекуласида мутация ўзгариши намоён бўлади, ТГ гени экспрессияси регуляциясида бузилишлар содир бўлади.

Илмий янгилиги: Ушбу диссертацияда ТГ гени экспрессияси регуляцияси бузилишлари барча мавжуд даражаларда ўрганилди, чунончи, трансляция даражасида, транскрипция, процессинг (мРНК молекуласининг етилиши) даражасида, мРНК ядродан чиқиши ва мРНК полирибосомага кириши даражасида, ДНК молекуласининг метилланиш даражасида. Қалқонсимон безда ўсма пайдо бўлишида индивидуал ТГ полирибосома таркибидаги ўзгаришлар биринчи марта тадқиқ қилинди.

Ишни бажариш давомида олинган натижалар одам геномининг таркибий ташкил топиши ва функциясини аниқлашда, генетик маълумот реализацияси

молекуляр механизмларини ва эндокрин безлардаги ҳар хил ўсмаларнинг пайдо бўлиш механизмларини ўрганишда фундаментал аҳамиятга эга бўлади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти: Мазкур ишда қалқонсимон безнинг ҳар хил ўсмаларининг молекуляр–генетик хусусиятлари тавсифлаб берилди, ТГ гени фаоллиги регуляциясидаги нуқсонлар ўрганилди, ушбу касаллик пайдо бўлишидаги ҳар хил молекуляр–генетик омиллар аниқланиб, улар орасида энг асосийси ТГ гени нуқсонларидир. Келажакда ушбу тадқиқот ТГ гени иш фаолиятидаги бузилишлар билан боғлиқ қалқонсимон без ўсмаларини молекуляр–генетик тадқиқ қилишни ривожлантириш асоси бўлиб хизмат қилади.

Қалқонсимон безнинг ҳар хил ўсмаларини тадқиқ қилишда молекуляр–генетик усулларнинг амалиётга кириб келиши ўсма пайдо бўлиш патогенези муаммоларини чуқур ўрганиш имконини беради ва касаллик оқибатларини эрта аниқлашнинг ишончли мезони бўлиши мумкин.

ТГ гени экспрессияси регуляциясида аниқланган бузилишлар қалқонсимон без ўсмаларини клиникагача эрта ташхислаш маркерлари сифатида шу касалликнинг олдини олиш ва кейинги даволаш мақсадида қўлланиши мумкин.

Тадқиқот натижаларининг жорий этилганлиги: Тадқиқот натижаларидан Низомий номидаги Тошкент Давлат Педагогика университети Табиийёт фанлари факультетида биокимё ва молекуляр биология дарсларида фойдаланилмоқда.

Ишнинг синалганлиги: Диссертациянинг асосий натижалари бўйича қўйдаги халқаро ва республика съездлари, конгрессларида, симпозиумларида, анжуманларда маърузалар қилинди: “Третий Московский Международный конгресс” (Пушино, 2005), ЎЗР ФА Биокимё институтининг ёш олимлари анжуманида (Тошкент, 2006), чет эл олимлари иштирокида ўтказилган “Современные проблемы биохимии и эндокринологии” (Тошкент, 2006), “Современные проблемы физиологии и биофизики” (Тошкент, 2007) анжуманларида, Ўзбекистон микробиологларининг IV съездида (Тошкент, 2008), “6-ой Российской конференции по фундаментальной онкологии” (Санкт-Петербург, 2010), ЎЗР ФА Биокимё институти қошидаги ихтисослаштирилган Д 015.16.01 кенгаш қошидаги илмий семинарда (Тошкент, 2010).

Натижаларнинг эълон қилиниши: Диссертация натижалари бўйича Ўзбекистон Республикаси ва Россия Федерациясининг турли тўпламларида 5 та журнал мақоласи, 9 та тезис чоп этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми; Диссертация кириш, адабиётлар таҳлили, тадқиқот материали ва методлари, тадқиқот натижалари, яқун, хулосалар, амалий аҳамияти, 15 та расм ва 12 та жадвал, шунингдек, 122 та МДХ ва чет эл муаллифлари манбаларини ўз ичига олган фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг умумий ҳажми 107 бет.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ.

Кириш қисмида мавзунинг долзарблиги асосланади, тадқиқотнинг мақсад ва вазифалари, илмий янгилиги, илмий ва амалий аҳамияти, ҳимояга олиб чиқиладиган асосий ҳолатлар баён қилинади, тадқиқотдан олинган натижаларнинг амалиётга татбиқ қилиниши асослаб берилади.

Диссертациянинг **биринчи бобда** қалқонсимон безнинг турли ўсмалари молекуляр-генетик жиҳатлари ёритилади. ТГ генининг таркибий-функционал ташкил топиши ва тузилиши, ДНК метилланишининг ўсма ҳосил бўлишидаги функционал роли таҳлил қилинади.

Иккинчи бобда тадқиқот материали ва методлар баён қилинади. ДНК қалқонсимон безнинг турли ўсмалари билан оғриган беморлар қонидан ажратиб олинди. Назорат тартибида соғлом донорлар қонидан олинган ДНК дан фойдаланилди. Полирибосома ва ДНК турли ўсмалар сабабли операция давомида олиб ташланган қалқонсимон без хужайраларидан ажратиб олинди.

Қалқонсимон без хужайраларидан суммар полирибосомалар магнийли усул билан олинди, шу усул ёрдамида полирибосомаларнинг оптимал чиқишига эришилди (Лейтин В.Л., Лерман М.И. 1969й.). Индивидуал ТГ полирибосомалар эримайдиган асосли оқсил антигенларининг ковалент боғланган ва таркибида синтезланаётган оқсилга антитана бўлган комплекслардан иборат иммунсорбентлар ёрдамида олинди. «Сандвич»– сорбентнинг эримайдиган асоси сифатида ион алмаштирувчи– параминобензилцеллюлоза (ПАБЦ) препарати олинди. ПАБЦ таркибида бирламчи ароматик аминогуруҳлар бўлиб, улар диазотланиш ва оқсиллар, гистонлар ва антитаналар билан бирлашиб, ўзига хос адсорбентлар ҳосил қила олади.

Суммар РНК SDS-фенол-хлороформ методи билан ажратиб олинди.

Юқори молекуляр ДНКни қон лейкоцитларидан ажратиш фенол экстракция методига мувофиқ амалга оширилди (Шипицина ва хаммуаллифл. 1980й.).

ДНК фракциялари депротеинланишнинг турли шароитларидан фойдаланиш туфайли ДНК нинг учта фракциясини ажратиш имконини берадиган модификацияланган фенол метод билан ажратиб олинди.

