

Мукушкина Дина Дауренбекқызының
«6D060700-Биология» мамандығы бойынша
философия докторы дәрежесін алу үшін
«Атеросклероз, жүректің ишемиялық ауруы мен миокард инфарктының
кандидаттық гендерінің mRNA мен miRNA-мен байланыстыру сайттарының
құрылымдық-функционалдық ұйымдастырылуы» атты тақырыбындағы
диссертацияға
АҢДАТПА

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Осы жұмыс атеросклероз, жүректің ишемиялық ауруы мен миокард инфарктының кандидаттық гендерінің mRNA мен miRNA-мен байланыстыру сайттарының құрылымдық-функционалдық ұйымдастырылуын зерттеуге және осы аурулардың ерте диагностикасы мен терапиясында одан әрі пайдалану үшін miRNA мен нысан гендерінің маңызды ассоциацияларын анықтауға арналған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі.

Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымының (ДДҰ) мәліметтері бойынша, жүрек-қан тамырлары аурулары (ЖҚТА) бүкіл әлемдегі өлімнің негізгі себебі болып табылады. Жыл сайын 17,1 миллион адам инсульт пен инфаркттар нәтижесінде қайтыс болады. Соңғы уақытта бұл аурулар жастарда жиі анықтала бастады. Көптеген зерттеулердің нәтижесінде анықталғандай, ЖҚТА түрлі қауіп факторларының нәтижесінде дамиды. Қауіпті факторлардың кейбіреулері өзгертілмейді, ал басқа факторларды әдеттер мен өмір салтын өзгерту арқылы болдырмауға болады. ДДҰ болжамдарына сәйкес, 2030 жылға қарай жыл сайын 25 миллион адам ЖҚТА-дан қайтыс болады. ДДҰ мәліметтері бойынша, Қазақстан Республикасында қан айналымы жүйесінің ауруларынан болатын өлім-жітім Еуропа елдерімен салыстырғанда екі есеге жуық жоғары. Соңғы он жылда Қазақстанда ЖҚТА ауруының деңгейі 1,7 есеге өсті. Бүгінде әрбір оныншы дерлік қазақстандық азамат жүректің ишемиялық ауруымен ауырады, ал оның салдарынан қайтыс болғандар – экономикалық белсенді халықтың 18-64 жас аралығындағы үлкен үлесі.

Қазіргі клиникалық медицинаның негізінен дәрі-дәрмектерді қолдануға бағытталғанына қарамастан, емдеудің дәрілік емес әдістері профилактика мен емдеу саласындағы мамандарды қызықтырады. ЖҚТА патогенезінде miRNAs (mRNA-inhibiting RNA) маңыздылығын көрсететін зерттеулердің саны артуда.

miRNA – бұл адамның ақуызын кодтайтын барлық гендердің 60%-дан астамының экспрессиясын реттеуге қабілетті, ұзындығы 19-нан 24-ге дейінгі нуклеотид болатын нано өлшеміндегі RNAs. miRNA геннің экспрессиясын mRNA нысан генімен байланыстыру арқылы трансляциялық деңгейде реттеуге қабілетті. Бірнеше мың miRNA адам геномында кодталған. Олар әр түрлі сигнал беру жолдары мен жасушалық процестерге қатысатын кеңейтілген реттеуші желіні құрайды. Пациенттердің қанында miRNA анықтау атеросклероздың ишемиялық инсульт және миокард инфаркты сияқты клиникалық асқынуларды ерте диагностикалаудың перспективалы

бағыты болуы мүмкін. Бірнеше мың жарияланым әртүрлі аурулардағы miRNA концентрациясының өзгеруін және ақуызды кодтайтын гендердің экспрессиясының өзгеруін сипаттайды. Мұндай эксперименттерде, әдетте, экспрессияның бірден бірнеше онға дейінгі miRNA мен болжамды нысан гендерінің өзгеруі арасындағы арақатынастар белгіленеді.

Сондықтан ЖҚТА даму қаупімен байланысты гендік реттеуші желілердегі miRNA функциясын кеңейтілген және дәл түсіну аурудың дамуының жаңа тетіктерін анықтауға, аурулардың дамуын болжауға және жеке терапиялық стратегияларды жасауға мүмкіндік береді.

Зерттеу нысаны: атеросклероз, жүректің ишемиялық ауруы мен миокард инфарктының miRNA мен кандидаттық гендердің нуклеотидтік тізбектері.

