

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

მაია გაიოზიშვილი

ქრომატინის მოდიფიკაცია პეპტიდური ბიორეგულატორების
მოქმედებისას ხანდაზმულ ინდივიდებში

05. 04. 16 - გენეტიკა

დისერტაცია

ბიოლოგიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

თეიმურაზ ლეჟავა, პროფესორი,
ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი

თინათინ ჯოხაძე, ასოცირებული პროფესორი,
ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი



უნივერსიტეტის
გამოცემლობა

თბილისი

2015

სარჩევი

| | |
|---|----|
| 1. შესავალი | 4 |
| 2. ლიტერატურის მიმოხილვა | 7 |
| 2.1 ქრომატინის სტრუქტურული ორგანიზაცია..... | 7 |
| 2.2 ქრომატინის ფუნქციური მახასიათებლები..... | 10 |
| 2.2.1 ადამიანის გენომის ფრაგილური საიტები | 10 |
| 2.2.2 აკროცენტრული ქრომოსომების Ag - დადებითი ბირთვაკმაორგანიზებელი უბნების გამოვლენის სიხშირე და განაწილების თავისებურება..... | 12 |
| 2.2.3 C-სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინი | 15 |
| 2.2.4 შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლები | 16 |
| 2.3 ქრომატინის მოდიფიკაცია დაბერების პროცესში..... | 19 |
| 2.4 ქრომოსომათა სტრუქტურული ცვლილებები ასაკთან დაკავშირებით | 24 |
| 2.5 ათეროსკლეროზი, როგორც ასაკთან ასოცირებული პათოლოგია და მისი გენეტიკური ასპექტები..... | 25 |
| 2.5.1 ათეროსკლეროზის პათოგენეზი | 25 |
| 2.6 პეპტიდური ბიორეგულატორები და მათი როლი „დაბერებული“ ორგანიზმის ქრომატინის ფუნქციონირებაში..... | 28 |
| 2.7 მეტალთა ბიოლოგიური აქტივობა | 32 |
| 3. კვლევის მასალა და მეთოდთა კომპლექსი | 36 |
| 3.1 მასალა | 36 |
| 3.1.1 ბიორეგულატორები | 36 |
| 3.2 გამოყენებული მეთოდები | 37 |
| 3.2.1 ადამიანის პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტების კულტივირება | 37 |
| 3.2.2 ქრომოსომალური მუტაციები | 37 |
| 3.2.3 აქტიური ბირთვაკის ორგანიზატორთა დიფერენციული შეღებვა (ვერცხლით იმპრეგნაციის მეთოდი) | 38 |
| 3.2.4 დიფერენცირებული სკანირების მიკროკალორიმეტრიული მეთოდი | 39 |
| 3.2.5 სტრუქტურული პერიცენტრული ჰეტეროქრომატინის შეღებვის მეთოდი (C-ბენდირება) | 39 |
| 3.2.6 შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლების (შქგ) გამოვლენის მეთოდთა კომპლექსი | 40 |
| 4. მიღებული შედეგების ანალიზი და განსჯა | 42 |

| | |
|--|-----|
| 4.1 პეპტიდური ბიორეგულატორების (ბრონხოგენისა და კორტაგენის) გავლენა ქრომოსომათა აბერაციების შემცველი უჯრედების სიხშირეზე ხანდაზმულ ასაკში..... | 42 |
| 4.2 პეპტიდური ბიორეგულატორების გავლენა რიბოსომული ცისტრონების აქტივობაზე (სინთეზური პროცესების ინტენსივობაზე) ხანდაზმულ ინდივიდებში..... | 48 |
| 4.3 ბრონხოგენისა და კორტაგენის გავლენა ჰეტეროქრომატინიზაციის დონეზე..... | 61 |
| 4.4 კორტაგენის გავლენა პერიცენტრომერულ სტრუქტურულ ჰეტეროქრომატინიზე..... | 64 |
| 4.5 პეპტიდური ბიორეგულატორების გავლენა შვილეულ ქრომატიდათა შორის გაცვლებზე - ფაკულტატურ ჰეტეროქრომატინზე | 68 |
| 4.6 გენომური პარამეტრების კორექცია ათეროსკლეროზით დაავადებულ ხანდაზმულ ინდივიდებში ქრომატინის მამოდიფიცირებელი აგენტების ზემოქმედებისას | 76 |
| 4.6.1 შვილეულ ქრომატიდათაშორისი გაცვლების ვარიაბელობა ათეროსკლეროზით დაავადებულ ხანდაზმულ ინდივიდებში..... | 83 |
| 4.6.2 Ag ⁺ ბირთვაკის ორგანიზატორთა სიხშირე ათეროსკლეროზით დაავადებულ ხანდაზმულ ინდივიდებში..... | 85 |
| 5. დასკვნა..... | 88 |
| 6. გამოყენებული ლიტერატურა | 90 |
| 7. განმარტებები | 104 |

1. შესავალი

თემის აქტუალობა.

ევკარიოტულ უჯრედში მემკვიდრეობითობის სტრუქტურულ ერთეულს წარმოადგენს ქრომატინი - ნუკლეოპროტეინული კომპლექსი, რომელიც შედგება დნმ-ს, ფუძოვანი ცილების - ჰისტონების ან პროტამინებისაგან, მჟავე ცილების, რნმ-ს, ცხიმების, კალციუმისა და მაგნიუმის იონებისაგან, სავარაუდოა - რკინის იონებიც. ქრომატინი ექვემდებარება ეპიგენეტიკურ მოდიფიკაციას - გენთა ფუნქციური მდგომარეობის ცვალებადობას მათში ნუკლეოტიდური თანამიმდევრობების ცვლილების გარეშე, რომელიც მრავალუჯრედიანი ორგანიზმების განვითარებისა და ფუნქციონირების რეგულაციის საფუძველია. უკანასკნელ წლებში დაგროვდა მრავალრიცხოვანი მონაცემები, რომლებიც მიუთითებენ, რომ ეპიგენეტიკური პროცესები მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ სასიცოცხლო ფუნქციების რეგულაციაში ონტოგენეზის გვიანდელ ეტაპზე. კერძოდ, დაბერებისას ადგილი აქვს მეთილირების პროფილების ფართომასშტაბიან ცვლილებებს. ვარაუდობენ, რომ ეს პროცესები გენეტიკურ კონტროლს ექვემდებარება. ნაჩვენებია, რომ დაბერებისას ეპიგენეტიკური რეგულაციის პროცესებში წამყვან როლს ასრულებს ქრომატინის კონდენსაცია (ჰეტეროქრომატინიზაცია), რაც ასაკთან ერთად იწვევს გენთა ფუნქციონირების დაქვეითებას. ამავდროულად, ქრომატინის პროგრესულ ჰეტეროქრომატინიზაციას თან სდევს რეპარაციის ინტენსივობის დაქვეითება და შესაბამისად, მუტაციური პროცესის გაძლიერება (Lezhava, 1980, 1984, 2001, 2006). ქრომატინის მოდიფიკაციის ძირითად მექანიზმებს, როგორც ცნობილია, წარმოადგენს: ჰისტონური კოდის მოდიფიკაცია, ჰისტონების აცეტილირება და ფოსფორილირება, ნუკლეოსომების რემოდელირება, დნმ-სა და ქრომატინის მეთილირება (Herranz and Esteller, 2007; Canzio et al., 2013; Li and Zhang, 2014). ეს პროცესები თავის მხრივ, ექვემდებარება ცვალებადობას გარკვეული აგენტებით ზემოქმედების პირობებში.

ქრომოსომათა სტრუქტურულ-რაოდენობრივი დარღვევების დონე, ბირთვკის ორგანიზატორთა აქტივობა და ასოციაციური მაჩვენებელი, შვილულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლების სიხშირე, პერიცენტრული C-სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის ვარიაბელობა - ეს ქრომატინის მდგომარეობის ის ფუნქციური

მახასიათებლებია, რომლებიც ცვალებადობს ონტოგენეზის როგორც ადრეულ, ისე გვიანდელ ეტაპებზე (Lezhava, 2001; Okuda et al., 2002). ნაჩვენებია ასევე, რომ ონტოგენეზის გვიანდელ ეტაპზე ეს ცვალებადობა ქრომატინის პროგრესული კონდენსაციის - ჰეტეროქრომატინიზაციის შედეგია (Lezhava, 2001, 2006).

ონტოგენეზის გვიანდელ ეტაპზე ქრომოსომული აპარატის ცვალებადობის კორექციის შესაძლებლობის შესწავლა თავისთავად აქტუალურია, რადგან ძირითადი როლი დაბერებაში სწორედ ჰეტეროქრომატინიზაციით განპირობებულ ქრომოსომათა ფუნქციური მახასიათებლების ცვალებადობას ენიჭება (Lezhava, 2001; Lezhava et al., 2004, 2015). გარდა ამისა, პრობლემას აქტუალობას მატებს ის გარემოებაც, რომ ქრომატინის მდგომარეობის ცვალებადობა ონტოგენეზის გვიანდელ ეტაპზე დაკავშირებულია ჰომეოსტაზის დარღვევასთან, რაც შესაბამისად, ორგანიზმის ფუნქციათა თანდათანობით დაკარგვას იწვევს. ცნობილია, რომ დაბერების პროცესში ქრომატინის მოდიფიკაციასთან ასოცირებულია რიგი დაავადებებისა, რომელთაც სიბერის პათოლოგიებს მიაკუთვნებენ. პათოლოგიათა ამ ჯგუფიდან განსაკუთრებულ ინტერესს, ფართო გავრცელების გამო, იწვევს ათეროსკლეროზი, რომლის მანიფესტაციაც, შემთხვევათა დიდ უმრავლესობაში, ხანდაზმულ ასაკში ხდება (Stary, 1992; Lusis, 2004).

ბოლო დროის ლიტერატურული მონაცემებით დადგენილია, რომ ქრომატინის მამოდიფიცირებელი ეფექტით ხასიათდება პეპტიდური ბიორეგულატორები. ცნობილია რომ პეპტიდურ ბიორეგულატორებს მოქმედების ფართო სპექტრი ახასიათებთ და კოორდინაციას უწევენ მრავალუჯრედიანი სისტემების განვითარებასა და ფუნქციონირებას. კერძოდ, ნაჩვენებია, რომ ლივაგენისა (Lys-Glu-Asp-Ala) და ეპიტალონის (Ala-Glu-Asp-Gly) ზემოქმედებისას ადგილი აქვს დაბერების პროცესში ჰეტეროქრომატინიზებული ქრომატინის დეკონდენსაციას, რაც დაბერების პროცესზე ზემოქმედებისა და სიბერის პათოლოგიების განვითარების პრევენციის ეფექტურ საშუალებად განიხილება (Lezhava and Jokhadze, 2007; Khavinson et al., 2002, 2004, 2014).

ამ ჭრილში განსაკუთრებულ ინტერესს იძენს ბიორეგულატორთა ახალი კლასის - ბრონხოგენისა (Ala-Glu-Asp-Leu) და კორტაგენის (Ala-Glu-Asp-Pro) შესწავლაც,

რომლებიც აქტიურად გამოიყენება პრაქტიკულ გერიატრიაში და შესწავლილი არ არის ქრომატინზე მათი მამოდიფიცირებელი მოქმედების თვალსაზრისით.

სამუშაოს მიზანი. აღნიშნულიდან გამომდინარე, მოცემული შრომის მიზანს წარმოადგენდა პეპტიდური ბიორეგულატორების - გეროპროტექტორების მამოდიფიცირებელი მოქმედების შესწავლა კლინიკურად ჯანმრთელ და ათეროსკლეროზით დაავადებულ ხანდაზმულ ინდივიდთა გენომზე და შესაბამისად, მათ მიერ შეცვლილი გენომური მახასიათებლების კორექციის უნარის დადგენა.

კვლევის მიზნის შესაბამისად დასახული იყო შემდეგი **ამოცანები**:

1. პეპტიდური ბიორეგულატორების გავლენის შესწავლა ქრომოსომათა აბერაციების სიხშირეზე ხანდაზმულ ინდივიდთა და ათეროსკლეროზით დაავადებულთა უჯრედებში, რაც ქრომატინის კონდენსაციის ხარისხის ცვალებადობის შეფასების საშუალებას იძლევა.

2. აქტიური ბირთვაკის ორგანიზატორების და აკროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაციების სიხშირისა, და შესაბამისად, სინთეზური პროცესების ნტენსივობის განსაზღვრა ხანდაზმულ ინდივიდთა და ათეროსკლეროზით დაავადებულთა უჯრედებში ბიორეგულატორების მოქმედებისას, ბირთვაკმაორგანიზებელი რაიონების Ag⁺ შეღებვის მეთოდის გამოყენებით.

3. პეპტიდური ბიორეგულატორების გავლენის შესწავლა ზოგადი ქრომატინის მდგომარეობაზე ხანდაზმულ ინდივიდთა და ათეროსკლეროზით დაავადებულთა უჯრედებში, ქრომატინის ლლობის პარამეტრების ცვალებადობის დადგენის გზით, დიფერენცირებული სკანირების მიკროკალორიმეტრიული მეთოდის გამოყენებით.

4. პეპტიდური ბიორეგულატორების გავლენის შესწავლა ფაკულტატური ჰეტეროქრომატინის ცვალებადობაზე და სომატური რეკომბინაციის სიხშირეზე ხანდაზმულ ინდივიდთა და ათეროსკლეროზით დაავადებულთა უჯრედებში, ქრომატიდთაშორისი გაცვლების ტესტის მიხედვით.