ДНК фракцияларини ^3HTT қДНК билан гибридлаш 30 мкг ДНК фракцияларидан бири, 50 мкг ^3HTT қДНК (1000 имп/мин), 3 мМ NaCl, 0,01 М трис–HCl, рН 7,5 солинган 30 мкл ҳажмли гибридлаш пробаларида амалга оширилди. Маълум вақт оралиғида пробалар 100 мкл гача сув билан аралаштириб, совутиб турилди ва умумий радиоактивликни ҳисоблаш учун «Rufs» филтрларига 30 мкл дан жойланди. Таркибида ^{32}P ТГ қДНК фрагментлари бўлган «Biodan» филтрларини гибридлаш 4хСТЭ, тўрт каррала Денхарт эритмаси, 0,5 мг/мл полиU, 0,1 % натрий додецилсульфат, 10% декстрансульфат (Pharmacia) ва 10 имп/мин/мл фосфор билан

белгиланган ТГ кДНК таркибли 10 мл аралашмада 65° ҳароратда 15 соат мобайнида амалга оширилди.

ТГ комплементар ДНК полимераза занжирли реакция (ПЗР) методи билан олинди.

Қалқонсимон без хужайраларидан ядролар таркибида 5мМ MgCl₂, 1 мМ дитиотрейтол (ДТТ), 10мМ трио-НСl, рН 7,5 (Б буфери) бўлган 0,25 М сахарозада чўктириш ва кейин Б буферидаги 2 М сахарозага қаватлаб тозалаш йўли билан олинди (1 соат давомида 24000 айл/мин SW-27 ротор, «Beckman»)

Учинчи боб қалқонсимон безнинг турли ўсмаларида ТГ гени экспрессия регуляциясининг бузилишларини ўрганишга бағишланган.

Тиреоглобулин гени учун кДНК синтези ва физик-кимёвий тавсифи. Қалқонсимон безнинг турли ўсмаларида ТГ генида кечадиган бузилишларни ўрганиш учун ТГ генида мутация ўзгаришларини аниқлаш бўйича экспериментларда зонд сифатида фойдаланиладиган кДНК ТГ бўлиши зарур. ТГ гени учун кДНК ПЗР методи билан синтезланди. ТГ комплементар ДНК 0,5 мкг суммар РНК да тескари транскриптаза иштирокида ТГ гени учун ўзига хос бўлган:

for 5¹ – AGGCTAGGAAAATGGCCCTGGTCC – 3¹

rev 5¹ – TTGGATCCTTATGTGGGGGAATCTGCC- 3¹

праймерларидан фойдаланиган ҳолда синтезланди.

ПЗР инкубация муҳитида амалга оширилди: 50 мкл таркибида 60мМ трис-НСl (рН 8,6), 6 мМ ЭДТА, 10 мМ β-меркаттоэтанол, 10мкг/мл ВСА, 4-х нуклеотидларнинг ҳар биридан 1 мМ дан, 2 бирлик тескари транскриптаза мавжуд эди. ТГ кДНК синтези учун ДНК – полимераза I ва РНК боғлиқ ДНК-полимераза (ревертаза) дан ҳам фойдаланилди.

Амплификациянинг 35 циклининг охирида элонгация ниҳоясига етиши учун пробалар 72°С ҳароратда тутиб турилди, кейин бром этидли 1% агарозада реакциянинг аралашмаси (10мкл) аликвотасини электрофорез ёрдамида амплификация даражаси текширилди.

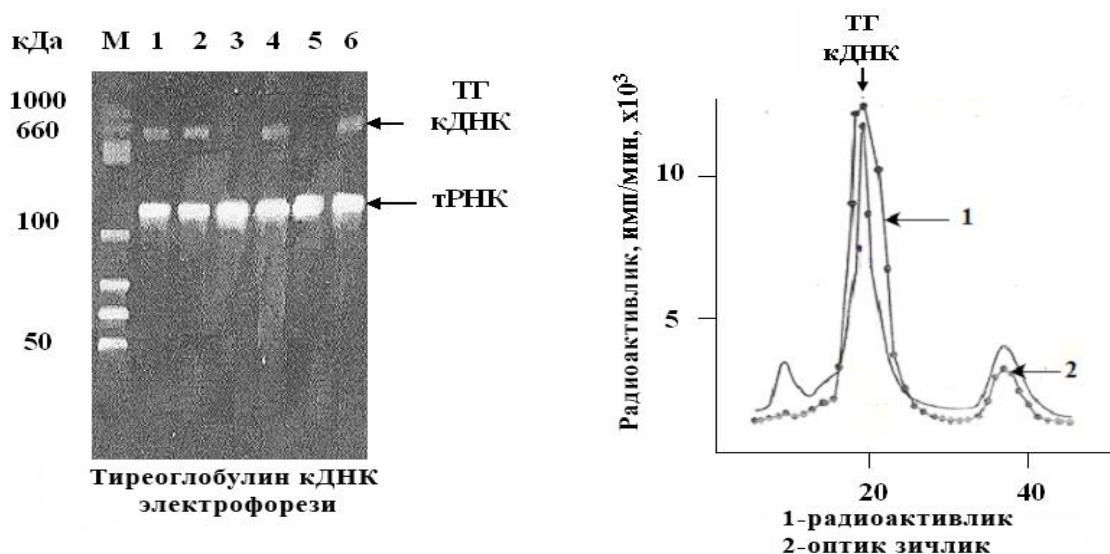
1-расмда 5-20% ли сахароза градиентида ТГ гени учун кДНК амплификациясидан кейинги электрофорез ва ультрацентрифугалаш натижалари кўрсатилган. Маркер сифатида сичқон жигаридан цитоплазматик РНК олинди. ТГ гени учун кДНК седиментация коэффиценти 33S га тенг, бу адабиётларда келтирилган маълумотларга ва биз олган натижаларга мос келади.

Шундай қилиб, ТГ гени учун синтезланган кДНК ушбу ген экспрессияси нуқсонларини ҳар хил ўсма ҳолатларида қалқонсимон без хужайраларида ўрганиш бўйича тадқиқотларда фойдаланилади.

Индивидуал полирибосомалар иммуносорбция жараёнининг таҳлили ва ПАБЦ-ТГ:аТГ сифимини аниқлаш.

Индивидуал ТГ полирибосомаларни ажратиш учун “сандвич” типигаги иммуносорбентлардан фойдаланилди. “Сандвич” сорбентининг эримайдиган

асоси сифатида улар diaзотланувчи ва ўзига хос адсорбент ҳосил қилиб оқсиллар, гистонлар ва антителалар билан бирикадиган бирламчи ароматик



1- расм. Тиреоглобулин к ДНК синтези ва сахароза зичлиги градиентидаги ултрацентрифугалаш

аминогуруҳларга эга бўлган ПАБЦ ионалаштирувчи тижорат препаратидан фойдаланилди.

