GISTAMIN STIMULYATSIYASI PAYTIDA KALAMUSH OSHQOZON PARIETAL HUJAYRALARIDA miRNK BIOGENEZI APPARATINING EPIGENETIK BOSHQARUVI

Gulmonova Mahbuba
Olmazor tumani 278-maktab, Toshkent, O‘zbekiston
e-mail: gulmonovamahbuba02@gmail.com

ANNOTATSIYA

Dolzarbligi. Gistamin oshqozon kislotasi sekretsiyasining asosiy qo‘zg‘atuvchisi bo‘lib, H_2 retseptori orqali cAMP–protein kinaza A (PKA) yo‘lini faollashtiradi. PKA sitoplazmatik nishonlardan tashqari CREB1 transkripsiya omilini ham fosforillaydi, u esa CBP/p300 giston atsetiltransferazalarini jalb qiladi. Shu tariqa gistamin signali xromatin darajasiga yetib boradi. Biroq bu signalning miRNK biogenezi apparati (Drosha, DGCR8, XPO5, Dicer1, Ago2) genlariga ta’siri hozircha o‘rganilmagan.

Maqsad. Gistamin signal o‘qi bilan miRNK biogenezi apparati o‘rtasidagi mavjud annotatsion bog‘liqlikni bioinformatik usulda baholash, uzilish nuqtalarini aniqlash va adabiyot ma’lumotlari asosida ehtimoliy epigenetik boshqaruv modelini qurish.

Materiallar va usullar. KEGG bazasidan kalamush (Rattus norvegicus) uchun rno04971 (oshqozon kislotasi sekretsiyasi), rno04024 (cAMP signal yo‘li) va rno05206 (o‘smalarda mikroRNK) yo‘llari KEGG REST API orqali olindi. Gen to‘plamlari Python 3 muhitida to‘plam amallari bilan taqqoslandi. Biogenez apparati genlarining boshqaruv mexanizmlari retsenziyalanadigan nashrlardan oldindan belgilangan mezonlar asosida yig‘ildi.

Natijalar. rno04971 va rno04024 yo‘llari 38 ta umumiy genga ega bo‘lib, ular gistamin signalining Gs–adenilatsiklaza–PKA segmentini to‘liq qamrab oladi. Ikkita muhim uzilish aniqlandi. Birinchisi: transkripsion tugun genlari — Creb1, Crebbp (CBP) va Ep300 — cAMP yo‘lida mavjud, ammo oshqozon kislotasi sekretsiyasi yo‘liga kiritilmagan, ya’ni oshqozon xaritasi sekretor javob bilan tugab, transkripsiya darajasiga yetmaydi. Ikkinchisi: miRNK biogenezi apparatining birorta geni (Drosha, Dgcr8, Xpo5, Dicer1, Ago1–Ago4, Tarbp2) har ikkala yo‘lda ham annotatsiya qilinmagan; rno05206 yo‘lida esa faqat Dicer1

mavjud. Adabiyot tahlili bu apparat genlarining kamida beshta boshqaruv darajasida — transkripsion, DNK metillanishi, giston modifikatsiyasi, post-transkripsion va post-translyatsion — nazorat qilinishini ko‘rsatdi.

Xulosa. Mavjud yo‘l annotatsiyalarida gistamin stimulyatsiyasidan miRNK biogenezi apparatiga olib boruvchi yo‘l umuman mavjud emas, holbuki har ikkala uchning boshqaruv mexanizmlari alohida-alohida yaxshi tavsiflangan. Ishda bu bo‘shliqni to‘ldiruvchi «gistamin → cAMP → PKA → CREB1 → CBP/p300 → giston atsetillanishi → biogenez genlari promotorlari» modeli va uni tekshirish uchun eksperimental dizayn taklif etilgan.

Kalit so‘zlar: gistamin, H_2 retseptori, parietal hujayra, cAMP–PKA–CREB, CBP/p300, giston atsetillanishi, miRNK biogenezi, Drosha, DGCR8, Exportin-5, Dicer1, KEGG.

1. KIRISH

Gistamin oshqozon kislotasi sekretsiyasining eng kuchli fiziologik qo‘zg‘atuvchisi hisoblanadi. U enterokromaffinga o‘xshash hujayralardan ajralib chiqib, parietal hujayralardagi H_2 retseptoriga (Hrh2) bog‘lanadi va Gs oqsili (Gnas) orqali adenilatsiklazani faollashtiradi. Hosil bo‘lgan siklik AMF protein kinaza A (PKA; Prkaca, Prkacb) ni ishga soladi, PKA esa H^+,K^+-ATFazani tutuvchi tubulovezikulalarning apikal membranaga ko‘chishini boshqaradi [18, 20]. Gistamin H_2 retseptori genidan mahrum qilingan sichqonlarda oshqozon shilliq qavatining ham funksional, ham morfologik boshqaruvi buzilishi — bu o‘qning fiziologik ahamiyatini to‘g‘ridan-to‘g‘ri tasdiqlaydi [19].