5. პერიცენტრომერული სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის ცვალებადობის შესწავლა პეპტიდური ბიორეგულატორით ზემოქმედებისას C -სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის განსაზღვრის მეთოდით, ხანდაზმულ ინდივიდთა უჯრედებში.

2. ლიტერატურის მიმოხილვა

2.1 ქრომატინის სტრუქტურული ორგანიზაცია

როგორც უკვე აღინიშნა, დაბერებას თან სდევს ორგანიზმის ნორმალურ ფუნქციათა თანდათანობითი დაკარგვა, და შესაბამისად, დაბერებასთან ასოცირებული პათოლოგიების განვითარება, რის საფუძველსაც ქრომატინის ასაკობრივი ცვალებადობა წარმოადგენს. როგორც ცნობილია, ქრომატინი დნმ-ს უბრალოდ პასიურ „შემფუთავს“ კი არ წარმოადგენს, არამედ ეპიგენეტიკური ინფორმაციის მატარებელია.

ტერმინი „ეპიგენეტიკა“ (ისევე როგორც „ეპიგენეტიკური ლანდშაფტი“) პირველად შემოთავაზებულ იქნა კონრად უოდინქტონის მიერ 1942 წელს, როგორც სიტყვების - „გენეტიკა“ და „ეპიგენეზი“ წარმოებული. დღეისათვის უფრო ხშირად გამოიყენება არტურ რიგსის მიერ 90-იან წლებში მოწოდებული ეპიგენეტიკის განმარტება - „მიტოზურად და/ან მეიოზურად დამემკვიდრებადი ცვლილებები გენთა ფუნქციებში, რომლებიც არ არის გამოწვეული ცვლილებებით დნმ-ს თანამიმდევრობებში.

ეპიგენეტიკის მოლეკულური საფუძველი საკმაოდ რთულია, რადგან იგი არ ეხება დნმ-ს პირველად სტრუქტურას, არამედ ცვლის გრაკვეული გენების აქტივობას. ეს იძლევა იმის ახსნას, თუ რატომ არის, რომ მრავალუჯრედიანი ორგანიზმის დიფერენცირებულ უჯრედებში ექსპრესირდება მხოლოდ ის გენები, რომლებიც საჭიროა მათი სპეციფიკური ფუნქციის განხორციელებისათვის. ეპიგენეტიკური ცვლილებების თავისებურებას წარმოადგენს ის, რომ მათი შენარჩუნება ხდება უჯრედული დაყოფებისას. ცნობილია, რომ ეპიგენეზური ცვლილებების უმრავლესობა ვლინდება მხოლოდ ერთი ორგანიზმის სიცოცხლის განმავლობაში. ამავდროულად, თუ სპერმატოზოიდასა და კვერცხუჯრედში მოხდა დნმ-ის ცვლილებები, მაშინ ზოგიერთი ეპიგენეტიკური გამოვლინება შეიძლება გადაეცეს ერთი ორგანიზმული თაობიდან მეორეს.

გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაცია, ტრანსკრიფცია, დნმ-ს რეპლიკაცია, რეპარაცია და რეკომბინაცია მიმდინარეობს სწორედ ქრომატინში, რომელსაც ორგანიზაციის რამდენიმე იერარქიული საფეხური გააჩნია. ქრომატინის ორგანიზაციის ყველაზე დაბალ საფეხურს წარმოადგენს ნუკლეოსომა (Wolffe, 1998). ქრომატინის ნუკლეოსომური და ზენუკლეოსომური ორგანიზაციის შედეგს წარმოადგენს დნმ-ს გიგანტური მოლეკულების კომპაქტიზაცია მცირე მოცულობის ბირთვში. ბუნებრივია, რომ ასეთი კომპაქტიზაცია არ წარმოადგენს მხოლოდ დნმ-ს „შეფუთვის“ მოვლენას და შეუძლია მკვეთრად შეზღუდოს დნმ-სა და დნმ-თან ურთიერთმოქმედი ტრანსკრიფციის, რეპლიკაციის, მოდიფიკაციისა და რეპარაციის ფერმენტების აქტიურობის შესაძლებლობები. ამრიგად, ბირთვში დნმ-ს მოწესრიგებული კომპაქტიზაცია განაპირობებს გენეტიკური ინფორმაციის რეალიზაციის პროცესების „არასპეციფიკურ“ დათრგუნვას, ანუ გააჩნია რეგულატორული ფუნქციის მატარებლის დატვირთვა. ეუკარიოტულ გენომში

ეპიგენეტიკური ცვლილებები იწვევენ გენთა ფუნქციური მდგომარეობის გადართვას აქტიურიდან „გაჩუმებულ“ მდგომარეობაში და პირიქით. თავის მხრივ, ეპიგენეტიკური რეგულაციის დარღვევა იწვევს მრავალრიცხოვან, მათ შორის სიმსივნურ დაავადებებს (Tsankova et al., 2007; Fitzsimons et al., 2014; Obata et al., 2015).

ბირთვული ქრომატინი იყოფა ორ ძირითად ტიპად, ევქრომატინად და ჰეტეროქრომატინად (Huisinga et al., 2006). ევქრომატინი ინტერფაზულ უჯრედებში დეკონდენსირებულია და შეიცავს მეტად აქტიურ ტრანსკრიბირებად გენებს. ამის საპირისპიროდ, ჰეტეროქრომატინი სტრუქტურულად კონდენსირებულ მდგომარეობაშია მთელი ინტერფაზის განმავლობაში, ხშირად გვიან რეპლიცირებს და უმეტესად არ ტრანსკრიბირებს.

კონსტიტუციური ჰეტეროქრომატინი უჯრედის სიცოცხლის განმავლობაში არის დნმ-ის განმეორებადი თანმიმდევრობის სახით, როგორცაა პერიცენტრომერული და ტელომერული თანმიმდევრობები. ფაკულტატური ჰეტეროქრომატინი ფორმირდება უჯრედის ფენოტიპის ცვლილების შესაბამისად (Heard, 2004). არსებობს სპეციალიზებული დომენი ფაკულტატურ ჰეტეროქრომატინში, რომელსაც ეწოდება დაბერებასთან დაკავშირებული ჰეტეროქრომატინი (Narita et al., 2003; Zhang et al., 2005).

ჰეტეროქრომატინი, როგორც წესი, ორ ძირითად ფუნქციას ასრულებს: პირველი - მისი კომპაქტური სტრუქტურითა და ტრანსკრიფციის სპეციფიურ რეპრესორ ცილებთან კავშირით ის აჩერებს არაექსპრესირებადი გენებისა და დნმ-ს განმეორებადი თანმიმდევრობების არასაჭირო ტრანსკრიფციას (Huisinga et al., 2006). მაგალითად, ქალის ერთ-ერთ X- ქრომოსომაში დიდი რაოდენობით გენების ინაქტივაციის გზით, ჰეტეროქრომატინიზაცია ათანაბრებს „გენთა დოზას“ ქალისა და მამაკაცის უჯრედებში (Heard, 2004). მეორე - ჰეტეროქრომატინი ასრულებს სტრუქტურულ როლს. მაგალითად, განმეორებად პერიცენტრომერულ დნმ-ში, რომლითაც ფლანკირებულია ქრომოსომათა ცენტრომერო და კინეტოქორი, აუცილებელია შვილეულ ქრომატიდთა კავშირისათვის (Bernard et al., 2001; Peters et al., 2001; Nonaka et al., 2002; Fukagawa et al., 2004), კინეტოქორების სწორად ასაწყობად (Obuse et al., 2004) და შვილეული კინეტოქორების ორიენტირების განსასაზღვრად, მიტოზის დროს ქრომოსომათა მიმაგრების ბიორიენტაციის საწარმოებლად (Pidoux and Allshire, 2005).

1974 წელს ა. და დ. ოლინსებმა (Olins A. and Olins D., 1974) ქრომატინის ელექტრონულმიკროსკოპული გამოკვლევით ცხადყვეს, რომ ქრომატინის ფიბრილებს გარკვეულ პირობებში აქვთ წვრილი ძაფების ფორმა, რომლებზეც მძივების მსგავსადაა განლაგებული 10 ნმ დიამეტრის ბურთულები. კორნბერგმა (Kornberg, 1992) აჩვენა, რომ თითოეული ბურთულა შეიცავს 150-200 ბ ზომის დნმ-ს მოლეკულას და ჰისტონების 8 მოლეკულას (H2A, H2B, H3 და H4 ჰისტონების 2-2 მოლეკულა). ამ ბურთულებს მოგვიანებით ნუკლეოსომები უწოდეს. რენტგენოსტრუქტურული

ანალიზით გაირკვა, რომ დნმ-ს ძაფი დახვეულია ჰისტონურ გლობულაზე - ოქტამერზე, დაახლოებით 1,75 სუპერხვეულის სახით. H2A, H2B, H3 და H4 ე.წ. კანონიკური ჰისტონებია, რომლებიც ქრომატინში ერთვება მხოლოდ S ფაზაში, მათი ექსპრესია რეგულირდება უჯრედული ციკლით. ეს ჰისტონები ჩვეულებრივ ტრანსკრიბირდება კლასტერებად ორგანიზებული რამდენიმე გენისაგან. H1 ჰისტონი ურთიერთქმედებს ლინკერული დნმ-ს დაბოლოებებთან H3 - H4 ტეტრამერის უბანში. ყველა ჰისტონისათვის, H4-ის გარდა, ნაჩვენებია ალტერნატიული ვარიანტების არსებობა, რომლებმაც ზოგიერთ შემთხვევაში შეიძლება შეცვალონ ნუკლეოსომის შემადგენლობაში არსებული კანონიკური ჰისტონები. ჰისტონების ვარიანტულ ფორმებს წარმოადგენენ ცილები, რომელთა სტრუქტურა ძირითადად ემთხვევა ჰისტონის სტრუქტურას, მაგრამ თვისებები რამდენადმე განსხვავებულია იმის გამო, რომ ზოგიერთ ფუნქციურ დომენში ადგილი აქვს ამინომჟავათა ჩანაცვლებებს. თითოეული ჰისტონი წარმოქმნის რამდენიმე კონტაქტს დნმ-თან. H3 და H4 ჰისტონი უპირატესად ცენტრში განლაგდება, H2A და H2B კი პერიფერიაზე. H1 ჰისტონი ძირითადად განაპირობებს პერიფერიულ კონტაქტებს. ჰისტონების ბირთვის აქვს ორი დომენი: გლობულარული დომენი, რომელიც ჩართულია ჰისტონ-ჰისტონურ ურთიერთქმედებაში ჰისტონების მოხრის დომენის მეშვეობით, და N-ტერმინალური ჰისტონური კუდი, რომელიც შედგება დაახლოებით 15-დან 30-მდე ამინომჟავისაგან, რომლებიც პოსტტრანსლაციურად ძლიერ მოდიფიცირებულია. ექსპერიმენტებმა აჩვენა, რომ ჰისტონების ბოლოები ნუკლეოსომის ფარგლებში ურთიერთქმედებენ ლინკერულ დნმ-თან (ეს არის დნმ-ს სეგმენტი ნუკლეოსომის შიგნით) (Vaquero et al., 2003; Obuse et al., 2004; Lezhava et al., 2006; Henikoff and Smith, 2015).

In vitro ექსპერიმენტებმა აჩვენა, რომ ნუკლეოსომის სტრუქტურა ძალზედ სტაბილურია. ამასთანავე, in vivo ექსპერიმენტებისას, მწვანე ფლუორესცენტული პროტეინის გამოყენებით (GFP ჰისტონთან შერწყმული პროტეინი), ნაჩვენებია, რომ H2B ჰისტონის მთელი რაოდენობის დაახლოებით ნახევარს და H3 და H4 ჰისტონების მთელი რაოდენობის დაახლოებით 20%-ს აქვთ სპეციფიკური სივრცობრივი ორგანიზაცია, რაც შესაძლოა წარმოადგენს ნუკლეოსომის დინამიკურ მდგომარეობაში შენარჩუნების საშუალებას (Luger et al., 1997; Kimura et al., 2001). ამასთანავე, ნუკლეოსომის ეს დინამიკური მდგომარეობა შესაძლოა გადაეცემა უჯრედთა ერთი თაობიდან მეორეს. მემკვიდრეობითობის ეს ფორმა ცნობილია როგორც ეპიგენეტიკური მემკვიდრეობითობა.

ეპიგენეტიკური ინფორმაციის კოდირების ძირითად (მაგრამ არა ერთადერთ) მექანიზმებს წარმოადგენს დნმ-ს მეთილირება და ქრომატინის დინამიური გარდაქმნები. ქრომატინის გარდაქმნები ხორციელდება სამი ძირითადი ურთიერთდაკავშირებული მექანიზმის მეშვეობით:

1. ჰისტონების კოვალენტური მოდიფიკაცია,
2. ქრომატინის ატფ-დამოკიდებული რემოდელირება და
3. ქრომატინში ვარიანტული ჰისტონების ჩართვა.

ასეთი ცვლილებების კომბინაციები განიხილება როგორც ფუნდამენტური ეპიგენეტიკური დამატებები გენეტიკურ კოდთან (Lusser et al., 2001; Grewal et al., 2002; Imhof et al., 2003; Taverna et al., 2007).