Зерттеу пәні: миокард инфарктісімен, жүректің ишемиялық ауруымен, атеросклерозбен байланысты гендерді анықтау және осы ауруларға қатысатын гендердің мРНК-мен миРНК өзара әрекеттесуін сипаттау.

Жұмыстың мақсаты: атеросклероз, жүректің ишемиялық ауруы, миокард инфарктының кандидаттық гендерінің mRNA мен miRNA-мен байланыстыру сайттарының құрылымдық-функционалдық ұйымдастырылуын орнату және бұл аурулардың кандидаттық гендерінің miRNA мен mRNA өзара байланысудың сандық сипаттамаларын анықтау.

Зерттеу міндеттері:

1. Зерттеудің осы саласындағы жарияланған ғылыми әдебиет көздеріне сүйене отырып, миокард инфаркты, жүректің ишемиялық ауруы мен атеросклероздың кандидаттық гендері базасын құру.

2. Атеросклероздың кандидаттық гендерінің mRNA мен miRNA-мен байланыстыру сайттарының құрылымдық-функционалдық ұйымдастырылу ерекшеліктерін анықтау.

3. Жүректің ишемиялық ауруының кандидаттық гендерінің mRNA мен miRNA-мен байланыстыру сайттарының құрылымдық-функционалдық ұйымдастырылу ерекшеліктерін анықтау.

4. Миокард инфарктісінің кандидаттық гендерінің mRNA мен miRNA-мен байланыстыру сайттарының құрылымдық-функционалдық ұйымдастырылу ерекшеліктерін анықтау.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы. Бұл жұмыстың ғылыми жаңалығы атеросклероздың, жүректің ишемиялық ауруы мен миокард инфарктісінің дамуына кандидат гендердің miRNA және mRNA өзара әрекеттесуінің сипаттамаларын анықтауда, сондай-ақ miRNA мен кандидаттың маңызды ассоциацияларының ұсынысында жатыр және осы ауруларды диагностикалауға арналған гендер болып табылады. Біріктірілген тәсіл биоинформатикалық әдістерді қолдана отырып, miRNA ассоциациялары мен олардың мақсатты гендерін бірлесіп зерттеуді қамтиды.

Атеросклероздың, жүректің ишемиялық ауруы мен миокард инфарктісінің дамуымен байланысты кандидат гендердің 5'UTR, 3'UTR және ақуыз-кодтау аймағындағы 6272 miRNA-ның өзара әрекеттесу сипаттамалары белгіленді. Атеросклероздың 171 кандидат генінің mRNA-сы 453 miRNA-мен

әрекеттесетіні анықталды; Жүректің ишемиялық ауруы үшін mRNA 144 гендері 405 miRNA-мен әрекеттеседі; mRNA 173 миокард инфарктісінің гендері 522 miRNA-мен әрекеттеседі.

ЖҚТА кандидат гендерінің mRNA-сы бар miRNA байланыстыру орындарының кластерлері анықталды. Байланыстырушы торап кластерлері бір mRNA немесе бірнеше mRNA-мен құрылды.

miRNA-ның атеросклероз, жүректің ишемиялық ауруы, миокард инфарктісінің дамуына қатысатын гендердің mRNA-мен толық комплементарлы өзара әрекеттесуі анықталды. Бұл miRNA-лардың байланысу орындары mRNA ортоологиялық гендерінде сақталады.

Алғаш рет әртүрлі miRNA әсерінен ЖҚТА даму қаупін төмендететін немесе арттыратын ЖҚТА мақсатты гендер анықталды.

Жұмыстың теориялық маңыздылығы. Зерттеу нәтижелері miRNA қатысатын ЖҚТА молекулалық-генетикалық механизмдерін түсінуге елеулі үлес қосады. MiRNA-ның миокард инфаркты, жүректің ишемиялық ауруы мен атеросклерозға кандидаттық гендерге әсерін анықтау нәтижелері осы ауруларды диагностикалау және емдеу әдістерін жетілдіруге негіз болады.

Зерттеудің практикалық құндылығы. 5'UTR, CDS, 3'UTR mRNA-ға miRNA-ның байланысатын сайттар miRNA ассоциацияларын және атеросклероз, жүректің ишемиялық ауруы мен миокард инфарктының нысан гендерінің ассоциацияларын одан әрі эксперименталды тексеру үшін ұсынылған. Зерттелген 6272 miRNA және 683 кандидаттық гендердің арасында мыналар ұсынылады: 37 miRNA және 7 атеросклероз генінің ассоциациясы, 22 miRNA және 15 ИБС генінің ассоциациясы, 52 miRNA және 22 ИМ генінің ассоциациясы.