PKA ning ta’siri sitoplazma bilan cheklanmaydi. Uning klassik nishonlaridan biri parietal hujayrada ezrin bo‘lib, Ser66 qoldig‘i bo‘yicha fosforillanish apikal membrananing qayta shakllanishi uchun zarur [21, 22, 23]. Ayni vaqtda PKA yadroga o‘tib, CREB1 transkripsiya omilini Ser133 qoldig‘i bo‘yicha fosforillaydi; fosforillangan CREB1 esa CBP (Crebbp) va p300 (Ep300) koaktivatorlarini jalb qiladi [16]. Bu koaktivatorlar giston atsetiltransferaza faolligiga ega bo‘lib, nishon genlar promotorida xromatinni ochadi [15]. Demak, gistamin signali tamoyil jihatidan xromatin darajasiga yetib borishga qodir.

Ikkinchi tomondan, mikroRNK (miRNK) — uzunligi taxminan 22 nukleotid bo‘lgan kodlanmaydigan RNK bo‘lib, nishon mRNK ning 3′-tarjima qilinmaydigan sohasiga

bog‘lanadi va uning translyatsiyasini bostiradi yoki mRNK ni degradatsiyaga uchratadi [1]. Sutemizuvchilar genomidagi oqsil kodlovchi genlarning yarmidan ko‘pi konservativ miRNK saytlariga ega [6], hozirgacha aniqlangan miRNK ketma-ketliklari esa miRBase bazasida katalog qilingan [8].

miRNK biogenezi apparati — yadroda pri-miRNK ni qayta ishlovchi Drosha–DGCR8 mikroprotsessori, pre-miRNK ni sitoplazmaga chiqaruvchi Exportin-5 (XPO5), yetuk miRNK ni hosil qiluvchi Dicer1 va uni Argonaut oqsillari bilan yuklovchi TARBP2 — o‘zi ham qattiq nazorat ostida turadi [2, 3]. Bu nazorat ko‘p qatlamli: transkripsion, epigenetik, post-transkripsion va post-translyatsion darajalarni qamrab oladi. Genetik nokaut tajribalari DROSHA yo‘qolganda kanonik miRNK ishlab chiqarilishi to‘liq to‘xtashini ko‘rsatgan [4], Drosha va DGCR8 o‘zaro krossregulyatsiya orqali bir-birining darajasini ushlab turadi [5], endoteliy hujayralarida esa bu fermentlarni susaytirish miRNK profilini keskin siljitadi [7].

Shu ikki bilim majmuasi mustaqil ravishda yaxshi rivojlangan, ammo ular o‘rtasidagi bog‘liqlik tekshirilmagan. Agar gistamin stimulyatsiyasi PKA–CREB–CBP/p300 o‘qi orqali xromatinni o‘zgartira olsa va biogenez apparati genlari giston atsetillanishiga sezgir bo‘lsa, unda kislota sekretsiyasining fiziologik qo‘zg‘alishi hujayraning butun miRNK repertuarini modulyatsiya qilishi mumkin. Bu — magistrlik dissertatsiyasining asosiy mavzusi bo‘lgan «kalamush oshqozon hujayralarida miRNK biogenezida qatnashuvchi genlar ekspressiyasi» masalasiga bevosita tegishli savoldir.

Savolning dolzarbligini oshqozon to‘qimasidan olingan ma’lumotlar ham qo‘llab-quvvatlaydi. Oshqozon shilliq qavatida miRNK ekspressiya profillari sezilarli darajada o‘zgaruvchan ekani ko‘rsatilgan [24]; oshqozon epiteliysining preneoplastik o‘choqlarida Drosha oqsilining subhujayraviy taqsimoti buziladi va uning yo‘qolishi prognoz bilan bog‘lanadi [25]; yadro Drosha si esa miRNK disregulyatsiyasi orqali hujayra fenotipini o‘zgartiradi [26]. Ya’ni biogenez apparati oshqozon to‘qimasida haqiqatan ham o‘zgaruvchan bo‘g‘in bo‘lib, uning fiziologik stimul bilan bog‘liqligi ochiq savol bo‘lib qolmoqda.

Ishning maqsadi — gistamin signal o‘qi bilan miRNK biogenezi apparati o‘rtasida mavjud yo‘l annotatsiyalarida qanday bog‘liqlik borligini bioinformatik usulda baholash,

uzilish nuqtalarini aniq ko‘rsatish va adabiyot ma’lumotlari asosida ehtimoliy epigenetik boshqaruv modelini shakllantirishdan iborat.