ჰისტონების პოსტრანსლაციური კოვალენტური მოდიფიკაციები წარმოქმნიან ეპიგენეტიკურ ცვლილებებს, რომლებიც განსაზღვრავენ გენომის სხვადასხვა უბნების ფუნქციურ მდგომარეობას - ჰისტონურ კოდს. ატფ-დამოკიდებული ქრომატინის რემოდელირების ცილები ახდენენ ქრომატინის სტრუქტურის მოდიფიკაციას დნმ-ჰისტონური კონტაქტების ცვლილების გზით. ასეთი ცვლილებები იწვევენ ნუკლეოსომების ჩართვას ან მოცილებას, რაც განსაზღვრავს გენთა „გაჩუმებას“ ან გააქტიურებას. ვარიანტული ჰისტონები და ის ფაქტორები, რომლებიც განაპირობებენ ქრომატინში ამ ჰისტონების ჩართვას, არსებით როლს ასრულებენ ქრომოსომული არქიტექტურის, გენთა ექსპრესიის, ეპიგენეტიკური მექანიზმების ფორმირების კონტროლში.

2.2 ქრომატინის ფუნქციური მახასიათებლები

2.2.1 ადამიანის გენომის ფრაგილური საიტები

ეუკარიოტების და მათ შორის, ადამიანის გენომისთვისაც დამახასიათებელია ნუკლეოტიდთა გარკვეული თანამიმდევრობის რამდენიმე ასლის - განმეორადობების სახით არსებობა. განასხვავებენ ტანდემურ (ერთმანეთის მიყოლებით განლაგებულ) და მთელ გენომში დისპერგირებულ განმეორებადობებს. ტანდემურად გამეორებად თანამიმდევრობებში ზომების მიხედვით გამოყოფენ მინი - (10-20-მდე ნუკლეოტიდური წყვილი) და მიკროსატელიტურ (2-5 ნ.წ.) განმეორებადობებს. ნაჩვენებია (Haaf et al., 1996), რომ მინისატელიტები ძირითადად ტელომერების მახლობლად არის კლასტერიზებული, მიკროსატელიტები კი მთელს გენომშია გაფანტული. ეს უკანასკნელი გამოყენებას პოვებს სამედიცინო გენეტიკაში სხვადასხვა დაავადებათა კარტირებისათვის.

მიკროსატელიტების ერთ-ერთ კლასს სამი ნუკლეოტიდის ზომის, ე.წ. - ტრინუკლეოტიდური გამეორადობები წარმოადგენს. ნაჩვენებია (Richards and Sutherland, 1992; Weber and Wong, 1993) რომ ტანდემური ტრინუკლეოტიდური გამეორადობების საფუძველზე ხდება ე.წ. „დინამიური მუტაციების“, წარმოქმნა, რომლებისთვისაც ნიშანდობლივია ამ განმეორებადობათა ასლების რაოდენობის ზრდა როგორც გენის რეგულატორულ, ისე ტრანსლირებად ნაწილებში. ნორმაში ზოგიერთი გენისათვის დამახასიათებელია ტრინუკლეოტიდურ განმეორებათა გარკვეული რიცხვი. ამასთან, თითოეული მათგანისათვის არსებობს პოპულაციური ცვალებადობის განსაზღვრული რაოდენობრივი ინტერვალი. უნდა აღინშნოს, რომ ნორმალურ ალელებში განმეორებათა რიცხვი შეიძლება ვარიირებდეს რამდენიმე ათეულიდან რამდენიმე ასეულამდე. რიგ შემთხვევაში ადგილი აქვს ტრინუკლეოტიდური განმეორებადობების ექსპანსიას - ასლების რაოდენობის ზრდას სპეციფიკური კრიტიკული ზღვრის ზევით. ქრომოსომებზე ასეთი ექსპანსირებული

ტრინუკლეოტიდური განმეორებადობების ლოკალიზაციის უბნები უფრო მგრძობიარეა გენეტიკური სტრუქტურის ცვლილების თვალსაზრისით, ხასიათდება მაღალი მიდრეკილებით გაწყვეტებისადმი, გვიან რეპლიცირებს (Wang et al., 1999) და ეწოდება ფრაგილური (მსხვრევადი) საიტები (Hecht, 1969).

ფრაგილური საიტები ქრომოსომებზე ვლინდება: ცვალებადი სიგრძის მქონე შეუღლებავი უბნის - გეპის სახით, რომელიც ჩვეულებრივ, ორივე ქრომატიდას მოიცავს; მეორადი ჭიმის სახით; დაუსრულებელი ქრომატიდული ან იზოქრომატიდული წყვეტების სახით. ფრაგილური საიტების საფუძველზე შემდგომში ხდება ქრომოსომული მუტაციების ფორმირება. რიგი ფრაგილური საიტებისათვის დადგენილია მემკვიდრეობით გადაცემის უნარი და დამემკვიდრების დომინანტური ხასიათი. ცალკეულ ინდივიდთა და მათი სისხლით ნათესავების უჯრედების ქრომოსომებზე ფრაგილურ საიტებს ერთი და იგივე ლოკალიზაცია აქვთ.

ფრაგილური საიტები კლასიფიცირდება ორი მიმართულებით: 1. პოპულაციაში გავრცელების სიხშირის მიხედვით, სადაც გამოიყოფა 2 შტო: 1) იშვიათი (rare ~2%) ფრაგილური საიტები, რომლებიც ძირითადად ვლინდება ფოლატითა და თიმიდილატით დამუშავების შედეგად. ფოლატ-მგრძობიარე მუტაციებს ადგილი აქვს CCG განმეორებებით მდიდარ უბნებში. ყველაზე კარგად შესწავლილი "იშვიათი" ფრაგილური საიტია FRAX, რომელიც გვხვდება ფრაგილურ X სინდრომიან ინდივიდებში. სინდრომის 95% გმოწვეულია FMR-1 გენში მუტაციით, რომელის მიზეზს წარმოადგენს არასტაბილური 3 ნუკლეოტიდის განმეორებადობის ექსპანსია CGG არატრანსკრიბირებად FMR-1 გენის უბანში (Coffee et al., 2002). იშვიათი ფრაგილური საიტები აღინიშნება მხოლოდ გარკვეულ ინდივიდებსა და მათ ნათესავებში. 2) ზოგადი (common ~50%) ფრაგილური საიტები. მათი ექსპრესია იზრდება დნმ-პოლიმერაზას ინჰიბიტორით უჯრედების დამუშავების შედეგად (Arlt et al., 2003; Sutherland, 2003). ეს ფრაგილური საიტები ნანახია ყველა ადამიანში.

ფრაგილური საიტების კლასიფიკაცია ასევე მიმდინარეობს მათი ექსპრესიის გამომწვევი აგენტების მიხედვით. ცნობილია რამდენიმე ნივთიერების მიმართ მგრძობიარე ფრაგილური საიტი.

1. ფოლიუმის მჟავასა და თიმიდინის მიმართ მგრძობიარე ფრაგილური საიტები. სწორედ ამ ჯგუფს მიეკუთვნება არსებული ფრაგილური საიტების უმეტესობა.

2. ფოლიუმის მჟავასა და თიმიდინის მიმართ რეზისტენტული, მაგრამ დისტომიცინ A და ინტერფერონის მიმართ მგრძობიარე (16q22).

3. ზოგიერთი ფრაგილური საიტი ექსპრესიისათვის საჭიროებს ბრომდეზოქსიურიდინს (BrdU), მაგ. 10q25.

4. ცნობილია აგრეთვე აფიდიკოლინის, fudR-ისა (ფლუოროდეზოქსიურიდინი) და კოფეინის გავლენა ფრაგილური საიტების ექსპრესიაზე.

ფრაგილური საიტები აღმოჩენილია ადამიანში, პრიმატებში, თაგვებში და შესაძლოა იყოს საფუარშიც კი.

შიმპანზეს, გორილას, ორანგუტანის, მაკაკას და ადმიანის ლიმფოციტური ქრომოსომების შედარებითი ანალიზით ნაჩვენებია, რომ ადამიანის ზოგადი ფრაგილური საიტების მაღალი პროცენტულობა ექვივალენტურია მაიმუნის ქრომოსომებში აღნიშნული საიტების პროცენტულობისა, თუმცა ზოგჯერ მნიშვნელოვნად განსხვავებულია ექსპრესიის სიხშირე. იმისათვის, რომ ზოგადი ფრაგილური საიტების ქრომოსომებში მდებარეობა, ისევე როგორც გეპების, გახდეს ხილული, უჯრედმა უნდა გაიაროს რეპლიკაციური სტრესი (Helmrich et al., 2006).

ფრაგილური საიტები წარმოადგენენ რიგ პათოლოგიათა ფორმირების მოლეკულურ საფუძველს, რომლებსაც ტრინუკლეოტიდურ გამეორებადობათა ექსპანსიის დაავადებებს უწოდებენ. კლინიკური ნიშნების გამოვლენა ამ დაავადებების დროს ხდება მაშინ, როდესაც გამეორებათა რიცხვი მოცემული გენისათვის კრიტიკულ ზღვარს აღწევს. ზოგიერთი ასეთი დაავადებისთვის დამახასიათებელია განმეორებათა რიცხვის ზრდა მდებარეობითი სასქესო უჯრედების ფორმირებისას მეოზში, დაავადებათა მეორე ჯგუფისათვის - მამრობითი უჯრედების მეოზში, მესამე ჯგუფში კი ასეთი დამოკიდებულება გამოვლენილი არ არის. ფრაგილური საიტების ექსპანსიით არის განპირობებული მთელი რიგი ნეიროდეგენერაციული და ნეიროკუნთოვანი მემკვიდრული დაავადებები.

ტრინუკლეოტიდური განმეორებადობების ექსპანსიით გამოწვეული დაავადებებისათვის დამახასიათებელია ანტიციპაცია - კლინიკის დამძიმება თაობიდან თაობაში გადაცემის დროს. ზოგიერთი დაავადების, მაგ: ჰენტინგტონის ქორეის დროს ანტიციპაცია აღინიშნება დაავადების გადაცემისას მამიდან შვილებზე. ზოგ შემთხვევაში, მაგ: მიოტონური დისტროფიის დროს - დედიდან შვილებზე.

2.2.2 აკროცენტრული ქრომოსომების Ag - დადებითი ბირთვაკმაორგანიზებული უბნების გამოვლენის სიხშირე და განაწილების თავისებურება

ასაკობრივი ცვლილებები ადამიანის აკროცენტრული ქრომოსომების ასოციაციების ფორმირებაში განპირობებულია ბირთვაკის ორგანიზატორთა რიბოსომული გენების აქტივაციის ცვლილებებით (წარმოდგენილია აკროცენტრულ ქრომოსომათა მოკლე მხრის თანამგზავრული ძაფების ჰეტეროქრომატინიზებული რაიონით), რაც თავის გავლენას ახდენს რიბოსომების ფორმირებაზე. ეს, თავის მხრივ, განსაზღვრავს რიბონუკლეოპროტეინების რეკონსტრუქციას და დაბერების პროცესის კონტროლს (Olson et al., 2000).

ადამიანის ათივე აკროცენტრული ქრომოსომის მოკლე მხარი, კლასიკურ შემთხვევაში, შედგება სამი ნაწილისაგან: მოკლე სეგმენტისაგან – რომელიც განლაგებულია ცენტრომეროს რაიონთან, ძაფისაგან („Stalk“) – რომელიც წარმოადგენს მოკლე მხრის მეორად ჭიმს (ბირთვაკის ორგანიზატორი) და პატარა, კომპაქტური სხეულაკის – თანამგზავრისაგან.

დადგენილია, რომ ადამიანის აკროცენტრულ ქრომოსომათა თანამგზავრის ძაფს და თანამგზავრს ახასიათებს ძალზედ ფართო სპექტრი ფენოტიპური ცვალებადობის

გამოვლენისა, რაც დაკავშირებულია იმ ქრომოსომების კონდენსაციის ლაბილობასთან, რომლის შემადგენლობაშიც შედიან. როგორც ჩანს, თანამგზავრის ძაფის სიგრძის ვარიაციები და ამ უკანასკნელის ზომები დაკავშირებულია კონდენსაციის ცვლილებასთან და თანმიმდევრულად, ქრომოსომების ფუნქციონირებასთან, გენეტიკურ გარემოსთან დამოკიდებულებით (Прокофьева-Бельговская, 1986).

In situ ჰიბრიდიზაციის დახმარებით დადგენილ იქნა რომ ადამიანის ათივე აკროცენტრული ქრომოსომის მოკლე მხარი შეიცავს გენებს, რომლებიც აკოდირებენ 18s და 28s რიბოსომული რნმ-ების სინთეზს (Evans et al., 1974; de Silva et al., 2000). ბირთვაკის ორგანიზატორთა დიფერენციული შეღებვის – Ag მეთოდის გამოყენებამ საშუალება მისცა გამოვლენილიყო, რომ ადამიანის გენები, რომლებიც აკოდირებენ 18s და 28s რ-რნმ-ებს, გამონაკლისის სახით ლოკალიზებულია მეორად ჭიმებში – თანამგზავრის ძაფებში – „Stalk” (Heliot et al., 2000).

თანამგზავრის ძაფები, რომლებიც მონაწილეობენ ბირთვაკის შექმნაში (NOR), უმეტესწილად წარმოადგენილი არიან ჰეტეროქრომატინული რაიონებით. ბირთვაკთან დაკავშირებული ჰეტეროქრომატინი შეიცავს რიბოსომულ გენებს, რომლებიც მონაწილეობენ ერთ-ერთ ძირითად უჯრედულ პროცესში – ცილების სინთეზში. ეს ცილები განსაზღვრავენ უჯრედის ზრდას, მის ქიმიურ და სტრუქტურულ განახლებას (Olson et al., 2000).