Турли шароитларда ПАБЦ-ТГ билан қанча миқдорда аТГ бирикишини ўлчаш, нонспецифик сорбциялар даражасини аниқлаш ва “сандвич”-сорбент тайёрлаш учун ПАБЦ-ТГ билан нормал аТГ зардоб орасидаги боғлиқлик тадқиқ қилинди (2-расм). Инкубация аралашмаларида аТГ концентрациясининг ортиши билан иммуносорбентнинг эришилган сифими ортади. Бироқ олинган сифим максимал ҳисобланмайди, эгри чизикли боғланиш текислигининг йўқлиги шундан далолат беради. Эгри чизик шакли бир неча хил боғланиш мавжудлигини кўрсатиб, афтидан, ПАБЦ аминугуруҳларининг ноэквивалентлигини ифодалайди.

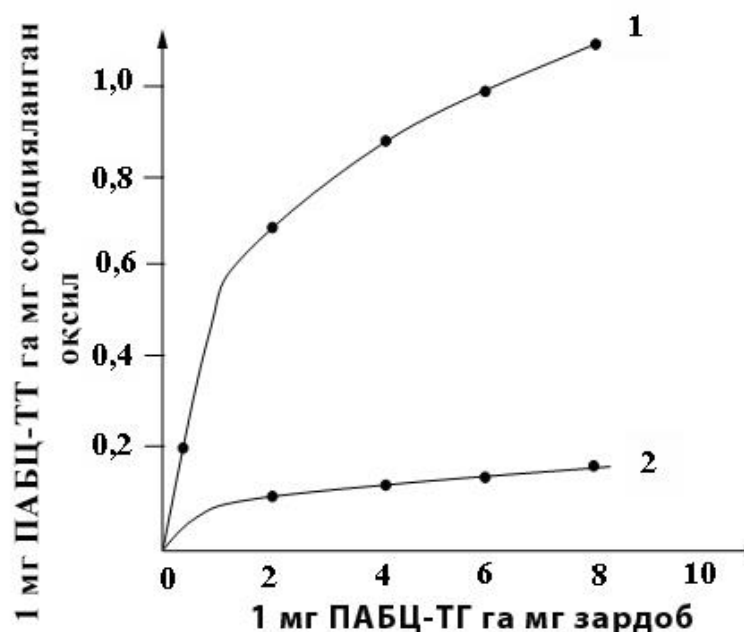
ПАБЦ-ТГ:аТГ иммуносорбент тайёрлашда биз 1мл миқдордаги аТГ ва 1мг ПАБЦ миқдор нисбатни танладик, чунки бундай шароитда эришиладиган аТГ бўйича ПАБЦ-ТГ сифими 0,6мг аТГ/мг ПАБЦ-ТГ нисбатгача таъминланади. Инкубациянинг бундай шароитида 1 мг ПАБЦ-ТГ билан 1мг миқдоргача аТГ боғланиш ҳосил қилади (2- расм, 1- эгри чизик).

Нормал аралашма оқсилларининг нонспецифик сорбцияси 0,1 мг/мг ПАБЦ дан ошмайди, қолаверса, иммуносорбент билан нонспецифик боғланиш ўринлари қатъий чекланган (2-расм, 2-эгри чизик).

Шундай қилиб, биз ўзининг сифими юқори ва нонспецифик сорбциялар миқдори жуда кам бўлган ПАБЦ-ТГ:аТГ имуносорбентини олдик.

Ҳар хил қалқонсимон без ўсмаларида индивидуал тиреоглобулин полирибосома популяциялари миқдорини аниқлаш. Қалқонсимон безнинг бир қатор касалликларида тиреоид тўқималаридаги ТГ миқдори кескин ўзгаради, ТГ структурасида ҳам ўзгаришлар қайд этилади.

Қалқонсимон без ўсмалари ҳосил бўлиш механизмларини ўрганишда, эрта ташхислаш методларини ишлаб чиқишда индивидуал полирибосомалар



1-эгри чизиқ-антитиреоглобулин аралашма. 2-эгри чизиқ-нормал аралашма.
2-расм. Нормал ва антитиреоглобулин аралашма оксилларининг ПАБЦ-ТГ:аТГ билан боғланиш эгри чизиқлари

популяцияси миқдори ҳақидаги масала алоҳида ўрин тутади, зеро айнан трансляцияланадиган мРНК молекулалари миқдори оксил синтези тезлигини белгилайди.

Қалқонсимон без ўсмаларининг ҳосил бўлиш жараёнларини ўрганиш учун индивидуал полирибосомалар ва улардан ажратилган натив мРНК керак, шунинг учун индивидуал полирибосомалар ва мРНК таркиби, функциялари ва миқдорини тадқиқ қилишни қалқонсимон без ўсмалари ҳосил бўлиш механизмларидан бири, деб ҳисоблаш мумкин.

Полирибосомалар ҳар бир ўсма тўқимасидан магнийли усул билан ажратиб олинди, унинг ёрдамида полисомаларнинг оптимал чиқишини таъминлашга эришилди. 1-жадвалда патологик без ва нормал тўқималаридан олинган полирибосомаларнинг спектрал хоссаларини ва чиқишини баҳолаш имконини берадиган маълумотлар келтирилган.

Жадвал маълумотларидан кўринадики, ажратиб олинган суммар полирибосомалардан уларнинг физик-кимёвий хоссаларига кўра турли ўсмалар ҳолатида қалқонсимон без ҳужайраларида индивидуал ТГ полирибосома популяцияларининг ўлчамларини аниқлаш бўйича тадқиқотларда фойдаланиш мумкин. Тадқиқотда қалқонсимон без тўқимасининг 28 та намунасидан фойдаланилди, шундан папилляр аденокарцинома (12та ҳолат), фолликуляр аденокарцинома (8та ҳолат), нормал тиреоид тўқима (8та ҳолат).

ТГ-синтезлайдиган полирибосомалар миқдорини аниқлаш учун таркиби бир хил миқдордаги полирибосома ва ҳар хил миқдордаги “сандвич” –ПАБЦ-

ТГ:аТГ сорбентидан иборат инкубация аралашмалари туркуми тайёрланди (2 жадвал).