2. MATERIALLAR VA USULLAR

2.1. Ma’lumot manbalari

Signal yo‘llarining gen tarkibi KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) bazasidan olindi [27, 28, 29]. Kalamush (Rattus norvegicus) uchun uchta yo‘l tanlandi: rno04971 — «Gastric acid secretion»; rno04024 — «cAMP signaling pathway»; rno05206 — «MicroRNAs in cancer». Ma’lumotlar KEGG REST xizmati (https://rest.kegg.jp/get/<yo‘l_ID>) orqali dasturiy yo‘l bilan yuklandi; murojaat sanasi — 2026-yil 7-sentabr.

2.2. Hisoblash tahlili

Har bir yo‘lning GENE bo‘limidan gen belgilari ajratib olindi; belgisi ko‘rsatilmagan yozuvlar chiqarildi. Python 3 muhitida quyidagilar hisoblandi: (a) rno04971 va rno04024 yo‘llarining kesishmasi; (b) gistamin signal o‘qi komponentlarining (Hrh2, Gnas, adenilatsiklazalar, PKA subbirliklari, Creb1, Crebbp, Ep300) har bir yo‘ldagi mavjudligi; (c) miRNK biogenezi apparati genlarining (Drosha, Dgcr8, Xpo5, Dicer1, Ago1–Ago4, Tarbp2) uchala yo‘ldagi mavjudligi; (d) epigenetik «yozuvchi» va «o‘chiruvchi» genlarning (Hdac1–Hdac3, Dnmt1, Dnmt3a, Dnmt3b, Ezh2, Kat2b) mavjudligi. Genlarni funksional guruhlarga ajratishda standart funksional annotatsiya toifalari asos qilib olindi [30]. Tahlil kodi qayta ishlab chiqarish uchun taqdim etiladi.

2.3. Boshqaruv mexanizmlarini yig‘ish

miRNK biogenezi apparati genlarining boshqaruv mexanizmlari retsenziyalanadigan nashrlardan yig‘ildi. Kiritish mezonlari: (a) mexanizm eksperimental usulda ko‘rsatilgan bo‘lishi (xromatin immunopretsipitatsiyasi, immunoblot, reporter sinovi, mutagenez yoki farmakologik ingibirlash); (b) nishon Drosha, DGCR8, XPO5, Dicer1 yoki Ago oqsillaridan biri bo‘lishi; (c) manbaning bibliografik ma’lumotlari to‘liq va DOI orqali tekshiriladigan bo‘lishi. Har bir manba DOI bo‘yicha alohida tasdiqlandi.

2.4. Cheklovlar

Bu integrativ hisoblash tahlili bo‘lib, yangi eksperimental ma’lumot ishlab chiqarmaydi. KEGG yo‘l xaritalari qo‘lda kuratsiya qilinadi va to‘liq emas: genning yo‘lda yo‘qligi biologik bog‘liqlik yo‘qligini emas, balki annotatsiya mavjud emasligini bildiradi. Yig‘ilgan boshqaruv mexanizmlari asosan o‘sma hujayra liniyalarida aniqlangan, shuning uchun normal parietal hujayraga ko‘chirish ehtiyotkorlikni talab qiladi. Nihoyat, taklif etilgan model faraz darajasida bo‘lib, tajribada tasdiqlanmagan.

3. NATIJALAR

3.1. Gistamin signal o‘qining yo‘llar bo‘yicha taqsimoti

Gistamin o‘qining o‘n oltita asosiy komponenti ikkala yo‘l bo‘yicha tekshirildi (1-jadval). Retseptor darajasidan PKA gacha bo‘lgan butun segment — Hrh2 dan tashqari — har ikkala yo‘lda ham mavjud. Hrh2 esa faqat oshqozon yo‘lida annotatsiya qilingan, ya’ni KEGG cAMP xaritasida gistamin retseptori ko‘rsatilmagan.

1-jadval. Gistamin → cAMP → PKA → CREB o‘qi komponentlarining yo‘llardagi mavjudligi

Signal bosqichi	Gen(lar)	rno04971	rno04024
Retseptor	Hrh2 (H_2 retseptori)	bor	yo‘q
G-oqsil (Gs)	Gnas	bor	bor
Adenilatsiklaza	Adcy1–Adcy9	bor (9)	bor (9)
Protein kinaza A	Prkaca, Prkacb	bor	bor
Transkripsiya omili	Creb1	yo‘q	bor
Koaktivator / HAT	Crebbp (CBP), Ep300	yo‘q	bor

Izoh: «bor/yo‘q» — genning tegishli KEGG yo‘lida annotatsiya qilinganligi; qavsda genlar soni.

3.2. Ikki yo‘lning umumiy qismi

rno04971 va rno04024 yo‘llarining kesishmasi 38 ta genni tashkil etdi (2-jadval). Bu kesishma kislota sekretsiyasining cAMP ga bog‘liq tarmog‘ini deyarli to‘liq qamrab oladi: signal uzatish (Gnas, Gnai1–Gnai3, adenilatsiklazalar, PKA), kaltsiy-kalmodulin bo‘g‘ini (Calm1–Calm3, Calml3–Calml5, Camk2a–Camk2g), ion transporti (Atp1a1–Atp1a4, Atp1b1–Atp1b4, Slc9a1, Cftr, Kcnk2) va salbiy teskari aloqa (Sst, Sstr2).