რიბოსომული ცისტრონების ტრანსკრიპცია ხორციელდება ენდოგენური დნმ-დამოკიდებული რნმ-პოლიმერაზა I-ით (Matsui, Sandberg, 1985). წარმოიქმნება რნმ-პოლიმერაზა-I-ის კომპლექსები რ-რნმ-ის გენებთან. იმუნოფლორესცენციის მეთოდის გამოყენებით ნანახია, რომ ტრანსკრიბირებადი რ-დნმ საიტები ლოკალიზებულია ბირთვაკის ფიბრილარულ ცენტრებში, ხოლო რნმ-პოლიმერაზა- I-ის მოლეკულები NOR-ის უბანშია მოთავსებული. ამ მოლეკულების დიდი ნაწილი მთელი უჯრედული ციკლის განმავლობაში რჩება დაკავშირებული რ-რნმ-ის გენებთან. Matsui და Sandberg-მა (1985) მიიღეს ანალოგიური შედეგები Hela-ს უჯრედული ხაზის ქრომოსომებში ენდოგენური რნმ-პოლიმერაზა-I-ის რაოდენობის განსაზღვრის შედეგად.

აღმოჩნდა, რომ NOR შერჩევითად იღებება აზოტმჟავა ვერცხლით (Bloom and Goodpasture, 1976). ქრომოსომები კარგავენ შეღებვის უნარს მათი პროტეოლიტური ან ჟანგითი დამუშავებისას, რაც იძლევა საფუძველს ვივარაუდოთ, რომ Ag-შეღებვისას იღებებიან აკროცენტრული ქრომოსომების არაჰისტონური ცილები, რომლებიც აღადგენენ ვერცხლის იონებს (Matsui et al., 1986). არგენტოფილური ცილები ვლინდება აქტიურად ტრანსკრიბირებად ერთეულებში, მაგრამ არა სპეისერებში (Verma and Rodrigues, 1985).

კვლევებით დადგენილ იქნა, რომ მეტაფაზური ქრომოსომების ვერცხლით შეღებვა (Ag-ბენდირება) დამახასიათებელია მხოლოდ იმ ბირთვაკის ორგანიზატორთათვის, რომლებიც ინტენსიურად ფუნქციონირებდნენ წინამდებარე ინტერფაზასა და

პროფაზაში და მათი შედეგის ინტენსივობა დამოკიდებულია მათი ფუნქციური აქტივობის ხარისხზე (Lezhava et al., 1972; Lezhava, 1999; Heliot et al., 2000; Stitou et al., 2000). ეს დაკვირვებები საშუალებას იძლევა შევიმუშავოთ საფუძვლიანი ჰიპოთეზა, რომ ჰეტეროქრომატინიზაცია – თანამგზავრული ძაფების კონდენსაციის დონე, არის მიზეზი, რომელიც დაკავშირებულია ბირთვაკის ორგანიზატორთა აქტივობასთან, მასზე ლოკალიზებული აქტიური რიბოსომული გენების რაოდენობასთან.

ადამიანში აკროცენტრული ქრომოსომებიდან ასოციაციების ფორმირებაში მონაწილეობას ღებულობენ როგორც ჰომოლოგიური, ასევე არაჰომოლოგიური ქრომოსომები. ქრომოსომების უნარი, შეერთდნენ და წარმოქმნან ასოციაციები, განისაზღვრება ორი ქრომატიდული თანამგზავრული ძაფის არსებობით. ე.ი. ქრომოსომები ითვლებიან ასოცირებულად, როდესაც შეერთებულია მათი თანამგზავრული ძაფების რომელიმე წყვილი. ასოციაციებში შედიან მხოლოდ ის ქრომოსომები, რომელთაც გააჩნიათ წინამორბედ ინტერფაზაში აქტიურად ფუნქციონირებადი NOR-ები (Verma et al., 1983). ლეჟავამ და სხვ. (Lezhava et al., 1972) შექმნეს მათემატიკური “ასოციაციების თანამგზავრული მოდელი”, რომელიც წარმოადგენს პოლინომინალურ განაწილების მოდელს და საშუალებას იძლევა შევისწავლოთ ასოციაციაში შემავალ ქრომოსომათა აქტივობის დონე. გაირკვა, რომ G ჯგუფის ქრომოსომები D-სთან შედარებით უფრო მაღალი სიხშირით შედიან თანამგზავრულ ასოციაციებში (Lezhava and Dvalishvili, 1992).

თანამგზავრი ძაფის ფენოტიპური ცვალებადობის რეგულაცია განპირობებულია NOR-ის ფუნქციური აქტივობის რეგულაციით. ნაჩვენებია, რომ ჰეტეროქრომატინულ თანამგზავრულ ძაფებში რ-რნმ-ის მაკოდირებელი მხოლოდ ზოგიერთი გენია მისაწვდომი ტრანსკრიპციისათვის. შესაბამისად, ასოციაციაში ქრომოსომების შესვლის ალბათობა დამოკიდებულია მისი თანამგზავრის ძაფის კომპაქტიზაციის (ჰეტეროქრომატინიზაციის) ხარისხზე (Lezhava, 1999).

ასოციაციების სიხშირე და Ag^+ ბირთვაკის ორგანიზატორთა რაოდენობა ხანდაზმულ ინდივიდთა უჯრედებში სტატისტიკურად სარწმუნოდ მცირდება (თანამგზავრული ძაფების ჰეტეროქრომატინიზაციის გამო) საშუალო ასაკის ინდივიდებთან შედარებით (Lezhava and Dvalishvili, 1992; Lezhava, 2001). ამასთანავე, ყურადსაღებია, რომ კონდენსირებული თანამგზავრული ძაფები არ ივერცხლება $AgNO_3$ -ით, რაც მიუთითებს რიბოსომული გენების ინაქტივაციაზე.

ნაჩვენებია NOR-ის ტრანსკრიპციული აქტივობის დამოკიდებულება სქესზე, ასაკზე, ეთნიკურ ჯგუფზე, ასევე უჯრედების ტიპზე, მიტოზური დაყოფების რიცხვზე კულტურაში, უჯრედების მალიგნიზაციაზე (Грабовская и др., 1986) და სხვ.

ორმაგი თანამგზავრები D ჯგუფის ქრომოსომებზე აღწერილი იყო ინდივიდებში მრავლობითი სიმახინჯეებით, ავადმყოფში კლაინფელტერის სინდრომით; ორმაგი თანამგზავრები G-ჯგუფის ქრომოსომებზე აღწერილი იქნა ჰიპოსპადიით დაავადებულ ავადმყოფში, აგრეთვე შტეინლევენტალის სინდრომის მქონე ინდივიდში. G ჯგუფის აკროცენტრულ ქრომოსომებზე ორმაგი თანამგზავრების წარმოქმნას, ლეჟავას

მონაცემებით (Lezhava, 2008) შეიძლება ჰქონდეს შემდეგი ახსნა. ეს არის “კლასიკური ტიპის” თანამგზავრი ძაფის გამსხვილებული ნაწილის ნაწილობრივი დესპირალიზაციის, რეციპრიკული ტრანსლოკაციის ან G-ჯგუფის ერთი ქრომოსომის თანამგზავრული რაიონის დუბლიკაციის შედეგი. ორმაგი თანამგზავრები გადაეცემა თაობებს და შეუძლიათ გამოიწვიონ აკროცენტრული ქრომოსომების გაუთიშველობა მიტოზსა და მეორე მეიოზური გაყოფის ანაფაზაში.

ზოგიერთი ავტორის აზრით, აკროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაციები ხელს უწყობენ მეიოზში ამ ქრომოსომათა განურიდებლობას და აღნიშნავენ, რომ რეციპროკული ტრანსლოკაციები უპირატესად გვხვდება თანამგზავრების მქონე ქრომოსომებში (Joens et al., 1988).

ასოციაციებში ჩართვის მომატებული ტენდენცია 21-ე ქრომოსომისთვის აღმოჩენილია დაუნის სინდრომით დაავადებულებსა და მათ მშობლებში. აკვირდებოდნენ მარკერულ 21-ე ქრომოსომას გაორმაგებული Ag-პოზიტიური უბნით, შენიშნეს, რომ ეს ქრომოსომა ხასიათდებოდა ასოციაციებში შესვლის მაღალი უნარით (Yasseen and Musavi, 2001).

ამრიგად, კავშირი Ag-შეღებილ მეტაფაზური ქრომოსომების თანამგზავრულ ძაფებსა (ასოციაციებს) და Ag-შეღებვის ინტენსივობას შორის, უმთავრესად განპირობებულია მათი ბირთვაკის მაორგანიზებელი ფუნქციით (Hens et al., 1980; Trere, 2000).

ბირთვაკისა და ბირთვაკის მაორგანიზებელი უბნების ფუნქციონირება, რომლებიც უჯრედის უმნიშვნელოვანეს მოლეკულურ-გენეტიკურ პროცესებში მონაწილეობენ, უჯრედის ერთ-ერთ ძირითად მახასიათებელს წარმოადგენს. აქედან გამომდინარე, ბირთვაკის ორგანიზატორების მუშაობის კანონზომიერებათა შესწავლა სხვადასხვა ხასიათის ფუნქციონალური ცვლილებების პირობებში, განსაკუთრებულ მნიშვნელობას იძენს.

2.2.3 C-სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინი

ცნობილია, რომ ქრომოსომათა ცენტრომეროსთან და ტელომერასთან ახლოს მდებარე რაიონები – სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის განლაგების ადგილები – ვარიაბელურია და ამ ვარიაბელობის ხარისხი დაკავშირებულია ქრომატინის კონდენსაციასა და მოლეკულურ ორგანიზაციასთან, რომელიც უმეტესწილად შეიცავს სატელიტური დნმ-ს ფრაქციებს. სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინისათვის დამახასიათებელია შიდა და სპეციფიკური ცვალებადობის მაღალი დონე. აღინიშნება მჭიდრო კავშირი ჰეტეროქრომატინული რაიონების შემცველობას და მთელი გენომის ორგანიზაციასა და ფუნქციონირებას შორის.

ადამიანში ქრომოსომების სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის პირველმა გამოკვლევებმა დიფერენციალური შეღებვის (C-ბენდირების) მეთოდით გამოავლინა ჰეტეროქრომატინის ნაწილობრივი ცვლილებები, რაც განისაზღვრა როგორც „პოლიმორფიზმი“. სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის პოლიმორფიზმის შესწავლა

წარმოადგენს იმ ერთიანი პრობლემის ნაწილს, რომელიცაა ონტოგენეზში ჰეტეროქრომატინის ფუნქციონირების კანონზომიერებების თავისებურებათა განსაზღვრა.

C-მეთოდით (C-ბენდირებით) გამოვლენილი სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინი, უმეტესწილად ლოკალიზებულია 1, 9 და 16 ქრომოსომების პერიცენტრომერულ რაიონებსა და მეორად ჭიმებში, ასევე Y-ქრომოსომის დისტალურ ნაწილში.

ლიტერატურული მონაცემები გვიჩვენებენ 1, 9 და 16 წყვილი ქრომოსომების C-ჰეტეროქრომატინის ვარიანტების გამოხატულ სტაბილურობას უჯრედთა გადანერგვად ხაზებში, კულტივირების მრავალი წლის განმავლობაში და ერთი და იმავე ინდივიდის სხვადასხვა ქსოვილების პირველად უჯრედულ კულტურებში (Hoehn et al., 1977).

1, 9 და 16 ქრომოსომების პერიცენტრომეტული ჰეტეროქრომატინისა და Y-ქრომოსომის გრძელი მხრის დისტალური ნაწილის ჰეტეროქრომატინის პოლიმორფიზმის ანალიზმა, 80 წლის და მეტი ასაკის პირებში, გამოავლინა C-ვარიანტების სტაბილურობა 9, 16 წყვილებსა და Y-ქრომოსომაზე. თუმცა ღრმად მოხუცებული პირების 1-ლი ქრომოსომის პერიცენტრომერულ ჰეტეროქრომატინში აღინიშნა უაღრესად მნიშვნელოვანი მომატება C-სეგმენტებისა ($p < 0,001$) (Lezhava, 1999).

შესაძლოა ცენტრომერული ჰეტეროქრომატინის ფორმირება განისაზღვრება არა მარტო ცენტრომერებში დნმ-ის სპეციფიკური თანმიმდევრობით, არამედ ისეთი ფაქტორებითაც, როგორებიცაა დნმ-ის მეთილირება და ჰისტონების აცეტილირების სპეციფიკური სახე. დნმ-ის ჰიპომეთილირება და ქრომოსომული დნმ-ის სტერეოვარიანტები უკავშირდებიან სპეციფიკურ ცილებს ან ცილათა კომპლექსებს, რაც იწვევს ქრომატინის კონდენსაციას (Haaf and Schmid, 2009). ადამიანის 1, 9 და 16 ქრომოსომების პერიცენტრომერული ჰეტეროქრომატინის გამოკვლევებმა გამოავლინა ჰეტეროქრომატინის შიგნით მდებარე „ადრეული“ გენების ხელმისაწვდომობა (Pendina et al., 2001). ჰეტეროქრომატინში მდებარე გენთა აქტივაცია დამოკიდებულია ტრანსკრიფციის ფაქტორის დონეზე (Lundgren et al., 2000).