1-жадвал

Магнийли усулда ажратиб олинган полирибосомаларнинг айрим физик-кимёвий хоссалари (Студентнинг t-мезони мустақил гуруҳлар учун)

т.р	Тадқиқот объекти	D ₂₆₀ / D ₂₃₅	D ₂₆₀ / D ₂₈₀	хом тўқимада РНК миқдори мкг/г	Полисомалар чиқиши	
					мкг/г хом тўқима	%
1	Нормал тиреоид тўқима	1,47±0,8	1,81±0,18	390±21	500±34	80±1,5
2	Папилляр карцинома	1,55±0,14	1,81±0,22	457±26**	572±42**	75±1,9
3	Фолликуляр карцинома	1,41±0,24	1,75±0,16	470±21**	520±29*	76±1,8

Изох: **p<0,05 , *p<0,01 да ишончли фарқ қилади.

2-жадвал

Инкубация аралашмалари таркиби

т.р.	Полири-босомалар*	ПАБЦ-ТГ:аТГ мл**	Буфер	Инкубация аралашмаси таркибида:			
				полирибосомалар		ПАБЦ-ТГ:аТГ	
				мг	мг/мл	мг	мг/мл
1	0,12	0,012	0,0175	0,016	1,0	0,125	1,2
2	0,12	0,025	0,005	0,016	1,0	0,25	0,64
3	0,12	0,025	0,005	0,016	1,0	0,5	0,32
4	0,12	0,05	-	0,016	1,0	1,0	0,16

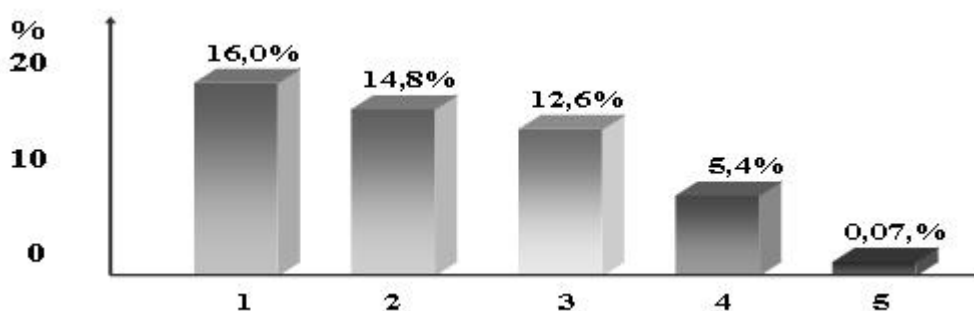
*- 1,2 мг/мл бошланғич эритмада полирибосомалар концентрацияси;

** - 1- ва 2- нуқталарда 10 мг/мл иммуносорбент концентрацияси; 20 мг/мл 3-ва 4- нуқталарда.

Фолликуляр аденокарцинома ҳолатида ТГ полирибосомалар миқдори аниқланди. Фолликуляр аденокарциномада ТГ полирибосома популяцияси ўлчами 5,4 фоизни ташкил этади. Кейинги туркум экспериментларда ТГ полирибосомалар миқдори папилляр аденокарцинома ҳолатида аниқланди. Папилляр карциномада ТГ полирибосома популяцияси ўлчамини аниқлаш шуни кўрсатдики, папилляр аденокарциномада қалқонсимон без хужайраларида ТГ полирибосома популяцияси миқдори 0,07 фоизни ташкил этади. 3-расмда қалқонсимон без хужайраларида ТГ-синтезловчи полирибосома популяция ўлчамларини аниқлаш бўйича йиғма маълумотлар келтирилган.

Қалқонсимон без ўсмаларида ТГ-синтезловчи полирибосома популяция миқдорининг камайиши, ушбу касаллик ҳолатида ТГ мРНК ё деярли мавжуд

бўлмаслиги, ё ҳосил бўлса-да, трансляция қобилятига эга эмаслигини кўрсатади.



1-нормал тиреоид тўқимада, 2-қорамол қалқонсимон безида, 3-тугун эутиреоид буқоқ, 4-фолликуляр аденокарцинома, 5-папилляр аденокарцинома.

3-расм. Индивидуал ТГ- полирибосомалар популяцияси микдори.

Қалқонсимон без хужайраларида ҳар хил ўсма ҳолатларида тиреоглобулин биосинтези. Ўсма пайдо бўлиш жараёни, одатда, ТГ синтезидаги нуқсон билан боғлиқ. Нормал ва ҳар хил ўсма ҳолатларида қалқонсимон без хужайралари оқсил синтезловчи тизимлар фаоллиги тадқиқ қилинди. Оқсил синтезлаш аппарати компонентларини (полирибосомалар, трансляциянинг оқсил омиллари, тРНК ва аминоксил-тРНК- синтетазалар) тизимга хужайра гомогенатини 10 дақиқа давомида 3000 g тезликда центрифугалаш билан олинган фракциялар кўринишида киритилди (S_{30} фракцияси). S_{30} фракция концентрацияси тизимда 1 мл га 20 бирлик D_{260} ни ташкил этди. Хужайрасиз тизим 37° ҳароратда 1 соат давомида инкубацияланди. Хужайрасиз оқсил синтезловчи тизимга C^{14} - аминокислота киритиш натижалари 3-жадвалда келтирилган.

3-жадвал

C^{14} -аминокислоталарнинг қалқонсимон без хужайраларидан хужайрасиз оқсил синтезловчи тизимга киритилиши

Патология тури	C^{14} – аминокислота киритилиши (имп/дақ , 20 бирлик S_{30} фракцияга)
Диффуз заҳарли буқоқ n-10	1416±82
Фолликуляр карцинома n-8	320±21
Папилляр карцинома n-12	15,6±1,9

Жадвал натижаларидан кўринадикки, фолликуляр карциномада қалқонсимон безнинг оқсил синтезлаш фаоллиги 77%, папилляр карциномада

Ўсма ҳолатларида қалқонсимон без хужайралари ДНК транскрипция–фаол фракцияларини ўрганиш. Қалқонсимон безнинг ўсмаларида хроматиннинг функционал турлича бўлимлари ДНК структураси хусусиятларини ўрганиш учун транскрипция фаоллиги турлича бўлган ДНК фракциялари ажратилди ва ДНК-ДНК дурагайлаш йўли билан бу фракцияларда ТГ гени кетма-кетликлари миқдори аниқланди.