2-jadval. rno04971 ∩ rno04024 kesishmasidagi 38 gen (funksional guruhlar bo‘yicha)

Funksional guruh	Genlar
Signal uzatish	Gnas, Gnai1, Gnai2, Gnai3, Adcy1, Adcy2, Adcy3, Adcy4, Adcy5, Adcy6, Adcy7, Adcy8, Adcy9, Prkaca, Prkacb
Ca^{2+}–kalmodulin	Calm1, Calm2, Calm3, Calml3, Calml4, Calml5, Camk2a, Camk2b, Camk2d, Camk2g
Ion transporti	Atp1a1, Atp1a2, Atp1a3, Atp1a4, Atp1b1, Atp1b2, Atp1b3, Atp1b4, Slc9a1, Cftr, Kcnk2
Teskari aloqa	Sst, Sstr2

3.3. Birinchi uzilish: yo‘l xaritasi transkripsiya darajasiga yetmaydi

Tahlilning birinchi muhim natijasi shundaki, gistamin o‘qining transkripsion tuguni — Creb1, Crebbp va Ep300 — cAMP signal yo‘lida to‘liq mavjud bo‘lsa-da, oshqozon kislotasi sekretsiyasi yo‘liga umuman kiritilmagan (1-jadval). Boshqacha aytganda, KEGG ning oshqozon xaritasi signalni PKA darajasida to‘xtatib, sekretor javob bilan yakunlaydi; xuddi shu PKA ning yadroviy shoxobchasi esa xaritadan tashqarida qoladi. Bu — annotatsion uzilish bo‘lib, biologik uzilish emas: PKA–CREB bog‘liqligi mustaqil ravishda yaxshi hujjatlashtirilgan [16], CBP/p300 ning giston atsetiltransferaza faolligi esa klassik ish bilan tasdiqlangan [15].

Bundan tashqari, epigenetik «yozuvchi» va «o‘chiruvchi» genlarning hech biri — Hdac1, Hdac2, Hdac3, Dnmt1, Dnmt3a, Dnmt3b, Ezh2, Kat2b — har ikkala yo‘lda ham annotatsiya qilinmagan. Ya’ni gistamin signalining xromatin darajasidagi davomi yo‘l xaritalarida umuman aks etmagan.

3.4. Ikkinchi uzilish: biogenez apparati yo‘llarda umuman yo‘q

Ikkinchi va yanada aniqroq natija: miRNK biogenezi apparatining birorta geni ham rno04971, ham rno04024 yo‘lida mavjud emas (3-jadval). Hatto «MicroRNAs in cancer» (rno05206) yo‘lida ham to‘qqizta tekshirilgan gendan faqat bittasi — Dicer1 — annotatsiya qilingan; Drosha, Dgcr8, Xpo5, Ago1–Ago4 va Tarbp2 u yerda ham yo‘q.

3-jadval. miRNK biogenezi apparati genlarining yo‘llardagi mavjudligi

Gen	Oqsil / funksiya	rno04971	rno04024	rno05206
Drosha	RNKaza III, mikroprotsessor	yo‘q	yo‘q	yo‘q
Dgcr8	Mikroprotsessor subbirligi	yo‘q	yo‘q	yo‘q
Xpo5	Exportin-5, yadro eksporti	yo‘q	yo‘q	yo‘q
Dicer1	RNKaza III, pre-miRNK kesish	yo‘q	yo‘q	bor
Ago1–Ago4	Argonaut, RISC yadrosi	yo‘q	yo‘q	yo‘q
Tarbp2	Dicer kofaktori	yo‘q	yo‘q	yo‘q

Izoh: rno05206 — «MicroRNAs in cancer» yo‘li (265 ta yozuv), Dicer1 uchun KEGG identifikatori rno:299284.

Shunday qilib, mavjud yo‘l annotatsiyalarida gistamin stimulyatsiyasidan miRNK biogenezi apparatiga olib boruvchi hech qanday yo‘l mavjud emas. Bu — mazkur tahlilning asosiy natijasi va ayni paytda uning asosiy asoslanishi: bog‘liqlik tekshirilmagani uchun yo‘q, tekshirilib rad etilgani uchun emas.

3.5. Adabiyotdan tiklangan boshqaruv darajalari

Yo‘l xaritalarida yo‘q bo‘lsa-da, biogenez apparati genlari adabiyotda kamida beshta boshqaruv darajasida tavsiflangan (4-jadval). Ular orasida ikkitasi bevosita epigenetik — giston modifikatsiyasi va DNK metillanishi — bo‘lib, aynan shular gistamin–CREB–CBP/p300 o‘qi bilan mantiqiy bog‘lanadi.