2.2.4 შვილეულ ქრომატიდაშორისი გაცვლები

შვილეულ ქრომატიდაშორისი გაცვლების (შქგ) ფენომენი მდგომარეობს შვილეულ ქრომატიდებს შორის იზოლოკუსურ გაცვლებში, დუპლექსების აუცილებელი გაერთიანებით. შქგ-ს რაოდენობის განაწილება ქრომოსომებზე სრულიად პროპორციულია მათ შედარებით სიგრძისა და მათი შემადგენელი დნმ-ის რაოდენობისა. შქგ-ს სიხშირე მცირდება სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის განლაგების ადგილებში და ქრომოსომის ჰეტეროქრომატინიზებულ ნაწილებში (Lezhava, 1999, 2001). შქგ-ს ზუსტი მდებარეობის დადგენის მეთოდის გამოყენებით ადამიანის ქრომოსომების ევ- და ჰეტეროქრომატინიზებულ რაიონებში, დადგენილია (Hoo, Perslow, 1979), რომ შქგ ძირითადად ხდება ევქრომატინულ რაიონებში.

ადამიანის ფიზიოლოგიასა და ლიმფოციტარულ კულტურებში მიღებული შედეგები მიუთითებენ ასაკის მატებასთან ერთად შქგ–ს სიხშირის შემცირებაზე (Lezhava and Khmaladze, 1988; Lezhava, 1999; Albanesi et al., 1999; Lezhava, 2001).

დადგენილია, რომ შვილეულ ქრომატიდთა შორის გაცვლები უჯრედებში მიმდინარე სომატური რეკომბინაციის გამოვლენაა. შქგ-ს წარმოქმნა, უცილობლად არის დაკავშირებული ისეთ ფუნდამენტურ გენეტიკურ პროცესებთან, როგორცაა რეპლიკაცია, რეპარაცია. ამ კავშირების გამოვლენა მნიშვნელოვანია არა მარტო შქგ-ს წარმოქმნის მექანიზმებში გარკვევისათვის, არამედ ეუკარიოტებში გენეტიკური მასალის ფუნქციონირების უფრო სრული გაგებისათვისაც.

შქგ-ს მოლეკულური მექანიზმებთან დაკავშირებული ჰიპოთეზები ძირითადად ორ ჯგუფად ერთიანდება: “რეპარაციული” ჰიპოთეზის თანახმად, შქგ არის პოსტრეპლიკაციური რეპარაციის მაჩვენებელი და “რეპლიკაციური”, რომლის თანახმადაც, რეკომბინაციის განსახორციელებლად აუცილებელი გაწყვეტები დნმ-ში ხდება რეპლიცირებული რეპლიკონების კლასტერების საზღვარზე (Painter, 1980).

ცნობილია, რომ მრავალი მუტაგენი იწვევს შქგს წარმოქმნას, თუმცა განსხვავებული მუტაგენები ინდუცირებენ მათ განსხვავებული ეფექტურობით. ისეთი ძლიერი მუტაგენი, როგორც მაიონიზებული გამოსხივებაა, გაცვლების სუსტ ინდუქტორს წარმოადგენს, თუმცა ცნობილია, რომ რადიაციის მოქმედებისას ადგილი აქვს დნმ-ს წყვეტებს, რის შედეგადაც ხდება ქრომოსომული აბერაციების ფორმირება. ამდენად, გაუგებარია რადიაციის სუსტი ეფექტურობა შქგ-ს ინდუქციის თვალსაზრისით. მაიონიზებული გამოსხივებისაგან განსხვავებით, ულტრაიისფერი სხივები შქგ-ს ძალზე ეფექტურ ინდუქტორებს წარმოადგენენ (Лазутка, 1990).

მაღალი სიხშირით ინდუცირებენ შქგ-ს მაალკილირებელი ნაერთები, რომლებიც დნმ-ში ძაფთაშორის ჩაკერებებს იწვევენ. არსებობს, აგრეთვე, ისეთ აგენტთა მნიშვნელოვანი ჯგუფი, რომლებიც ზრდიან შქგ-ს სიხშირეს უჯრედის მეტაბოლიზმზე ზემოქმედების გზით, ისე, რომ უშუალოდ არ აზიანებენ გენეტიკურ აპარატს. ამ ჯგუფს მიეკუთვნება ნივთიერებები, რომლებიც აფერხებენ დნმ-ს ძაფის ელონგაციას – შარდოვანა, აფიდიკოლინი და სხვ. დნმ-ს რეპლიკაციის ინჰიბირებას ახდენენ ცილის სინთეზის ინჰიბიტორებიც (მაგ., ციკლოჰექსამიდი). შესაბამისად, ჰისტონების დეფიციტის გამო ფერხდება არა მხოლოდ ელონგაცია, არამედ რეპლიკაციის სხვა მექანიზმებიც.

შქგ-ს ფორმირებაზე მოქმედი აგენტია ცისტამინიც, რომელიც ამცირებს მათ რაოდენობას იმდენად, რამდენადაც ხელს უშლის დნმ-ში ერთძაფიანი წყვეტების წარმოქმნას (Лазутка 1990).

როგორც ლიტერატურაში მიუთითებენ, შქგ-ს მოლეკულური მექანიზმების კვლევისათვის აუცილებელია მათი შესწავლა ინდუქტორებით და მოდიფიკატორებით ზემოქმედების პირობებში. აღინიშნება, რომ გაცვლების პროცესის მოდიფიკატორების ზემოქმედება შემდგომ შესწავლას მოითხოვს, თუმცა დაბეჯითებით შეიძლება ითქვას, რომ ყველა ნივთიერება, რომელიც გავლენას ახდენს

რეპლიკაციაზე, გავლენას ახდენს, აგრეთვე, შქგ-ს ფორმირების პროცესზეც. უჯრედული ციკლის S-ფაზა კრიტიკულ წერტილს წარმოადგენს გაცვლების ფორმირებისათვის. უჯრედების დამუშავება გაცვლების ინდუქტორით შეიძლება მოხდეს უჯრედული ციკლის ნებისმიერ ფაზაში, მაგრამ შქგ-ს ფორმირებისათვის ქრომოსომამ აუცილებლად უნდა გაიაროს S-ფაზა. ნაჩვენებია, რომ გაცვლების საიტების ლოკალიზაცია ქრომოსომის გასწვრივ მჭიდროდ არის დაკავშირებული რეპლიკაციის უბნებთან (რეპლიკონებთან) (Painter, 1980).

დღეისათვის უკვე დადგენილია რეპარაციის ე.წ. პასიური როლი შქგ-ს წარმოქმნაში, რაც იმაში მდგომარეობს, რომ რეპარაციული პროცესების დროს ხდება იმ დაზიანებების მოცილება, რომლებსაც გაცვლების ინდუქციის უნარი აქვთ. ამის სასარგებლოდ მეტყველებს ესპერიმენტები, რომელთა დროსაც დაზიანებების მქონე უჯრედებში ახანგრძლივებდნენ პრესინთეზურ პერიოდს, შესაბამისად, ხდებოდა დაზიანებების რეპარაცია. აღინიშნება, რომ შქგ-ზე რეპარაციის გავლენის დადგენა ყოველთვის არ არის შესაძლებელი, რაც შეიძლება იმით აიხსნას, რომ დაზიანებათა გასწორება საკმაოდ ხანგრძლივი პროცესია. რეპლიკაციამდელმა რეპარაციამაც შეიძლება შეასრულოს აგრეთვე გარკვეული როლი შქგ-ს ფორმირებაში, თუმცა მიდგომები და შედეგები ამ თვალსაზრისით უარღესად წინააღმდეგობრივია. გამოთქმულია ვარაუდი, რომ ექსციზიური რეპარაციის პროცესები შესაძლოა მხოლოდ დამხმარე როლს ასრულებდნენ შქგ-ს ფორმირებაში. მაგ., პიგმენტური ქსეროდერმის (ავადმყოფები დეფექტურნი არიან ექსციზიური რეპარაციის მიმართ) დროს უჯრედები დაზიანებების არარსებობის შემთხვევაში ავლენენ შქგ-ს ნორმალურ დონეს. არ არსებობს კორელაცია ექსციზიური რეპარაციის დონესა და შქგ-ს დონეს შორის. მთლიანობაში აღინიშნება, რომ ინდუცირებული შქგ-ს ეფექტურობა კორელაციაშია მუტაგენის უნართან, მოახდინოს დნმ-ში გრძელი ნაპრალების ინდუქცია, რაც ხორციელდება ან რეპლიკაციის მსვლელობაში, ან ექსციზიური რეპარაციისას, როდესაც რეპარაცია მიმდინარეობს გრძელი მონაკვეთებით (Македонов и Евграфов, 1989). სადღეისოდ ნაჩვენებია, რომ შქგ-ს წარმოქმნა, როგორც ჩანს, არ არის დაკავშირებული ერთმანეთთან მონაკვეთების გაცვლასთან, არამედ ადგილი აქვს ქრომატიდებს შორის სრულ გაცვლებს (Kato, 1987). შემოთავაზებული არის შქგ-ს ფორმირების ისეთი მექანიზმებიც, რომელთაც საფუძვლად უდევთ რეპლიკაციის შემდგომი რეკომბინაციული რეპარაცია (Hagelstrom et al., 2008).

შვილეულ ქრომატიდთა შორის გაცვლის ფორმირებისათვის აუცილებელია დნმ-ს ოთხივე ძაფის მთლიანობის დარღვევა უკვე რეპლიცირებული ქრომოსომის იზოლოკუსში. ეს შეიძლება იყოს სპონტანური ან ინდუცირებული წყვეტები, ნაპრალები ან ბოლომდე არარეპლიცირებული დნმ-ს ძაფები (Kato, 1987).

შეიძლება ითქვას, რომ ვერც ერთი მოწოდებული მოდელი ვერ ხსნის ყველა არსებულ ექსპერიმენტულ მონაცემს. არ არის გამორიცხული, რომ არსებობდეს რამდენიმე მექანიზმი, რომელიც განაპირობებს შქგ-ს წარმოქმნას.

2.3 ქრომატინის მოდიფიკაცია დაბერების პროცესში

უჯრედები გამუდმებით იმყოფებიან ფართო სპექტრის ფიზიკური და ქიმიური ზემოქმედების ქვეშ (ოქსიდაციური სტრესი, რადიაცია და მძიმე მეტალები), რომლებიც იწვევენ ქრომატინისა და დნმ-ს დაზიანებას. ორგანიზმებმა განავითარეს მრავალი დამცველობითი მექანიზმი, რათა გაუმკლავდნენ ამ ენდოგენურ და ეგზოგენურ დამაზიანებელ ფაქტორებს. ამ დამცველობითი გზების ეფექტურობა მცირდება ორგანიზმის ზრდასთან ერთად. ამდენად, დაბერება შეიძლება განისაზღვროს როგორც უჯრედული დარღვევების წარმატებული რეპარაციის შესაძლებლობის დაქვეითება.

უჯრედული დაზიანებების ერთ-ერთი მთავარი წყარო არის დნმ-ს და ქრომატინის დაზიანება. დნმ-ს დაზიანების საწინააღმდეგოდ მოქმედებისათვის უჯრედებს გააჩნიათ დნმ-ს დარღვევაზე პასუხისმგებელი (DDR) ცილების კომპლექსი, რომელსაც აქვს უნარი აღმოაჩინოს დნმ-ს დაზიანება და შემდეგ გააძლიეროს სასიგნალო კასკადი. იგი თავის მხრივ განაპირობებს უჯრედული ციკლის გაჩერებას და დნმ-ს რეპარაციას, ან აპოპტოზს, რომლის მეშვეობითაც ელიმინირდება დაზიანებული უჯრედები (Misteli, Soutoglou, 2009). დნმ-ს დარღვევაზე პასუხისმგებელი ცილების მნიშვნელობა გენომის ნორმაში შენარჩუნებისათვის და დაბერების პროცესი კარგად არის გამოხატული ნაადრევი დაბერების ფენოტიპის თავგებისთვის, რომელთაც არ გააჩნიათ დნმ-ს რეპარაციის მთავარი ფაქტორები (Lombard et al., 2005). ვერნერის დნმ-ჰელიკაზას მუტაცია, რომელიც აუცილებელია დნმ-ს რეპლიკაციისათვის და ტელომერებისათვის, იწვევს ნაადრევი დაბერების - ვერნერის სინდრომს. ნუკლეოტიდების ექსციზიური რეპარაციის კომპონენტები XPC, ERCC6, ERCC8 და ERCC1/XPF კომპლექსი, რომლებიც ჩართულია დნმ-ს ჯაჭვთაშორისი ჩაკერების რეპარაციაში, მუტირებულია კოკეინის სინდრომისა და ტრიქოთიოდისტროფიის დროს (ნაადრევი დაბერების დაავადებები) (Andressoo et al., 2006).

დნმ-ს დარღვევების რეპარაცია, ისევე როგორც ყველა მთავარი ბირთვული პროცესები, როგორცაა დნმ-ს რეპლიკაცია და ტრანსკრიპცია, ქრომატინის ფუნქციონირებაზე არის დამოკიდებული (Groth et al., 2007; Li et al., 2007).

ქრომოსომათა კონდენსაციის ხარისხს განსაზღვრავს დეხოქსირიბონუკლეინის მჟავას (დნმ) კავშირი ჰისტონების ოქტამერების მრავალკომპონენტთან სისტემებთან, არაჰისტონური ცილების ჰეტეროგენულ მოლეკულებთან, მეტალთა იონებთან, სხვადასხვა იონური ძალის პოლიანიონებთან და სხვა. 10 ნმ დიამეტრის მქონე დნმ-ის ფიბრილები დისკრეტული ნუკლეოსომებისაგან შედგება, რომელთა ფორმირებას განაპირობებს დნმ-ს მოლეკულებთან დაკავშირებული ოქტამერებად წარმოდგენილი ჰისტონები (Kornberg, 1992; Felsenfeld, 1996). ცილებთან და ბირთვულ მატრიქსთან დაკავშირებულია ტრანსკრიპციის პროცესში მონაწილე დნმ-ის მარყუქები, რომელთა ფუნქციონირება კოორდინირებულია - მარყუქი იმყოფება აქტიურ ან არააქტიურ მდგომარეობაში (Hancock and Hughes, 1982).