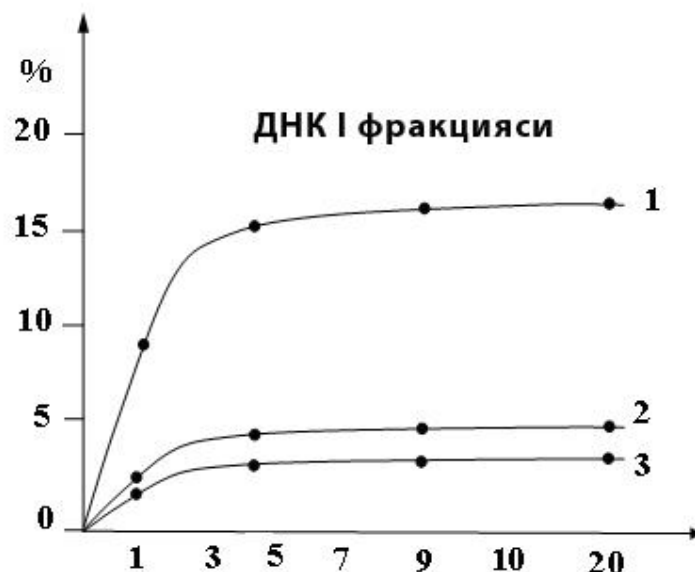
Қалқонсимон без хужайраларидан папилляр ва фолликуляр аденокарциномада дифференциал детергентсиз фенол–туз депротейнлаш усули билан урта: ДНК I, ДНК II ва ДНК III фракциялар ажратиб олинди.

ДНК I фракцияси ноёб кетма–кетликлар билан бойитилган дурагай ДНК миқдори катталиги асосида транскрипцион фаол ДНК сифатида тавсифланди. ДНК II геномнинг барқарор репрессияланган бўлаклари ДНК сидир. ДНК III геномнинг потенциал фаол соҳаси ҳисобланади. Мазкур метод юқори молекулали кўринишдаги транскрипцион фаол ДНК олиш имконини беради, бу эса унинг таркибий хусусиятларини тадқиқ қилиш имкониятини яратади.

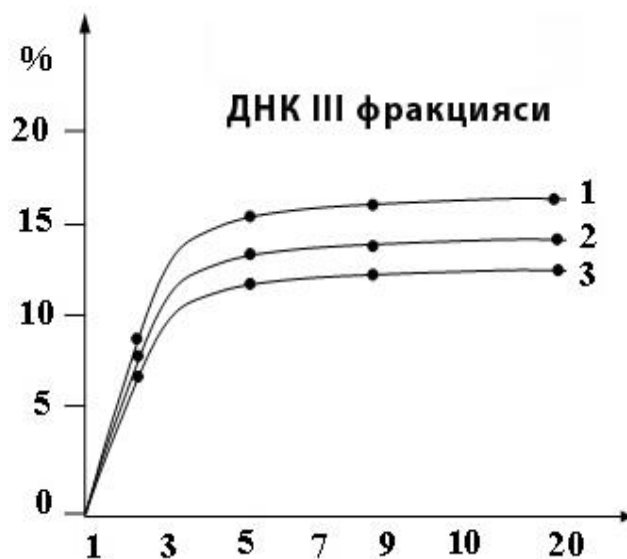
ДНК I, ДНК II и ДНК III функционал фарқлар ТГ гени кетма–кетликларининг таркибий тузилишини бу фракцияларни ТГ геннинг 5^1 – соҳасини ўзида мужассамлантирган ортиқча ^3H ТГ кДНК билан молекуляр дурагайлаш усули билан бевосита исботланди. 4-расмда қалқонсимон без хужайраларидан нормал ва патологик ҳолатларда олинган ДНК I фракциясини дурагайлаш натижалари акс этган. Расмдан кўришиб турибдики, папилляр аденокарциномада ДНК I фракциясини дурагайлаш эгри чизиги 2,5% қийматда, фолликуляр аденокарциномада эса 4,0% қийматда текисликка эришилди, нормал тиреод тўқималарда 15% қийматда текисликка эришилди.

5-расмда қалқонсимон без хужайраларидан нормада, папилляр ва фолликуляр аденокарциномада ДНК III фракциясини дурагайлаш натижалари акс этган. Расмдан кўринадикки, ДНК III фракциясини дурагайлаш эгри чизиги папилляр аденокарциномада 8%, да, фолликуляр аденокарциномада эса 10% а текисликка эришади. Папилляр ва фолликуляр аденокарциномада қалқонсимон без хужайраларида ДНК III фракциясида ТГ гени кетма-кетликларининг катта миқдорда бўлиши бу фракция ДНК I фракциясидан фарқли ўлароқ, транскрипцияланадиган геном кетма-кетликларига бой.

Шундай қилиб, олинган натижалардан кўринадикки, папилляр ва фолликуляр аденокарциномада ДНК I фракцияси транскрипцион фаол эмас ва ТГ гени кетма–кетликлари ушбу патология ҳолатида геномнинг потенциал фаол соҳаларида жойлашади. Бу папилляр ва фолликуляр аденокарциномада қалқонсимон без хужайраларининг транскрипция фаоллиги паст экани билан яхши корреляциялади: мазкур касалликларда ТГ мРНК амалда мавжуд эмас.



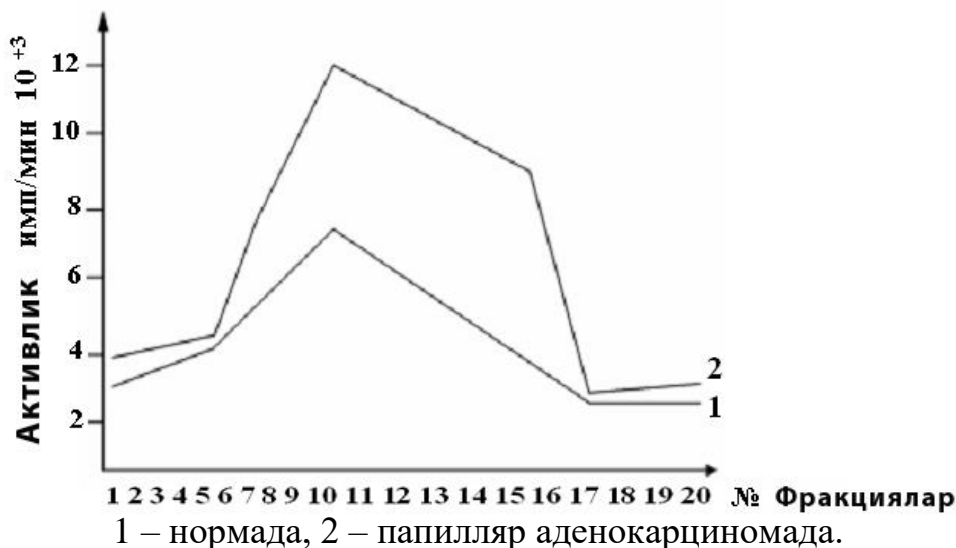
1 – диффуз захарли буқоқ, 2 - фолликуляр аденокарцинома,
3 - папилляр аденокарцинома
4-расм. ДНК I фракциясини дурагайлаш эгри чизиқлари.