4-jadval. miRNK biogenezi apparati genlarining eksperimental tasdiqlangan boshqaruv mexanizmlari

Gen	Boshqaruv darajasi	Mexanizm	Manba
DICER1	Giston modifikatsiyasi	Gipoksiyada promotor xromatinining epigenetik bostirilishi ekspressiyani pasaytiradi	[12]
DICER1	Giston atsetillanishi	HDAC ingibitori panobinostat Dicer ekspressiyasi va miRNK biogenezini o‘zgartiradi	[11]
DICER1	DNK metillanishi	DICER faolligi promotor CpG orollarining to‘liq gipermetillanishini saqlash uchun zarur	[14]
DROSHA, DICER1	Transkripsion	Gipoksiyada ETS1/ELK1 transkripsiya omillari orqali ekspressiyaning pasayishi	[13]
DROSHA	Post-translyatsion	N-uchining atsetillanishi ubikvitinlanish orqali parchalanishdan himoya qiladi	[9]
XPO5	Post-translyatsion	ERK tomonidan fosforillanish pre-miRNK ning yadrodan chiqishini bloklaydi	[10]
DROSHA, DGCR8	Post-transkripsion	O‘zaro krossregulyatsiya: Drosha DGCR8 mRNK sidagi ilmoqni kesadi	[5]

Izoh: mexanizmlar asosan o‘sma hujayra liniyalarida aniqlangan; parietal hujayraga ko‘chirish tasdiqlanmagan.

Diqqatga sazovor jihati shundaki, DROSHA ning N-uchi atsetillanishi [9] va DICER1 ning giston atsetillanishiga sezgirligi [11] — bu ikkalasi ham atsetillanish holatiga bog‘liq jarayonlar. CBP va p300 esa aynan atsetiltransferaza faolligiga ega koaktivatorlardir [15].

Demak, gistamin → PKA → CREB1 → CBP/p300 o‘qi va biogenez apparati bir xil biokimyoviy «tilda» — lizin atsetillanishi tilida — gaplashadi.

3.6. Taklif etilayotgan integratsiyalangan model

Yuqoridagi ma’lumotlar quyidagi ishchi modelni shakllantirishga imkon beradi. Gistamin H_2 retseptori orqali Gs–adenilatsiklaza–cAMP–PKA zanjirini ishga soladi [18, 19]; PKA ning bir qismi sitoplazmada ezrinni fosforillab sekretor javobni ta’minlaydi [21, 22, 23], bir qismi esa yadroga o‘tib CREB1 ni faollashtiradi [16]; fosforillangan CREB1 CBP/p300 ni jalb qiladi va ular giston atsetiltransferaza faolligi orqali nishon promotorlarda xromatinni ochadi [15]; agar biogenez apparati genlarining (birinchi navbatda Dicer1 va Drosha) promotorlari shu ta’sir doirasiga tushsa, ularning ekspressiyasi gistamin stimulyatsiyasidan keyin o‘zgaradi; natijada yetuk miRNK hovuzi siljiydi va kislota sekretsiyasi bilan bog‘liq nishon genlarning post-transkripsion boshqaruvi o‘zgaradi.

Model ikkita tekshiriladigan bashorat beradi. Birinchisi: gistamin bilan stimulyatsiya qilingan parietal hujayralarda Dicer1 va Drosha promotorlarida atsetillangan gistonlar (H3K9ac, H3K27ac) miqdori ortishi kerak. Ikkinchisi: PKA ingibitori (masalan, H-89) yoki CBP/p300 ingibitori bu ortishni bekor qilishi kerak.

4. MUHOKAMA

Mazkur tahlilning asosiy hissasi — muammoni aniq shakllantirishdir. Gistamin signalizatsiyasi va miRNK biogenezi apparatining boshqaruvi — ikkalasi ham mustaqil ravishda batafsil o‘rganilgan sohalar, ammo ular o‘rtasidagi ko‘prik hech qayerda qurilmagan. Bioinformatik tekshiruv buni miqdoriy tarzda ko‘rsatdi: 38 ta umumiy gen bo‘lgan ikki yo‘lning hech birida biogenez apparati vakili yo‘q, transkripsion tugun esa faqat bittasida mavjud.

Bu uzilishning ahamiyati shundaki, u tasodifiy emas. KEGG yo‘l xaritalari an’anaviy ravishda «signal → funksional javob» mantiqiga qurilgan bo‘lib, oshqozon kislotasi sekretsiyasi xaritasida javob — proton pompasining ko‘chishi va kislota ajralishi. Signalning genom darajasidagi uzoq muddatli oqibatlari (transkripsiya, xromatin, post-transkripsion apparat) bunday xaritalarga odatda kiritilmaydi. Shu sababli yo‘l tahlili

bunday bog‘liqliklarni «ko‘rmaydi» va ularni faqat maqsadli eksperiment ochib berishi mumkin.