ტრანსკრიფციის დროს ყველაზე ძლიერი ტრანსკრიბადი რაიონები თავისუფალია ნუკლეოსომებისაგან, მაშინ, როდესაც არატრანსკრიბადი უბნები ინარჩუნებენ „მძივისმაგვარ“ ნუკლეოსომურ სტრუქტურას. ტრანსკრიბადი უბნები ნუკლეოსომურ სტრუქტურას აღიდგენენ ტრანსკრიფციის დამთავრებისთანავე. ნუკლეაზებისადმი მგრძობელობით განსხვავებული ბირთვული დნმ-ს ორი ფრაქციის შესწავლისას აღმოჩნდა, რომ ი-რნმ ჰიბრიდი იზრდებოდა ნუკლეაზებისადმი მგრძობიარე (ნუკლეოსომებისაგან თავისუფალ) ფრაქციასთან, ე.ი. ტრანსკრიბადი უბნები არ შეიცავდნენ ნუკლეოსომებს. შესაბამისად, აქტივაცია (მდგომარეობა, როდესაც ქრომატინი არ შეიცავს ნუკლეოსომებს დეკონდენსაციის გამო) და ინაქტივაცია (ქრომატინი შეიცავს ნუკლეოსომებს - კონდენსირებულია) ხორციელდება შექცევადი გადასვლით ერთი მდგომარეობიდან მეორეში.

ჰისტონთა ოქტამერების სტაბილიზაცია უზრუნველყოფილია სხვადასხვა ძალებით - წყალბადური, ჰიდროფობური და იონური ბმებით. შესაბამისად, გარემოს პარამეტრების ცვლილებას (როგორცაა იონური ძალები, pH, ტემპერატურა და სხვ.) თან სდევს ჰისტონური კომპლექსების სტრუქტურის შეცვლა.

ქრომატინის არაჰისტონური ცილები წარმოადგენენ ჰეტეროგენულ მოლეკულებს, რომელთა სინთეზი მიმდინარეობს მთელი უჯრედული ციკლის განმავლობაში. ისინი ექვემდებარებიან პოსტსინთეზურ მოდიფიკაციებს, ფოსფორილირებას, აცეტილირებას.

ჰეტეროქრომატინსა და ევქრომატინს აქვთ მათი ჰისტონების განსხვავებული პოსტ-ტრანსლაციური მოდიფიკაცია და უკავშირდებიან ქრომატინთან დაკავშირებული ცილების განსხვავებულ ნაკრებებს. მაგალითად, ჰეტეროქრომატინის ჰისტონები, როგორც წესი, რჩებიან ჰიპოაცეტილირებულნი, ტრანსკრიპციის დათრგუნვის მიზნით (Tse et al., 1998). ამის საპირისპიროდ, ევქრომატინს აქვს ჰიპერაცეტილირების ტენდენცია, უფრო მეტად გახსნილი და აქტიური ქრომატინული სტრუქტურა. ჰეტეროქრომატინში H3 ჰისტონის 9-ე ლიზინი არა მხოლოდ ჰიპოაცეტილირებულია, არამედ ხშირად მეთილირებულია და ქმნის H3K9Me. ეს წარმოქმნის ჰეტეროქრომატინული ცილა-1 (HP1) α , β და γ -სთვის დამაკავშირებელ საიტს (Lachner et al., 2001; Nielsen et al., 2001).

ნუკლეოსომური ჰისტონები მოდიფიცირებულია პოსტ-ტრანსლაციური მოდიფიკაციის (PTM) კომპლექსური ფორმით, როგორებიცაა აცეტილირება, მეთილირება და უბიქვინირება. ეს პროცესები მიმდინარეობს იმისათვის, რომ მართონ ქრომატინში არაჰისტონური ცილების დინამიკური ნაკრები და ამით არეგულირონ მათი ფუნქციები (Kouzarides, 2007). გარდა ამისა, ქრომატინის სტრუქტურა და ფუნქცია ასევე დამოკიდებულია თავის მხრივ დნმ-ს მეთილირების სტატუსზე და მრავალრიცხოვან ატფ-დამოკიდებულ რემოდელირების ფაქტორებზე. როგორც ქრომატინის კომპაქტიზაციის დონე, და შესაბამისად დნმ-ს ხელმისაწვდომობა, ასევე ქრომატინთან დაკავშირებული ფაქტორების ნაკრები განაპირობებენ ტრანსკრიფციის, დნმ-ს რეპლიკაციისა და დნმ-ს დარღვევათა

რეპარაციის შედეგს. მთელი ეს მოდიფიკაციები და ქრომატინის სტრუქტურა, ამასთანავე მისი ინფორმაციული შემცველობა, გადაეცემა უჯრედული დაყოფის მრავალი ციკლის განმავლობაში, რაც წარმოადგენს ეპიგენეტიკურ მეხსიერებას (Probst et al., 2009).

კარგად არის შესწავლილი HMG ჯგუფის ცილები: HMG-1, HMG-2, HMG-14, HMG-17. ქრომატინში ლიზინის დადებითად დამუხტული ნაშთები უზრუნველყოფენ დნმ-თან HMG-1 და HMG-2 ცილების სტაბილურ კავშირს. არსებობს მოსაზრება, რომ ნუკლეოსომაში ჰისტონების ურთიერთმოქმედებას უზრუნველყოფს სწორედ HMG-1 (Isackson et al., 1981). HMG-1 და HMG-2-ს შეუძლიათ შეცვალონ დნმ-ს ზესპირალიზებული მდგომარეობა და ამით მნიშვნელოვანი როლი ითამაშონ ქრომატინის სტრუქტურულ და ფუნქციურ გარდაქმნებში, შესაბამისად, ტრანსკრიფციის პროცესებში.

უშუალოდ ქრომატინთან არიან ასოცირებული არაჰისტონური ცილები HMG-14 და HMG-17, რამდენადაც ისინი ტრანსკრიპციულად აქტიური ქრომატინის ორგანიზაციის აუცილებელ კომპონენტს წარმოადგენენ (Cartwright, 1982). აღმოჩნდა, რომ HMG-14 და HMG-17 ცილები ქრომატინის ზენუკლეოსომურ სტრუქტურას არ ცვლიან, ისინი მოქმედებენ უშუალოდ ნუკლეოსომებზე.

აქტიური და არააქტიური ქრომატინის სტრუქტურა განსხვავებულია და ეს განსხვავება ვლინდება ქრომატინის ორგანიზაციის სხვადასხვა დონეზე: აქტიური ქრომატინისა და სპეციფიკური უჯრედული სტრუქტურების კავშირში, ნუკლეოსომების განსაკუთრებულ განლაგებაში, მაკრომოლეკულების ფრაქციულ შემადგენლობასა და აქტიური ქრომატინის კონფორმაციულ თავისებურებებში. ქრომატინის ხსნადობა და მისი კონფორმაციული ცვლილებები დამოკიდებულია ერთ- და ორვალენტიანი იონების კონცენტრაციაზე. მეტალთა იონები მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ ქრომოსომის არქიტექტურასა და ქრომატინის კონდენსაციაში, მონაწილეობენ დეზოქსირიბონუკლეოპროტეინების ფიბრილების კომპაქტიზაციისას დნმ-სა და ქრომატინის ცილების ურთიერთდაკავშირებაში (Kaufmann and Wilson, 1990; Henikoff and Smith, 2015).

ეკვარიოტა ქრომოსომები (ქრომატინი) ორგანიზებულია ფუნქციურ-სტრუქტურულ დომენებად, რაც უზრუნველყოფს ერთმანეთთან დაკავშირებული პროცესების – გენეტიკურ აქტივობის, რეპროდუქციის დროისა და კონდენსაციის ხარისხის რეგულაციას.

ქრომოსომების სტრუქტურული კონდენსაცია პირდაპირ კორელაციაშია ფუნქციონალურ ჰეტეროგენობასთან. მჭიდროდ კონდენსირებული – ქრომოსომათა ჰეტეროქრომატინული (ჰეტეროქრომატინი განისაზღვრება, როგორც ქრომოსომის კონდენსირებული ნაწილი, დნმ რომელიც წარმოქმნილია მაღალი და საშუალო სიხშირის განმეორებადი, ხშირად სატელიტური, არატრანსკრიბირებადი ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობებით) და ჰეტეროქრომატინიზირებული (სტრუქტურული და ფაკულტატური ჰეტეროქრომატინი კონდენსირებულ

მდგომარეობაში, რის შედეგადაც მასში არსებული გენების აქტივობა დათრგუნულია) რაიონები გენეტიკურად ინაქტივირებულია, გვიან რეპლიცირებენ. ქრომოსომათა დეკონდენსირებული (ეჟქრომატინული) რაიონები კი აქტიურად ფუნქციონირებენ (Прокофьева-Бельговская, 1986). დაბერების პროცესში ჰეტეროქრომატინული რაიონების ქცევამ შესაძლოა მნიშვნელოვანი გავლენა მოახდინოს ქრომოსომათა ფუნქციონირებაზე, რასაც ხშირად თან სდევს მნიშვნელოვანი ცვლილებები ონტოგენეზში.

დადგენილია, რომ დაბერებისას მიმდინარეობს ჰეტეროქრომატინიზაციის პროგრესირებადი პროცესი – ქრომოსომების ეუქრომატინული და ჰეტეროქრომატინული რაიონების კონდენსაცია, რომელსაც თან ახლავს გენთა ინაქტივაცია (Vaquero et al., 2003; Lezhava, 1984, 2001, 2006).

ჰეტეროქრომატინიზაცია, რომელიც პროგრესულად იზრდება დაბერებისას, იწვევს წარსულში აქტიურად ფუნქციონირებადი სტრუქტურული გენების ინაქტივაციას. ამის გამო ხდება უჯრედული სისტემების ნორმალური მეტაბოლური პროცესების ბლოკირება, მრავალი სპეციფიური ფერმენტის უკმარისობა, რაც ადრე თუ გვიან იწვევს დაბერებასთან დაკავშირებული დაავადების განვითარებას. ამასთან დაკავშირებით აღსანიშნავია, რომ ქრომოსომათა ჰეტეროქრომატინიზებულ რაიონებს ახასიათებთ ლაბილური ციკლი და შექცევადობა. მრავალი ქიმიურ ნაერთს და ასევე ჰორმონებს (Kanungo, 1984; Lezhava and Bablishvili, 2003; Khavinson et al., 2002, 2003) შეუძლიათ გამოიწვიონ მათი დეჰეტეროქრომატინიზაცია – ინაქტივირებულ გენთა ხელახალი აქტივაცია, რაც სახავს მთელი რიგი დაბერებასთან დაკავშირებული დაავადებების მიზანმართული მკურნალობის პერსპექტივებს. დადგენილია, რომ მოკლე პეპტიდები ავლენენ გეროპროტექტორულ ეფექტს გენთა ექსპრესიის ცვლილების გზით, კონდენსირებულ უბნებში არსებულ გენთა გამონთავისუფლებას (Khavinson et al., 2002; 2003; Kuznik et al., 2013; Jokhadze et al., 2014; Lezhava et al., 2004, 2015).

გამოკვლევებმა აჩვენა, რომ გენომის დნმ-ის უნიკალური ან განმეორებადი თანმიმდევრობების შემცველი ცალკეული უბნები განსხვავებულ გავლენას ახდენენ უჯრედული ციკლის რეგულატორების მოქმედებაზე. გუაჩი და თანაავტორები (Guacchi et al., 1994) სწავლობდნენ საფუარში უჯრედული ციკლის რეგულატორების P-34 კინაზებისა და ციკლინების ფუნქციებს ფლორესცენტული *in situ* ჰიბრიდიზაციის (FISH) მეთოდის გამოყენებით. აღმოჩნდა, რომ გვიანი მიტოზის სტადიაზე დაყოვნებულ უჯრედებში, რაც გამოწვეული იყო CDK-15 მუტაციით, უნიკალური დნმ-ის შემცველი ქრომოსომული უბნები იმყოფებოდნენ დეკონდენსირებულ მდგომარეობაში, იმ დროს, როცა განმეორებადი დნმ-ის შემცველი სეგმენტები კონდენსირებული ქრომატინით იყო წარმოდგენილი.

აქტიური ქრომატინი ხასიათდება ნუკლეაზების მიმართ გაზრდილი მგრძობელობით, ჰისტონების აცეტილირების მაღალი ხარისხით და არაჰისტონური

ცილების - HMG-14 და HMG-17-ის მომატებული შემცველობით (Odenheimer et al., 2005; Amen et al., 2007).