1 – диффуз захарли буқоқ, 2 - фолликуляр аденокарцинома,
3 - папилляр аденокарцинома.
5-расм. ДНК III фракциясини дурагайлаш эгри чизиқлари.

Қалқонсимон без хужайраларида турли ўсмалар ҳосил бўлиш жараёнида ДНК молекулаларининг метилланишини ўрганиш. Қалқонсимон безда турли ўсмалар ҳосил бўлишининг молекуляр– генетик омилларидан бири ДНК метилланиш сайтларининг ўзгаришидир, бунда CpG–динуклеотид таркибидаги (нормада метилланмаган) цитозиннинг сайланма локал гиперметилланиши содир бўлади, яъни ДНК молекуласининг гиперметилланиши кузатилади. Ўсма хужайраларида умумий деметилланиш ҳам рўй беради. Турли ўсмаларда ДНК нинг бир вақтда гиперметилланиши

ва гипометилланиши сабабларини тушуниш учун нормал ва ўсма хужайраларининг ДНК–метилтрансфераза фаоллиги ўрганилди. Шу мақсадда амалда соғлом одамлар қони лейкоцитларидан ҳамда папилляр ва фолликуляр аденокарцинома билан оғриган одамлар қонидан ДНК молекулалари ажратиб олинди ва ДНК-метилтрансфераза ферменти билан ишлов берилди. ДНК молекуласини метиллаш учун уларга ДНК – метилтрансфераза билан ишлов берилди. Қалқонсимон без ўсмаларида метилтрансфераза фаоллигининг ўзгариши кўрсатиб берилди.



6-расм. Папилляр аденокарциномада қалқонсимон без хужайраларида метилтрансфераза фаоллиги

6-расмда ўсма турига боғлиқ ҳолда ушбу фермент фаоллигининг ўзгариши эгричиликлари келтирилади. Расмдан кўринадикки, папилляр аденокарциномада метилтрансферазанинг фаоллиги нормадагига нисбатан 1,76 марта ортади. ТГ гени экспрессияси ва метилланиши орасидаги ўзаро алоқадорликни ўрганиш давомида ТГ генининг 5¹ –фланкирловчи соҳасида жойлашган метилланишга сезгир сайтлар папилляр аденокарциномада гиперметилланиши кўрсатиб берилди, қачонки нормал тиреоид тўқималарда бу сайтларнинг тўлиқ метилланмаслиги кузатилади.

Тиреоглобулин генида мутация ўзгаришларини аниқлаш учун ДНК рестрикция хариталаш. Ҳар хил ўсмаларда қалқонсимон без хужайралари ТГ генида унинг фаолиятини бузадиган турлича мутация ўзгаришлари кузатилади. ТГ гени экспрессияси регуляциясининг бузилишлари турли ирсий касалликларга, шунингдек қалқонсимон без хужайраларида ўсма ҳосил бўлишига олиб келади. Папилляр ва фолликуляр аденокарцинома билан оғриганларнинг қалқонсимон без хужайраларидан, шунингдек одамнинг нормал қонидан юқори молекулали ДНК молекулалари ажратиб олинди.

ДНК га BamH1, HindIII, EcoRV, EcoRI, PstI эндонуклеазалари билан 0,04М трис-НСl, рН 7,4, 0,01М MgCl₂, 0,05М NaCl, 0,01М дитиотрейтол таркибли буферда рестрикция ишлов берилди. Маркер сифатида айнан шу рестриктазалар билан ишлов берилган λ бактериофаги ДНК си олинди.

Электрофарездан кейин ДНК фрагментлари Саузерн усулида «Biodan» нейлон филтрларига кўчириб ўтказилди.

Папилляр аденокарцинома билан оғриган бемор ДНК сига рестрикция таҳлил усулида EcoRI эндонуклеаза билан ишлов берилганда 3 та фрагмент, фолликуляр аденокарциномада 4 та фрагмент аниқланди. Папилляр аденокарцинома билан оғриган беморлар ДНК сида 6,8 м.н.ж. ўлчамли фрагмент йўқлиги маълум бўлди. Натижалар кўрсатадики, папилляр аденокарциномада таркибида ТГ гени бўлган ДНК кетма-кетликларида делеция содир бўлган. Фолликуляр аденокарцинома билан оғриган беморлар ДНК сида мутация ўзгаришлари аниқланмади.

Қалқонсимон безнинг ҳар хил ўсмаларида турли хромосома ўзгаришлари аниқланади. Келтирилган маълумотлардан кўринадики, папилляр аденокарциномада ТГ мРНК миқдорининг кескин камайиши содир бўлади, ТГ генидаги мутация ўзгаришлари бунинг тасдиғи бўла олади. ТГ мРНК даражасидаги ўзгариш ўсма пайдо бўлишида қалқонсимон безнинг ҳолатини белгилайди. Қалқонсимон бездаги ҳар хил ўсмаларда ТГ гени экспрессиясининг транскрипция даражасида регуляцияси жиддий роль ўйнайди.

Шундай қилиб, тиреоид ўсмалар патогенезида ТГ гени экспрессия регуляцияси муҳим ўрин тутди ва қалқонсимон без ўсмалари ҳосил бўлиш омилларидан бири саналади, бу касалликларни клиникага эрта ташхислаш маркери сифатида фойдаланилиши мумкин.

ХУЛОСАЛАР

Тадқиқот натижалари қуйидаги хулосаларга келиш имконини беради:

1. Индивидуал ТГ полирибосомалар популяцияси ўлчамларини аниқлаш учун ПАБЦ-ТГ:аТГ иммунсорбенти олинди, олинган иммунсорбентнинг эришилган сиғими 0,14 мг/мг га тенг.

2. Нормда ва қалқонсимон безнинг турли ўсмаларида қалқонсимон без хужайраларида индивидуал ТГ полирибосомалар популяцияси ўлчамлари аниқланди. ТГ полирибосомалар ўлчамлари: нормал тиреоид тўқимада 16%, фолликуляр аденокарциномада 5,4%, папилляр аденокарциномада 0,07% ни ташкил қилиши аниқланди.

3. Қалқонсимон без хужайраларининг оқсил синтезлаш фаоллиги фолликуляр аденокарциномада 77% га; папилляр аденокарциномада 98% га камаяди.

4. Папилляр ва фолликуляр аденокарциномада қалқонсимон без хужайраларидаги ДНК I ва ДНК III фракцияларида ТГ генининг кетма-кетлик мазмуни ўрганилди. Аниқландики, папилляр ва фолликуляр аденокарциномада ДНК I фракцияси ТГ гени кетма-кетликлари билан бойитилмаган.