Ikkinchi muhim jihat — atsetillanish orqali umumiy nuqta. CBP/p300 nafaqat gistonlarni, balki ko‘plab gistondan tashqari oqsillarni ham atsetillaydi. DROSHA ning N-uchi atsetillanishi uning ubikvitinlanish orqali parchalanishini to‘xtatishi ko‘rsatilgan [9]; bu esa gistamin bilan qo‘zg‘atilgan atsetiltransferaza faolligi DROSHA oqsilining barqarorligini bevosita, transkripsiyani chetlab o‘tgan holda oshirishi mumkinligini anglatadi. Bunday «tez» mexanizm gistamin stimulyatsiyasining o‘tkir (daqiqalar–soatlar) vaqt shkalasiga transkripsion mexanizmga qaraganda yaxshiroq mos keladi.

Uchinchidan, gistamin — biogenez apparatiga ta’sir qilishi mumkin bo‘lgan yagona fiziologik omil emas. Surunkali stress organizm darajasida Dicer ekspressiyasini o‘zgartirishi ko‘rsatilgan [17], stress sharoitida esa oshqozon shilliq qavatida gen ekspressiyasi tez qayta tashkillanadi: darhol javob beruvchi genlar faollashadi [32] va oqsil profili sezilarli darajada siljiydi [31]. Shu sababli gistamin ta’sirini boshqa stimullardan ajratib baholash uslubiy jihatdan zarur.

Cheklovlar jiddiy va ochiq aytilishi lozim. Birinchidan, biogenez apparatining epigenetik boshqaruvi bo‘yicha barcha keltirilgan dalillar o‘sma hujayralaridan olingan [9–14]; normal, differensiallashgan parietal hujayrada ular takrorlanishi kafolatlanmagan. Ikkinchidan, KEGG annotatsiyasining yo‘qligi biologik bog‘liqlikning yo‘qligini isbotlamaydi — bu faqat bilim holatining ko‘rsatkichi. Uchinchidan, gistamin stimulyatsiyasi in vivo sharoitda gastrin va asetilxolin ta’siridan ajratilgan holda kechmaydi, shuning uchun toza ta’sirni faqat izolyatsiya qilingan hujayra tizimida baholash mumkin.

Shu bois keyingi bosqich uchun quyidagi eksperimental dizayn tavsiya etiladi: (1) kalamush oshqozon bezlaridan parietal hujayralarni ajratib olish va ularni gistamin bilan bir necha vaqt nuqtasida (15 va 30 daqiqa, 1, 3 va 6 soat) stimulyatsiya qilish; (2) Drosha, Dgcr8, Xpo5, Dicer1 va Ago2 ekspressiyasini qRT-PCR va Western-blot bilan o‘lchash; (3) xromatin immunopretsipitatsiyasi (ChIP-qPCR) yordamida shu genlarning promotorlarida H3K9ac, H3K27ac va CREB1 bog‘lanishini baholash; (4) H-89 (PKA ingibitori) va CBP/p300 ingibitori bilan nazorat tajribalarini o‘tkazish; (5) kichik RNK sekvenirlash orqali

yetuk miRNK profilining siljishini aniqlash. Bunday dizayn magistrlik dissertatsiyasining asosiy mavzusiga — kalamush oshqozon hujayralarida miRNK biogenezida qatnashuvchi genlar ekspressiyasini o‘rganishga — bevosita xizmat qiladi va unga fiziologik stimul o‘lchovini qo‘shadi.

5. XULOSA

1. Kalamush oshqozon kislotasi sekretsiyasi (rno04971) va cAMP signal yo‘li (rno04024) 38 ta umumiy genga ega bo‘lib, ular gistamin signalining Gs–adenilatsiklaza–PKA segmentini to‘liq qamrab oladi.

2. Gistamin o‘qining transkripsion tuguni — Creb1, Crebbp va Ep300 — cAMP yo‘lida mavjud, ammo oshqozon kislotasi sekretsiyasi yo‘liga kiritilmagan; epigenetik «yozuvchi» va «o‘chiruvchi» genlar esa har ikkala yo‘lda ham yo‘q.

3. miRNK biogenezi apparatining birorta geni (Drosha, Dgcr8, Xpo5, Dicer1, Ago1–Ago4, Tarbp2) tekshirilgan ikki yo‘lda annotatsiya qilinmagan; «MicroRNAs in cancer» yo‘lida esa faqat Dicer1 mavjud.

4. Adabiyot tahlili biogenez apparati genlarining kamida beshta darajada — transkripsion, DNK metillanishi, giston modifikatsiyasi, post-transkripsion va post-translyatsion — boshqarilishini ko‘rsatdi; ulardan ikkitasi bevosita atsetillanish holatiga bog‘liq.