დადგენილია, რომ გენის ექსპრესია კორელაციაშია მეთილირების ხარისხთან. ჰიპერმეთილირებისას გენთა ექსპრესიის ეფექტურობა კლებულობს და პირიქით, მეთილირების დაბალი ხარისხი მიუთითებს გენთა აქტიურ ფუნქციონირებაზე. დნმ-ის მეთილირება გავლენას ახდენს აქტიური ქრომატინის სხვადასხვა მახასიათებლებზე. ეს ცვლილება შეიძლება აისახოს ჰისტონებთან და არაჰისტონურ HMG ცილებთან დაკავშირების ეფექტურობაში. დემეთილირების გამომწვევი აგენტები, როგორცაა 5-აზაციტიდინი (5-azacytidine) და 5-აზადეოქსიციტიდინი (5-azadeoxycytidine), ძლიერ ინჰიბირებენ ძუძუმწოვრებში კონსტიტუციური ჰეტეროქრომატინის კონდენსაციას, რიგ შემთხვევაში კი იწვევენ ჰეტეროქრომატინული უბნების დეკონდენსაციას (De capoa et al., 1996). ადამიანის უჯრედებში მათი მოქმედება ვლინდება 1-ელ, მე-9, მე-16 და Y ქრომოსომებზე (Ott et al., 1998; Haaf, Schmid, 2009). 5-აზაციტიდინის უნარი, გამოიწვიოს დეკონდენსაცია, კორელაციაშია სუმარული დნმ-ის ჰიპომეთილირებასთან. ამასთან, ის არ ახდენს გავლენას დნმ-ის ჯაჭვში ფუძეთა ნორმალურ დაწყვილებაზე. მისგან განსხვავებით, 5-იოდოდეოქსიურიდინი (5-iododeoxycytidine, -IdU), სხვა არადემეთილირებადი ფუძის ანალოგები და დნმ-ის AT-სპეციფიკური ლიგანდები, მათ შორის ბერენილი (berenili), სპეციფიკურად მოქმედებენ კონსტიტუციური ჰეტეროქრომატინის AT-მდიდარ უბნებზე. აღნიშნული დემეთილირების გამომწვევი აგენტი არ იწვევს X-ქრომოსომის კონდენსაციის ინაქტივაციას (Haaf, Schmid, 2009). ავტორები ფიქრობენ, რომ დეკონდენსაციის ორივე მექანიზმი კავშირშია სპეციფიკურ დნმ- ცილის კომპლექსთან ან მულტიპროტეინულ კომპლექსთან, რომელიც პასუხისმგებელია ქრომატინის კონდენსაციაზე.

ნიკელის ზემოქმედება უშუალოდ დაკავშირებულია ქრომატინის კონდენსაციასთან, რაც თავის მხრივ, იწვევს gpt გენის ინაქტივაციას, თავვებზე ჩატარებულ ექსპერიმენტებში. ნაჩვენებია აგრეთვე ნიკელის იონების მაინჰიბირებელი მოქმედება ფერმენტ 5-მეთილტრანსფერაზას აქტივობაზე, რის შედეგადაც ჩინური ზაზუნას (G12 ხაზი) უჯრედებში ხდებოდა ტრანსგენ gpt-ს დნმ-ის მეთილირება. In vivo სისტემაში ფერმენტის ინჰიბირება დროებით ხასიათს ატარებს და ნიკელით ზემოქმედებიდან გარკვეული პერიოდის შემდეგ ფერმენტი კვლავ აქტიურდება (Sutherland, 2001).

ქრომატინის დარღვევები დაკავშირებულია დაბერებასთან. პირველი მინიშნებები ქრომატინსა და დაბერებას შორის შესაძლო კავშირის შესახებ მიღებულია საფუარას - *S. cerevisiae* შესწავლისას, სადაც აღმოჩენილი იყო NADH -დამოკიდებული Sir2 ჰისტონდეაცეტილაზას მნიშვნელობა ჰეტეროქრომატინის გამოსავლენად ტელომერებზე, რიბოსომულ დნმ-სა და HMR ლოკუსებში, რომელთა მიერ კოდირებული ფაქტორებიც საჭიროა საფუარას სპორაციისათვის (Imai et al., 2000). ხანგრძლივი ზრდის შემდეგ, რაც უთანაბრდება საფუარის დაბერებას, რ-დნმ-ს

განმეორებადი ხვეულები ჰიპერ-რეკომბინირებენ და წარმოქმნიან დნმ-ს ექსტრაქრომოსომულ რგოლებს (ERC), რაც მიუთითებს ქრომატინის გაზრდილ ფრაგილურობაზე (Sinclair et al., 1997). ჰეტეროქრომატინის ფორმირება რ-დნმ-ს საიტებში Sir2-ის ჰიპერექსპრესიით, ამცირებს ჰიპერ-რეკომბინაციას და ახანგრძლივებს სიცოცხლეს, რასაც დაბერებისას წვლილი შეაქვს ქრომატინის სტრუქტურაში (Kaeberlein et al., 1999). ჭიებსა და ბუზებში ჩატარებული ექსპერიმენტებით ნაჩვენებია იქნა Sirt1-ის ანალოგიური როლი სიცოცხლის გახანგრძლივებაში, რომელიც ამ ორგანიზმებში საფუარას Sir2-ის ანალოგს წარმოადგენდა (Tissenbaum et al., 2001; Rogina et al., 2004; Vaquero, 2009). ამასთანავე, Sirt1-ის როლი უმაღლესი ეუკარიოტების სიცოცხლის გახანგრძლივებაში არ შეიძლება მოიცავდეს მხოლოდ ჰეტეროქრომატინის არსებობას, რადგან ამ შემთხვევაში მოლეკულური მექანიზმები, როგორც ჩანს, არ არის დაკავშირებული ERC სტაბილიზაციასთან (Guarente et al., 2005). ამასთანავე, ანალიზი რთულდება იმით, რომ ძუძუმწოვრებში SIRT1 დეაქტილირება ხდება არაჰისტონური, დაბერებასთან დაკავშირებული ტრანსკრიფციის ფაქტორების ფართო სპექტრის მიერ, როგორებიცაა p53, HSF1 ტრანსკრიფციის ფაქტორების ოჯახის - FOXO-ს წარმომადგენლები (Luo et al., 2001; Brunet et al., 2004; Westerheide et al., 2009). SIRT1-ის მოქმედების მექანიზმის გარკვევა უმაღლეს ორგანიზმებში, დაბერების პროცესში მისი როლის დადგენის გასაღები იქნება.

არსებობს მრავალი სხვა მითითება დაბერებისას ქრომატინის როლსა და მის შემცველობაზე. გენომის ეპიგენეტიკური მახასიათებლების ცვლილება არის დაბერების ძირითადი ფაქტორი.

2.4 ქრომოსომათა სტრუქტურული ცვლილებები ასაკთან დაკავშირებით

ადამიანის სომატურ უჯრედებში ქრომოსომული აბერაციების ფორმირების კანონზომიერი სპონტანური პროცესის შესწავლა დიდ ყურადღებას იპყრობს იმ ფაქტორებთან კავშირში, რომლებიც გავლენას ახდენენ ინდუცირებული მუტაგენეზის ინტენსივობაზე.

სპონტანური ქრომოსომული აბერაციები ფორმირდება იმავე აგენტების გავლენით, რომელთა ზემოქმედებაც იწვევს ქრომოსომათა ინდუცირებულ მუტაციებს. მათ შორისაა ქიმიური, რადიაციული, ვირუსული აგენტები, რომლებიც ჩვეულებრივ არსებობს გარემომცველ გარემოში ან წარმოიქმნება მეტაბოლიზმის პროცესში.

ლიტერატურული მონაცემებიდან გამომდინარე შესაძლოა ვივარაუდოთ, რომ აბერანტული ქრომოსომების მქონე უჯრედების სიხშირე საშუალო ასაკის ინდივიდთა უჯრედულ კულტურებში ძირითადად ვარირებს 0,03% – 2,5% –მდე (Lezhava, 1999; Bukvic et al., 2001; Tawn and Whitehouse, 2001).

ქრომოსომათა სტრუქტურული მუტაციები შესაძლოა იყოს ერთი ან რამდენიმე გაწყვეტისა და შეერთების შედეგი, ბალანსირებულ მდგომარეობაში გადაეცემა (ან არ გადაეცემა) მემკვიდრეობით.

ჩატარებული კვლევების (Lezhava, 1999) შედეგებმა 20–დან 48 წლამდე ასაკის ინდივიდებში (23 ქალი და 25 კაცი) აჩვენა, რომ აბერანტული ქრომოსომების შემცველი უჯრედების რაოდენობა ორივე სქესის ინდივიდებში საშუალოდ შეადგენდა $1,26 \pm 0,47$ %-ს ქალებში და $1,57 \pm 0,51$ %-ს კაცებში. ქრომოსომული აბერაციების ტიპების ანალიზით ნაჩვენებია, რომ საშუალო ასაკის ინდივიდთა უჯრედებში წარმოიქმნება როგორც ქრომოსომული, ასევე ქრომატინული ტიპის აბერაციები. ქრომოსომული დარღვევების ძირითად ფორმას წარმოადგენს ერთეული და წყვილი ფრაგმენტები.

მრავალრიცხოვანი ლიტერატურული მონაცემები მოწმობენ დაბერების პროცესში აბერანტულ ქრომოსომიანი უჯრედების რაოდენობის მომატებას (Bukvic et al., 2001; Tawn and Whitehouse, 2001; Vorobtsova et al., 2001; Lezhava, 1999, 2006), რომელიც მამაკაცებში შეადგენს $3,56 \pm 0,52$, ხოლო ქალებში - $4,69 \pm 0,64$. ქრომოსომული დარღვევების ძირითად ტიპად ასევე გვევლინება ერთეული და წყვილი ფრაგმენტები, გაცილებით იშვიათად ვლინდება დიცენტრული ქრომოსომები, ქრომოსომული და ქრომატიდული ტრანსლოკაციები და ატიპიური ქრომოსომები.

2.5 ათეროსკლეროზი, როგორც ასაკთან ასოცირებული პათოლოგია და მისი გენეტიკური ასპექტები

ათეროსკლეროზი (ას) ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებული მულტიფაქტორული დაავადებაა, რომლის განვითარებაში მონაწილეობს როგორც გარემო, ისე გენეტიკური ფაქტორები (Lusis, 2004). დაავადება უფრო მეტად შუახნის და ასაკოვან ადამიანებს ემართებათ. განსაკუთრებით აღსანიშნავია ასაკის (35 წლის ზემოთ) და სტრესის თანხვედრა, როგორც რისკ-ფაქტორი. დიდი მნიშვნელობა აქვს მემკვიდრეობით ფაქტორს. ათეროსკლეროზის განვითარებას ხელს უწყობს ზოგიერთი დაავადებაც, მათ შორის შაქრიანი დიაბეტი, სიმსუქნე, პოდაგრა, ნალველკენჭოვანი დაავადება (Lusis, 2004; Stary, 1992).

ათეროსკლეროზი ყველა გეოგრაფიულ ზონაშია გავრცელებული. უნდა დინიშნოს, რომ იგი უფრო ხშირია ზომიერი ჰავისა და ჩრდილოეთის განვითარებულ ქვეყნებში. ათეროსკლეროზის განვითარებაში დიდ როლს ასრულებს ფიზიკური აქტივობის შემცირება, ფსიქოემოციური დაძაბულობა, ნერვული სისტემის დარღვევა, ხმაური და სხვა (Zdravkovic et al., 2002; Collaku et al., 2004).

2.5.1 ათეროსკლეროზის პათოგენეზი

ათეროსკლეროზი სისხლძარღვის კედელში აპოპროტეინ-B შემცველი ლიპოპროტეინების დაჟანგვის საპასუხოდ განვითარებული ანთებითი რეაქციის შედეგია. არტერიული სისხლძარღვის კედელში ApoB-ს ათეროგენული ლიპოპროტეინების შეღწევის ინტენსივობას სისხლში ამ ლიპოპროტეინების კონცენტრაცია და მათი ზომა განსაზღვრავს. რაც უფრო მცირეა ApoB-ის შემცველი ლიპოპროტეინების ზომა და მეტია მისი კონცენტრაცია სისხლში, მით მეტად

აგრესიულია ის ათეროგენეზის თვალსაზრისით (Horvath and Ganey, 2001). ApoB-ის შემცველ ლიპოპროტეინებს შორის გაცილებით მცირე ზომის ნაწილაკებია დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინები (დსლპ), რომელთა კონცენტრაცია სისხლში დაახლოებით ცხრაჯერ აღემატება იმავე ApoB-ის შემცველ ძალიან დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების (ძდსლპ-ს) კონცენტრაციას. ყოველივე აღნიშნული დსლპ-ს გაცილებით აგრესიულ ათეროგენულ ბუნებას და შესაბამისად, არტერიული სისხლძარღვის ათეროსკლეროზულ დაზიანებაში მათ მნიშვნელოვან პათოგენეზურ როლს განაპირობებს (Chaves et al., 1996; Heath et al., 2000; Salazar et al., 2000).

არტერიული სისხლძარღვის კედელში ApoB-ის შემცველი ლიპოპროტეინების დაჟანგვის საპასუხოდ განვითარებული თანმიმდევრული ჯაჭვური რეაქცია საბოლოოდ ათეროსკლეროზული ფოლაქის წარმოქმნით მთავრდება.