5. Папилляр аденокарциномада генетик бекарорликка олиб келадиган хромосома абберациялари аниқланди. Хромосома абберациялари даражаси 2,8% ни ташкил қилади.

6. Папилляр аденокарциномада метилтрансфераза фаоллиги нормага нисбатан 1,76 мартага ортади. Папилляр аденокарциномада ТГ геннинг регуляция (бошқарув) соҳасида гиперметилланиш содир бўлади.

7. Папилляр аденокарциномада ДНК га EcoRI билан ишлов берилганда, гетерозиготалилик йўқолади, бу ТГ генида 3,4 м.н.ж. ўлчамли йирик делеция юзага келиши билан кечади.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ.

1. Маматкулов Д., Абдугаффулова Д. Изменение содержания тиреоглобулиновых полирибосом в клетках щитовидной железы при различных опухолях// Матер. научно-практич. конф. «Современные проблемы биохимии и эндокринологии». – Ташкент, 2006.- С.47-48.

2. Кадырова Д.А., Ибрагимов А.А., Ибрагимова Э.А., Саидкаримов И.С., Маматкулов Д.А. Сравнительный анализ ДНК клеток крови и слюны при некоторых формах тиреоидной патологии// Проблемы биологии и медицины. – Самарканд, 2007. Т.50.- С. 27-30.

3. Кадырова Д.А., Маматкулов Д.А., Зиямухамедова С.А., Абдугаффулова Д.Г. Молекулярно-генетические факторы образования опухолей щитовидной железы, ранняя диагностика// Проблемы биологии и медицины. – Самарканд, 2007. № 4 (50).- С.34-37.

4. Ибрагимова Э.А., Кадырова Д.А., Маматкулов Д.А., Ялалова И.Р., Зиямухамедова С.А. Характеристика полирибосом щитовидной железы человека при различных опухолях// Современные проблемы физиологии и биофизики: Матер. респуб. науч. конф. 24-25 октябрь. – Ташкент, 2007.- С.44-45.

5. Маматкулов Д.А., Кадырова Д.А., Абдугаффулова Д.Г., Зиямухамедова С.А. Структурно-функциональные особенности и закономерности экспрессии гена тиреоглобулина при опухолях щитовидной железы// Современные проблемы физиологии и биофизики: Матер. респуб. науч. конф. 24-25 октябрь. – Ташкент, 2007.- С.74-75.

6. Кадырова Д.А., Маматкулов Д.А., Зиямухамедова С.А., Абдугаффулова Д.Г. Изменения структуры хроматина, связанные с экспрессией гена тиреоглобулина при различных опухолях щитовидной железы// ДАН РУз. – Ташкент, 2008.- № 4.- С.98-101.

7. Кадырова Д.А., Маматкулов Д.А., Абдугаффулова Д.Г., Алланазарова Б. Нарушение регуляции экспрессии гена тиреоглобулина в клетках щитовидной железы при различных опухолях// Матер. конф.

«Фундаментальная и клиническая эндокринология, проблемы и перспективы». – Харьков, 2008.- С.65-66.

8. Кадырова Д.А., Абдугафурова Д.А., Маматкулов Д.А. Активность метилтрансферазы при различных опухолях щитовидной железы и при клеточном старении// Матер. респуб. науч. конф. «Проблемы современной микробиологии и биотехнологии». – Ташкент, 2009.- С.115.

9. Кадырова Д.А., Маматкулов Д.А. Изучение статуса метилирования ДНК и экспрессии гена тиреоглобулина при различных опухолях щитовидной железы// Матер. 6-й Российской конф. по фундаментальной онкологии. – Санкт-Петербург, 2010.- С.23-24.

10. Кадырова Д.А., Маматкулов Д.А., Абдугафурова Д.Г. Содержание тиреоглобулиновых полирибосом щитовидной железы в норме и при опухолеобразовании// Матер. 6-й Российской конф. по фундаментальной онкологии. – Санкт-Петербург, 2010.- С.24.

11. Кадырова Д.А., Маматкулов Д.А., Касымов О.Ш., Ибрагимов А.А. Значение процесса метилирования ДНК гена p53 при различных опухолях щитовидной железы// Матер. 6-й Российской конф. по фундаментальной онкологии. – Санкт-Петербург., 2010.- С.24-25.

12. Кадырова Д.А., Маматкулов Д.А. Нарушение регуляции экспрессии гена тиреоглобулина – один из маркеров диагностики опухолей щитовидной железы// Проблемы биологии и медицины. – Самарканд, 2010.- № 1(60).- С.139-143.

13. Кадырова Д.А., Маматкулов Д.А., Ялалова И.Р., Абдуллаева М.И. Содержание последовательностей гена тиреоглобулина во фракциях ДНК с различной транскрипционной активностью в клетках щитовидной железы при различных опухолях// Назарий ва клиник тиббиёт–Ташкент, 2010.-№4.- С.82-85.

Биология фанлари номзоди илмий даражасига талабгор Маматқулов Дониёр Анваровичнинг 03.00.04 - Биокимё ихтисослиги бўйича “Қалқонсимон без хужайраларидаги ўсма ҳосил бўлишида тиреоглобулин гени экспрессияси қонунлари ва структура-функционал тузилиши” мавзусидаги диссертациясининг

РЕЗЮМЕСИ

Таянч (энг муҳим) сўзлар: қалқонсимон без, тиреоглобулин, индивидуал ТГ полирибосомалар, иммуносорбент, метилланиш, РНК, ДНК, экспрессия, папилляр аденокарцинома, фолликуляр аденокарцинома.

Тадқиқот объектлари: бемор ва соғлом донорлар қонидан олинган ДНК намуналари, турли ўсма ҳолатларида беморларда ўтказилган жарроҳлик амалиётида олинган қалқонсимон без намуналари.

Ишнинг мақсади: ишнинг асосий мақсади ҳар хил қалқонсимон без ўсмаларида ТГ гени экспрессияси қонуниятлари ва таркибий–функционал тузилишини, ўсмалар ҳосил бўлишининг молекуляр–генетик механизмларини ва ТГ гени экспрессияси регуляциясининг бузилишларини ўрганиш ва ушбу касалликларни эрта ташхислаш учун назарий асос яратиш.

Тадқиқот методлари: полирибосома ажратиб олишнинг магнийли усули, суммар РНК ажратиш, ПАБЦ-ТГ:аТГ иммуносорбенти олиш, юқори молекуляр ДНК ажратиш, ДНК рестрикция таҳлили, рестриктазаланган ДНК гидролизи маҳсулотларини 0,8%ни агароза гелида электрофорези, ДНК фрагментларини сақловчи “Biodan” нейлон фильтрида ³²P-нишонланган кДНК билан дурагайлаш, Полимераза занжир реакциялари.