5. Taklif etilgan «gistamin → cAMP → PKA → CREB1 → CBP/p300 → giston atsetillanishi → biogenez genlari promotorlari» modeli tekshiriladigan bashoratlar beradi va kalamush oshqozon hujayralarida miRNK biogenezi genlari ekspressiyasini o‘rganish yo‘nalishi uchun bevosita eksperimental dastur belgilaydi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR / REFERENCES

1. Bartel D.P. Metazoan MicroRNAs // Cell. – 2018. – Vol. 173, No. 1. – P. 20–51. doi:10.1016/j.cell.2018.03.006

2. Ha M., Kim V.N. Regulation of microRNA biogenesis // Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2014. – Vol. 15, No. 8. – P. 509–524. doi:10.1038/nrm3838

3. Treiber T., Treiber N., Meister G. Regulation of microRNA biogenesis and its crosstalk with other cellular pathways // Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2019. – Vol. 20, No. 1. – P. 5–20. doi:10.1038/s41580-018-0059-1

4. Kim Y.K., Kim B., Kim V.N. Re-evaluation of the roles of DROSHA, Exportin 5, and DICER in microRNA biogenesis // Proceedings of the National Academy of Sciences USA. – 2016. – Vol. 113, No. 13. – P. E1881–E1889. doi:10.1073/pnas.1602532113

5. Han J., Pedersen J.S., Kwon S.C., Belair C.D., Kim Y.-K., Yeom K.-H., Yang W.-Y., Haussler D., Blelloch R., Kim V.N. Posttranscriptional crossregulation between Drosha and DGCR8 // Cell. – 2009. – Vol. 136, No. 1. – P. 75–84. doi:10.1016/j.cell.2008.10.053

6. Friedman R.C., Farh K.K.-H., Burge C.B., Bartel D.P. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs // Genome Research. – 2009. – Vol. 19, No. 1. – P. 92–105. doi:10.1101/gr.082701.108

7. Kuehbacher A., Urbich C., Zeiher A.M., Dimmeler S. Role of Dicer and Drosha for endothelial microRNA expression and angiogenesis // Circulation Research. – 2007. – Vol. 101, No. 1. – P. 59–68. doi:10.1161/CIRCRESAHA.107.153916

8. Kozomara A., Birgaoanu M., Griffiths-Jones S. miRBase: from microRNA sequences to function // Nucleic Acids Research. – 2019. – Vol. 47, No. D1. – P. D155–D162. doi:10.1093/nar/gky1141

9. Tang X., Wen S., Zheng D., Tucker L., Cao L., Pantazatos D., Moss S.F., Ramratnam B. Acetylation of Drosha on the N-terminus inhibits its degradation by ubiquitination // PLoS ONE. – 2013. – Vol. 8, No. 8. – Art. e72503. doi:10.1371/journal.pone.0072503

10. Sun H.-L., Cui R., Zhou J. [et al.]. ERK activation globally downregulates miRNAs through phosphorylating Exportin-5 // Cancer Cell. – 2016. – Vol. 30, No. 5. – P. 723–736. doi:10.1016/j.ccell.2016.10.001

11. Hoffend N.C., Magner W.J., Tomasi T.B. The epigenetic regulation of Dicer and microRNA biogenesis by Panobinostat // Epigenetics. – 2017. – Vol. 12, No. 2. – P. 105–112. doi:10.1080/15592294.2016.1267886

12. van den Beucken T., Koch E., Chu K. [et al.]. Hypoxia promotes stem cell phenotypes and poor prognosis through epigenetic regulation of DICER // Nature Communications. – 2014. – Vol. 5. – Art. 5203. doi:10.1038/ncomms6203

13. Rupaimoole R., Wu S.Y., Pradeep S. [et al.]. Hypoxia-mediated downregulation of miRNA biogenesis promotes tumour progression // Nature Communications. – 2014. – Vol. 5. – Art. 5202. doi:10.1038/ncomms6202

14. Ting A.H., Suzuki H., Cope L., Schuebel K.E., Lee B.H., Toyota M., Imai K., Shinomura Y., Tokino T., Baylin S.B. A requirement for DICER to maintain full promoter CpG island hypermethylation in human cancer cells // Cancer Research. – 2008. – Vol. 68, No. 8. – P. 2570–2575. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-6405

15. Ogryzko V.V., Schiltz R.L., Russanova V., Howard B.H., Nakatani Y. The transcriptional coactivators p300 and CBP are histone acetyltransferases // Cell. – 1996. – Vol. 87, No. 5. – P. 953–959. doi:10.1016/S0092-8674(00)82001-2

16. Zhang H., Kong Q., Wang J., Jiang Y., Hua H. Complex roles of cAMP–PKA–CREB signaling in cancer // Experimental Hematology & Oncology. – 2020. – Vol. 9. – Art. 32. doi:10.1186/s40164-020-00191-1