Қорғауға шығарылатын негізгі қағидалар:

Тиісінше атеросклероз, жүректің ишемиялық ауруы және миокард инфарктісінің дамуына қатысатын зерттелген 171, 144 және 173 гендердің mRNA нуклеотидтерінің тізбегі miRNA нысанасы болып табылады.

Атеросклероз, жүректің ишемиялық ауруы мен миокард инфарктының дамуына қатысатын 5'UTR, CDS, 3'UTR mRNA гендерінде miRNA байланысудың тек, көптік пен полисайттары бар

Зерттелетін аурулардың кандидат гендерінің mRNA-да miRNA байланыстыру орындарының кластерлік ұйымдасуы бірнеше miRNA нысанасы болып табылатын mRNA нуклеотидтер тізбегінің тығыздалуына және мақсатты ген mRNA-мен байланысу үшін miRNA молекулаларының бәсекелестігінің пайда болуына әкеледі.

Негізгі ғылыми жұмыстардың жоспарымен байланыс. Диссертациялық жұмыс ҚР Білім және ғылым министрлігінің № AP05132460 «Жүрек-қан тамырлары, онкологиялық пен нейродегенеративті ауруларды ерте диагностикалаудың тестілік жүйелерін құру» жобалары аясында жүргізілді.

Жұмыстың апробациясы. Диссертациялық жұмыстың материалдары келесі конференцияларды баяндалып талқыланды:

- «Қазіргі заманғы медицина: жаңа тәсілдер мен өзекті зерттеулер» XX Халықаралық ғылыми-практикалық конференциясы, Мәскеу, Ресей, 2019 ж.;
- Студенттер мен жас ғалымдар үшін «Фараби әлемі» VI Халықаралық ғылыми конференциясы, әл-Фараби ат. ҚазҰУ, Алматы, Қазақстан, 2019;
- «Молекулалық биология, биотехнология, биохимиядағы іргелі зерттеулер мен инновациялар» Халықаралық ғылыми конференциясы, Алматы, Қазақстан, 2019;
- «Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology» XII Халықаралық ғылыми конференциясы, Новосибирск, Ресей, 2020 ж.

Жарияланымдар. Диссертацияның негізгі мазмұны 9 басылымда көрсетілген, оның ішінде Web of Science-те келтірілген импакт-факторлы халықаралық журналдағы 1 мақала; Білім және ғылымдағы сапаны қамтамасыз ету жөніндегі комитеттің білім мен ғылым саласындағы тізімінен 4 мақала; Халықаралық конференциялардың материалдарындағы 4 тезис.

Диссертацияның құрылымы. Диссертация 171 беттен, атаулар мен қысқартулардан, кіріспеден, әдебиеттердегі шолулардан, материалдар мен әдістерден, нәтижелерден мен талқылаудан, қорытынды мен 358 атаудан, 2 қосымшадан, пайдаланылған әдебиеттер тізімінен тұрады; 20 кестеден, 5 суреттен тұрады.

Зерттеулердің негізгі нәтижелері мен қорытындылар:

1. 6272 адам miRNA нуклеотидтер тізбегінің негізі құрылды. Зерттелетін ЖҚТА кандидат гендері таңдап алынды және олардың негізінде атеросклерозбен байланысты 236 ген, жүректің ишемиялық ауруы патогенезіне қатысатын 209 гендер және миокард инфарктісінің дамуымен байланысты 238 гендер үшін нуклеотидтер реттілігінің негіздері құрылды.

2. 5'UTR 13 mRNA-да, тоғыз mRNA-ның CDS-де және атеросклерозға кандидат гендерінің 3'UTR 13 mRNA-да miRNA байланыстыру орындарының кластерлері анықталды. *GAS6*, *NFE2L2*, *SCAP* ортоологиялық гендерінде mRNA-ның 5'UTR-дегі байланыстыру орнының кластерлерінің сақталған нуклеотидтер тізбегі бар. miR-1273 отбасының байланысу орындары mRNA 10 гендерінде кездеседі. Кандидат атеросклероз гендерінің *FASLG*, *FLT1*, *PLA2G7*, *PPARGC1A*, *SOAT1*, *TFPI* ерекшелігі олардың экспрессиясының көптеген байланысу орындарының кластерлері бар miR-466, ID00436.3p-miR, ID01030.3p-miR-ге тәуелділігі болып табылады. miR-574-5p, ID00470.5p-miR үшін бірнеше байланыстыру орындары *IGF1*, *OLR1*, *PPARA* гендерінің mRNA-да байланысу орындарының кластерлерін құрайды.