Олинган натижалар ва уларнинг янгилиги: ПАБЦ-ТГ:аТГ иммуносорбенти олинди. Индивидуал ТГ полирибосомалар миқдори аниқланди. Папилляр аденокарциномада индивидуал ТГ полирибосомалар миқдорининг камайиши кузатилди. Папилляр аденокарциномада генетик ўзгаришларга сабабчи хромосома абберациялари ўрганилди, хромосома абберацияларининг частотаси 2,8% ташкил этади. Папилляр аденокарциномада ТГ гени экспрессияси регуляциясидаги бузилишлар мРНК синтези даражасида, яъни транскрипция даражасида рўй беради.

Амалий аҳамияти: қалқонсимон без ўсмаларини тадқиқ қилишнинг молекуляр–генетик усулларини амалиётга жорий қилиш ўсма пайдо бўлиш механизмларини янада тўлиқ ва чуқур ўрганиш имконини беради, бу касаллик оқибатини эрта аниқлаш жиддий мезони саналади.

Татбиқ этиш даражаси ва иқтисодий самарадорлиги: тадқиқот натижаларидан қалқонсимон без ўсмаларини эрта ташхислашда, университетларнинг биология факультетларида молекуляр биология ва гормонлар биокимёси, тиббиёт институтларида эндокринология курсларини ўқитишда фойдаланиш мумкин.

Қўлланиш (фойдаланиш) соҳаси: биокимё, молекуляр биология, биотехнология, тиббиёт, эндокринология.

РЕЗЮМЕ

диссертации Маматкулова Дониёра Анваровича на тему: «**Структурно-функциональная организация и закономерности экспрессии гена тиреоглобулина при опухолеобразовании в клетках щитовидной железы**» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04-Биохимия

Ключевые слова: щитовидная железа, тиреоглобулин, ТГ полирибосомы, иммуносорбент, метилирование, РНК, ДНК, экспрессия, папиллярная аденокарцинома, фолликулярная аденокарцинома.

Объекты исследования: образцы ДНК, полученные из крови больных и здоровых доноров, щитовидные железы больных, удаленные во время операции по поводу различных опухолей.

Цель работы: изучить структурно-функциональные особенности и закономерности экспрессии гена ТГ при различных опухолях щитовидной железы, молекулярно-генетические механизмы образования опухолей щитовидной железы, нарушение регуляции экспрессии гена ТГ и создание теоретической базы для ранней диагностики этих заболеваний.

Методы исследования: выделение полирибосом магниевым методом, выделение суммарной РНК, получение иммуносорбента ПАБЦ-ТГ:аТГ, выделение высокомолекулярной ДНК, обработка ДНК рестрикционными эндонуклеазами, электрофорез продуктов гидролиза ДНК рестрикционными эндонуклеазами. Гибридизация нейлоновых фильтров "Biodan", содержащих фрагменты ДНК с P^{32} -меченой кДНК, полимеразная цепная реакция.

Полученные результаты и их новизна: получен иммуносорбент ПАБЦ-ТГ:аТГ. Определен размер популяции индивидуальных ТГ полирибосом. Показано, что при папиллярной аденокарциноме наблюдается снижение содержания индивидуальных ТГ полирибосом.

При папиллярной аденокарциноме выявлены хромосомные аберрации, что приводит к генетической нестабильности, частота хромосомных аберраций составляет 2,8%. Показано, что при папиллярной аденокарциноме происходит нарушение регуляции экспрессии гена ТГ на уровне синтеза мРНК, т.е. на уровне транскрипции.

Практическая значимость: введение в практику молекулярно-генетических методов исследований опухолей щитовидной железы способствует более полному пониманию механизма опухолеобразования, что является существенным критерием прогноза исхода заболевания.

Степень внедрения и экономическая эффективность: результаты исследований могут быть использованы при разработке подходов для ранней диагностике опухолей щитовидной железы, а также при чтении курсов молекулярной биологии и биохимии на биологических факультетах Университетов и курсах эндокринологии медицинских институтов.

Область применения: биохимия, молекулярная биология, биотехнология, медицина, эндокринология.

THE RESUME

Thesis of Mamatkulov Donier Anvarovich on the scientific degree competition of the doctor of philosophy in biology on specialty 03.00.04-Biochemistry, subject: "**Structurally functional organization and laws expression of thyroglobulin gene at cancerogenesis in cells of the thyroid gland**"

Key words: a thyroid gland, thyroglobulin, TG polyribosomes, immunosorbent, methylation, RNA, DNA, expression, papillary adenocarcinome, follicular adenocarcinome.

Subjects of research: samples DNA received from blood of sick and healthy donors, the thyroid glands of patients removed during operation concerning various tumors.

Purpose of work: studying structurally - functional features and laws expression TG gene at various tumors of a thyroid gland, studying of the molecular-genetic mechanism of formation of tumors of a thyroid gland, studying of infringements of regulation expression TG gene and creation of theoretical base for early diagnostics of these diseases.

Methods of researches: allocation of polyribosomes by a magnesium method, allocation total RNA, reception of immunosorbent PABC-TG:aTG, allocation high-molecular DNA, processing DNA restriction endonucleases, electrophoresis products of hydrolysis DNA by restriction endonucleases, hybridization of the nylon filters " Biodan " containing fragments DNA with ³²P-marked cDNA, polymerase chain reaction.

The results obtained and their novelty: it is received immunosorbent PABC-TG:aTG. The size of a population individual TG polyribosomes is determined. It is shown, that at papillary adenocarcinome decrease of the maintenance individual TG polyribosomes is observed. At papillary adenocarcinome chromosomal aberrations that leads to genetic instability are revealed, frequency of chromosomal aberrations makes 2,8 %. It is shown, that at papillary adenocarcinome occur infringement of regulation expression TG gene at a level of synthesis mRNA, i.e. at a level of a transcription.

Practical value: Introduction in practice of molecular-genetic methods of researches of tumors of a thyroid gland stimulate more full understanding of the mechanism cancerogenesis, that is essential criterion of the forecast of an outcome of disease.

Degree of embed and economic effectivity: Results of researches can be used by development of approaches for early diagnostics of tumors of a thyroid gland, and also at reading rates of molecular biology and biochemistry of hormones at biological faculties of Universities, and rates endocrinology in medical institutes.

Field of application: biochemistry, molecular biology, biotechnology, medicine, endocrinology.