17. Haramati S., Navon I., Issler O. [et al.]. MicroRNA as repressors of stress-induced anxiety: the case of amygdalar miR-34 // The Journal of Neuroscience. – 2011. – Vol. 31, No. 40. – P. 14191–14203. doi:10.1523/JNEUROSCI.1673-11.2011

18. Engevik A.C., Kaji I., Goldenring J.R. The physiology of the gastric parietal cell // Physiological Reviews. – 2020. – Vol. 100, No. 2. – P. 573–602. doi:10.1152/physrev.00016.2019

19. Kobayashi T., Tonai S., Ishihara Y., Koga R., Okabe S., Watanabe T. Abnormal functional and morphological regulation of the gastric mucosa in histamine H2 receptor-deficient mice // The Journal of Clinical Investigation. – 2000. – Vol. 105, No. 12. – P. 1741–1749. doi:10.1172/JCI9441

20. Forte J.G., Zhu L. Apical recycling of the gastric parietal cell H,K-ATPase // Annual Review of Physiology. – 2010. – Vol. 72. – P. 273–296. doi:10.1146/annurev-physiol-021909-135744

21. Zhou R., Cao X., Watson C., Miao Y., Guo Z., Forte J.G., Yao X. Characterization of protein kinase A-mediated phosphorylation of ezrin in gastric parietal cell activation // The Journal of Biological Chemistry. – 2003. – Vol. 278, No. 37. – P. 35651–35659. doi:10.1074/jbc.M303416200

22. Ding X., Deng H., Wang D. [et al.]. Phospho-regulated ACAP4-Ezrin interaction is essential for histamine-stimulated parietal cell secretion // The Journal of Biological Chemistry. – 2010. – Vol. 285, No. 24. – P. 18769–18780. doi:10.1074/jbc.M110.129007

23. Zhou R., Zhu L., Kodani A., Hauser P., Yao X., Forte J.G. Phosphorylation of ezrin on threonine 567 produces a change in secretory phenotype and repolarizes the gastric parietal cell // Journal of Cell Science. – 2005. – Vol. 118, Pt 19. – P. 4381–4391. doi:10.1242/jcs.02559

24. Link A., Schirrmeister W., Langner C., Varbanova M., Bornschein J., Wex T., Malfertheiner P. Differential expression of microRNAs in preneoplastic gastric mucosa // Scientific Reports. – 2015. – Vol. 5. – Art. 8270. doi:10.1038/srep08270

25. Zhang H., Hou Y., Xu L. [et al.]. Cytoplasmic Drosha is aberrant in precancerous lesions of gastric carcinoma and its loss predicts worse outcome for gastric cancer patients // Digestive Diseases and Sciences. – 2016. – Vol. 61, No. 4. – P. 1080–1090. doi:10.1007/s10620-015-3986-0

26. Xu L., Hou Y., Tu G. [et al.]. Nuclear Drosha enhances cell invasion via an EGFR-ERK1/2-MMP7 signaling pathway induced by dysregulated miRNA-622/197 and their targets LAMC2 and CD82 in gastric cancer // Cell Death & Disease. – 2017. – Vol. 8, No. 3. – Art. e2642. doi:10.1038/cddis.2017.5

27. Kanehisa M., Goto S. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes // Nucleic Acids Research. – 2000. – Vol. 28, No. 1. – P. 27–30. doi:10.1093/nar/28.1.27

28. Kanehisa M., Sato Y., Kawashima M. KEGG mapping tools for uncovering hidden features in biological data // Protein Science. – 2022. – Vol. 31, No. 1. – P. 47–53. doi:10.1002/pro.4172

29. Kanehisa M., Furumichi M., Sato Y., Kawashima M., Ishiguro-Watanabe M. KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes // Nucleic Acids Research. – 2023. – Vol. 51, No. D1. – P. D587–D592. doi:10.1093/nar/gkac963

30. Sherman B.T., Hao M., Qiu J., Jiao X., Baseler M.W., Lane H.C., Imamichi T., Chang W. DAVID: a web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update) // Nucleic Acids Research. – 2022. – Vol. 50, No. W1. – P. W216–W221. doi:10.1093/nar/gkac194

31. Zhou Z.R., Huang P., Song G.H. [et al.]. Comparative proteomic analysis of rats subjected to water immersion and restraint stress as an insight into gastric ulcers // Molecular Medicine Reports. – 2017. – Vol. 16, No. 4. – P. 5425–5433. doi:10.3892/mmr.2017.7241

32. Ueyama T., Saika M., Koreeda C., Senba E. Water immersion-restraint stress induces expression of immediate-early genes in gastrointestinal tract of rats // American Journal of Physiology. – 1998. – Vol. 275, No. 2. – P. G287–G295. doi:10.1152/ajpgi.1998.275.2.G287