3. Жүректің ишемиялық ауруы үшін 12 кандидат генінің mRNA-ның 5'UTR құрамында үш немесе одан да көп miRNA байланыстыру орындарының кластерлері бар. Кластерлер жеті геннің CDS mRNA-да және 11 геннің 3'UTR mRNA-да анықталды. Жеті геннің mRNA-да miR-619-5p және miR-5095 байланысу орындарының кластері анықталды, ал екі геннің mRNA-да miR-619-5p және miR-5585-5p кластері анықталды. miR-1273 тұқымдасының байланысу орындары жүректің ишемиялық ауруы үшін 15 кандидат генінің mRNA-да табылды. *NOS1* және *PLA2G7* гендерінің ерекшелігі олардың экспрессиясының кластерлерде орналасқан бірнеше байланысу орындары бар

miR-466, ID00436.3p-miR, ID01030.3p-miR-ге тәуелділігі болып табылады. miR-574-5p, ID00470.5p-miR үшін көптеген байланыстыру орындары mRNA *CDKN2B*, *IGF1*, *NOS1*, *PPARA* кластерлерін құрайды - жүректің ишемиялық ауруы үшін кандидат гендер.

4. Миокард инфарктісіне үміткер гендердің mRNA 5'UTR кластерлері 18 геннің mRNA-да, 13 геннің CDS mRNA-сында және сегіз геннің 3'UTR mRNA-да анықталды. miR-619-5p және miR-5095 үшін байланысу орындарының кластері жеті геннің mRNA-да анықталды, ал miR-619-5p және miR-5585-5p үшін байланыстыру орындарының кластері үш геннің mRNA-сында анықталды. . miR-1273 тұқымдасының байланысу орындары 11 геннің mRNA-да табылды. *SPI*, *ICAM1*, *FLT1* гендерінің ерекшелігі олардың экспрессиясының mRNA 18-де көптеген байланысу орындарының кластерлері бар miR-466, ID00436.3p-miR, ID01030.3p-miR-ге тәуелділігі болып табылады. miR-574-5p, ID00470.5p-miR үшін көптеген байланыстыру орындары mRNA *CD40LG*, *CDKN2B*, *IGF1*, *OLR1*, *TRAF3IP2* кластерлерін құрайды - кандидат миокард инфарктісі гендер.

5. Атеросклерозға, жүректің ишемиялық ауруы мен миокард инфарктісіне кандидат гендердің mRNA-дағы miRNA байланыстыру орындарының құрылымдық және функционалдық ұйымы әртүрлі және мыналарды қамтиды: бір miRNA-ның бір мақсатты генмен әрекеттесуі; бірнеше мақсатты гендері бар бір miRNA; байланыс орындары бөлек орналасқан және кластерді құрайтын қабаттасатын нуклеотидтер тізбегі бар бір гені бар бірнеше miRNA; кластерді құрайтын бірнеше байланыс орындары бар бір немесе бірнеше miRNA. Атеросклероздың, жүректің ишемиялық ауруы мен миокард инфарктісінің диагностикалық әдістері мен терапиясын жасау үшін miRNA және кандидат гендердің спецификалық ассоциациялары құрылды.

6. Үш ЖҚТА салыстырмалы талдау ақуыз өнімдері әртүрлі биологиялық процестерге қатысатын гендердің топтарын анықтады. Гендер олардың экспрессиясы басылған кезде жүрек-қан тамырлары ауруларының қорғаушылары немесе осы аурулардың бастамашысы бола алатыны анықталды. Қорғаушылар *NPC1L1*, *PLA2G7*, *PPAR*, *SOAT1*, *CXCL12*, *GAS6*, *SPI*, *CD40LG*, *F11R*, *DNASE1*, *FLT1*, *KCNJ11* болды; бастамашылар: *ADRB3*, *LDLR*, *SCAP*, *CELSR2*, *CYP1A2*, *LRP8*, *LTA*, *NFE2L2*, *CD36*, *MEFV*, *AP3D1*, *TGFB1*, *MTHFR*, *F2RL3*, *GATA2*, *CDKN2B*, *FASLG*, *TIMP2*, *PAAMSAP2*, *US3*, *MMP2*, *IGF1*, *IRS2*, *SH2B3*, *CHGA*, *ANKS1A*, *SMARCA4*, *DOT1L*.

7. Атеросклероздың, жүректің ишемиялық ауруы мен миокард инфарктісінің диагностикалық әдістері мен терапиясын жасау үшін miRNA және кандидат гендердің спецификалық ассоциациялары құрылды.