ათეროგენეზი იწყება სუბენდოთელურ სივრცეში პენეტრირებული დსლპ-ის ქოლესტერინის დაჟანგვით და ამის საპასუხოდ განვითარებული ანთებითი რეაქციით. დაჟანგვის პროცესში მონაწილეობენ ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალები, რასაც საბოლოოდ დსლპ-ის ნაწილაკების და მათი მემბრანის მნიშვნელოვანი სტრუქტურული ძვრები მოსდევს. დაჟანგვის შედეგად წარმოქმნილი დსლპ-ის შეცვლილი ნაწილაკები ანტიგენური თვისების მატარებელია და ორგანიზმში მოხვედრილი ნებისმიერი სხვა სახის ანტიგენის ანალოგიურად ქემოტაქსისური ფაქტორების და ადჰეზიური მოლეკულების გამოთავისუფლებას განაპირობებენ (Adachi and Tsujimoto, 2006). ქემოტაქსისური ფაქტორები (მონოციტების ქემოტაქსისური ცილა-1, მაკროფაგების მასტიმულირებელი ფაქტორი) და ადჰეზიური მოლეკულები (I-CAM – უჯრედშიდა ადჰეზიური მოლეკულა, V-CAM - სისხლძარღვოვანი ადჰეზიური მოლეკულა) ენდოთელიუმის ზედაპირზე სისხლში მოცირკულირე მონოციტების მობილიზაციას, ადჰეზიას და სისხლძარღვის კედლის სუბენდოთელურ შრეში მათ პენეტრაციას განაპირობებენ. სუბენდოთელურ შრეში პენეტრირებული მოლეკულები მაკროფაგად ტრანსფორმირდებიან, დსლპ-ის შთანთქმას და “ქაფიანი” უჯრედების წარმოქმნაში მონაწილეობენ. დსლპ-ის დაჟანგული მოდიფიცირებული ნაწილაკების ამოცნობა მაკროფაგის ზედაპირზე არსებული CD36 რეცეპტორის მეშვეობით ხორციელდება. რაც უფრო მეტი დსლპ-ის ნაწილაკი განიცდის მაკროფაგებში ინკორპორირებას, მით მეტად ემსგავსებიან ეს უჯრედები ქაფს. სწორედ აქედან წარმოდგება სახელწოდება “ქაფიანი უჯრედები”. “ქაფიანი უჯრედების” სიმრავლე სისხლძარღვის კედელში წარმოქმნის ცხიმოვან ჩანართებს, რომელთა ვიზუალიზაცია მიკროსკოპის გარეშე შესაძლებელია. ათეროსკლეროზული ფოლაქის წარმოქმნა და ათეროგენეზის შემდეგი ეტაპი იწყება ცხიმოვანი ჩანართების შემოგარსვით ფიბროზული კაფსულით.

სისხლძარღვის კედელზე ნებისმიერი ზემოქმედება შესაძლებელია ფიბროზული კაფსულის რუპტურით და სისხლძარღვის სანათურში ცხიმოვანი გროვის ჩაღვრით დამთავრდეს. ცხიმოვანი გროვა, რომელიც ქსოვილოვანი ფაქტორების გამოთავისუფლების და თრომბოზის წარმოქმნის მაპროვოცირებელ ფაქტორად

იქცევა, მწვავე კორონარული სინდრომის განვითარებას განაპირობებს (Samani et al., 2005).

მრავალრიცხოვანი გამოკვლევებით დადგენილია, რომ ათეროსკლეროზის განვითარებაში თანაბრად მონაწილეობენ როგორც ლიპიდური ცვლის მაკონტროლებელი გენეტიკური ფაქტორები, ასევე ისეთი ფაქტორებიც, რომლებიც ლიპიდურ ცვლასთან არ არიან დაკავშირებული.

ათეროსკლეროზს ძირითადად განიხილავენ როგორც მემკვიდრული წინასწარგანწყობის დაავადებას. მრავალი გენია უკვე ცნობილი, რომელთა მუტაციაც დაკავშირებულია ათეროსკლეროზის განვითარებასთან. ეს გენები მოთავსებულია ადამიანის თითქმის ყველა ქრომოსომაზე (Biros et al., 2008). მაგალითისათვის, მხოლოდ პირველ ქრომოსომაზე აღწერილია ათეროსკლეროზთან ასოცირებული 25 გენი (Biros et al., 2008; Иванова, 2012). უნდა აღინიშნოს, რომ გვხვდება მონოგენური ფორმებიც, რომლებიც ძირითადად ჰიპერლიპოპროტეიდემიის მემკვიდრულ ფორმებს წარმოადგენენ და რომლებიც განაპირობებენ ათეროსკლეროზის განვითარებას ადრეულ ასაკში.

ოჯახური ჰიპერქოლესტერინემიის დროს დსლპ რეცეპტორის გენის მუტაციების გარდა, დარღვევები აღმოჩენილია კიდევ სამ სხვა გენში, რომლებიც ასევე იწვევენ ოჯახურ ჰიპერქოლესტერინემიას. აღსანიშნავია, რომ ოთხივე გენი, ასოცირებულია ოჯახურ ჰიპერქოლესტერინემიასთან, იწვევენ დსლპ-ს რეცეპტორის ან ლიგანდის ცილოვანი კომპონენტის, აპოპროტეინ B-100-ის ფუნქციის დათრგუნვას ან დონის შემცირებას უჯრედის ზედაპირზე. მიუხედავად იმისა, რომ PCSK9 პროტეაზას გენში მუტაცია იწვევს ჰიპერქოლესტერინემიას, PCSK9 უფრო მეტად იმითაა საინტერესო, რომ მისი რამდენიმე გავრცელებული ვარიანტი დაბლა სწევს პლაზმის ქოლესტერინის დონეს პოპულაციაში (Goldstein and Brown, 1989; Horvath and Ganey, 2001; Lusic et al., 2004).

დსლპ რეცეპტორის გენში 700-ზე მეტი სხვადასხვა მუტაციაა იდენტიფიცირებული. მუტანტური ალელების უმრავლესობა ერთნუკლეოტიდიანი ჩანაცვლებებით ან დელეციებით არის წარმოქმნილი (Lusic et al., 2004). მუტანტური ალელების შემთხვევაში დსლპ-ის რეცეპტორი ნორმალურად სინთეზირდება, მაგრამ მისი ფუნქცია დაქვეითებულია. სხვა შემთხვევაში მუტაცია შეეხება პოლიპეპტიდებს, რომლებიც განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია რეცეპტორის სუბუჯრედული ლოკალიზაციისათვის. არსებობს ასევე ტრანსპორტ-დეფიციტური მუტაციები, რომლის დროსაც დსლპ-ის რეცეპტორები სინთეზის შემდეგ აკუმულირდება ენდოპლაზმურ ბადეში, ნაცვლად იმისა, რომ ტრანსპორტირდეს გოლჯის კომპლექსში. მიაჩნიათ, რომ ასეთი ალელებით კოდირებული ცილები ნორმალურ კონფიგურაციას ვერ იღებს, რაც აბრკოლებს ენდოპლაზმური ბადიდან მათ გადასვლას.

ათეროსკლეროზის შედეგად განვითარებული კორონარული დაავადება აშშ – ში ყოველწლიურად იწვევს 450 000-მდე ადამიანის სიკვდილს. განვითარებულ ქვეყნებში

ის არის ავადობის და სიკვდილიანობის უმთავრესი მიზეზი. ათეროსკლეროზით განპირობებული კორონალური არტერიული დაავადება ყოველწლიურად მიოკარდიუმის ინფარქტის 15000000-მდე და მწვავე მიოკარდიული ინფარქტით განპირობებული 200000-ზე მეტი სიკვდილის შემთხვევის ძირითადი გამომწვევია. კორონალური არტერიის ათეროსკლეროზული დაავადების განვითარებაში არის მრავალი სტადია, რომლის დროსაც, გენეტიკურმა ფაქტორებმა შეიძლება ინდივიდს კორონალური დაავადების მიმართ წინასწარგანწყობა შესძინოს, ან პირიქით (Samani et al., 2005; Sie et al., 2006).

ათეროსკლეროზის დროს, ისევე როგორც სხვა პათოლოგიათა შემთხვევაში, რომლებიც მემკვიდრული წინასწარგანწყობის მულტიფაქტორულ დაავადებებს მიეკუთვნებიან, რომელთა ფორმირებაშიც გარკვეული გენების როლი კარგად არის დადასტურებული და გარად ამისა, ოჯახური ანამნეზის მაღალი სიხშირით ხასიათდება, შეინიშნება გენომური-ქრომოსომული არასტაბილობის მაღალი დონე, რაც ლიტერატურული წყაროების მიხედვით ქრომატინის მოდიფიკაციასთან უნდა იყოს დაკავშირებული (Biros et al., 2008).

ლიტერატურაში არის მონაცემები, რომლებიც მემკვიდრული და მემკვიდრული წინასწარგანწყობის დაავადებების შემთხვევაში ცალკეული ქრომოსომების როლზე მიუთითებენ. აქედან გამომდინარე, ერთი მხრივ, მიუთითებენ ამა თუ იმ პათოლოგიასთან ასოცირებული ცალკეული ქრომოსომული მარკერების გამოვლენის აქტუალობაზე, და მეორე მხრივ, ხაზგასმულია გენომის - ქრომატინის მდგომარეობის ცვალებადობის შეფასების აუცილებლობა (Ильинских, 1980; Yasseen and Musavi, 2001; Стбецкий и др., 2002).

როგორც უკვე აღვნიშნეთ, ათეროსკლეროზის განვითარება უპირატესად ხდება ხანდაზმულ ასაკში. ამავდროულად, ნაჩვენებია, რომ ასაკთან ერთად მატულობს გენომური არასტაბილურობაც, რომლის მიზეზსაც გენომის პროგრესირებადი ჰეტეროქრომატინიზაციით განპირობებული ეპიგენეზური ცვლილებები წარმოადგენს (Lezhava, 2006). სიბერის თანმდევი პათოლოგიების განვითარებისას ორგანიზმის დარღვეული ფუნქციების აღდგენა დღევანდელი ცვლილების აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს.

2.6 პეპტიდური ბიორეგულატორები და მათი როლი „დაბერებული“ ორგანიზმის ქრომატინის ფუნქციონირებაში

პეპტიდურ ბიორეგულატორებს აქვთ უნარი აღადგინონ ფუნქციური დარღვევები, შეანელონ პათოლოგიური პროცესების განვითარება, უჯრედული პოპულაციების ნორმალური სტრუქტურული და ფუნქციური ჰომეოსტაზის შენარჩუნებითა და იმუნური სისტემის ჰომეოსტაზის მოლეკულური მექანიზმების რეგულაციის გზით (Хавинсон и Морозов, 2001; Kuznik et al., 2013). ამასთანავე, აქვთ მაღალი სამკურნალო პოტენციალი მათი ბიოლოგიური აქტივობის გამო და ქსოვილ-სპეციფიური მოქმედება (Khavinson et al., 2014).

პეპტიდთა კომპლექსები (რეგულატორული პეპტიდები) გამოყოფილია პრაქტიკულად ყველა ქსოვილიდან. ისინი ახალი თაობის მაღალთერაპიული აქტივობის მქონე სამკურნალო პრეპარატებია, რომელთა მასა არ აღემატება 10 კდ-ს. პეპტიდური ბიორეგულატორები მონაწილეობენ უჯრედული პოპულაციების სტრუქტურული და ფუნქციური ჰომეოსტაზის შენარჩუნებაში (Khavinson et al., 2013).

ბიორეგულატორული პეპტიდები განაპირობებენ ორგანიზმის ძირითადი ფუნქციების ნორმალიზებას, ჰომეოსტაზის და მეტაბოლიზმის გაუმჯობესებას, რაც დადებითად აისახება ორგანიზმის ჯანმრთელობაზე. დარღვეული პეპტიდური რეგულაცია ამცირებს ორგანიზმის მდგრადობას შიდა და გარე დამაზიანებელი ფაქტორების მიმართ, რაც ხელს უწყობს დაბერებას (Kuznik et al., 2013; Khavinson et al., 2014).

მრავალიერარქიული პრინციპის მიუხედავად, ჰომეოსტაზის რეგულაციის ყველა მექანიზმი პრინციპულად ერთიდაიგივე მიზანს ემსახურება – კოორდინირებას უწყვეს უჯრედში ცილის ბიოსინთეზს გენთა ექსპრესიაზე ზემოქმედების გზით.

სინთეზური ბიორეგულატორული პეპტიდები ეფექტური გეროპროტექტორებია. ისინი ამცირებენ დაბერების პროცესის ტემპს და ასაკთან დაკავშირებული პათოლოგიების განვითარების რისკს. გერიატრიაში პეპტიდური რეგულატორების წარმატებული გამოყენება განპირობებულია იმით, რომ დაბერებას თან ახლავს ორგანიზმის მარეგულირებელი პეპტიდების სინთეზის, სეკრეციის და მათი სამიზნე-უჯრედების მგრძობელობის დაქვეითება, რისი საფუძველიც არის პეპტიდებთან დაკავშირებული ენდოკრინული, პარაკრინული და აუტოკრინული მექანიზმების დარღვევა (Khavinson et al., 2003; 2014).

ბიორეგულატორული პეპტიდების მოქმედების შესწავლამ დაადგინა, რომ ისინი ჰომეოსტაზის დარღვევის შემთხვევაში ააქტიურებენ უჯრედის ანტიოქსიდანტურ სისტემებს და მაკრომოლეკულების რეპარაციას (Хавинсон и Морозов, 2001).

ნაჩვენებია პეპტიდური რეგულატორების ანტისიმსივნიური აქტივობა ნეიროენდოკრინული და იმუნური სისტემების მოდულირების გზით (Anisimov, 2002; 2004; 2010). ზოგიერთი ბიორეგულატორული პეპტიდი (ეპიტალამინი, ეპიტალონი) ხასიათდება გამოხატული ანტიოქსიდანტური აქტივობით (Anisimov et al., 2001). ზოგადად ციტოკინებს აქვთ ანტიოქსიდანტურ აქტივობაზე დაფუძნებული გეროპროტექტორული აქტივობა (Khavinson et al., 2013).

პეპტიდური ბიორეგულატორებს აქვთ უნარი შეცვალონ გენომის ფუნქციონალური აქტივობა უჯრედული ციკლის სხვადასხვა სტადიაზე და გავლენა იქონიონ გენთა ექსპრესიაზე, მ-რნმ-ის ტრანსკრიფციულ პროცესზე და ამდენად ცილების ბიოსინთეზზე, უჯრედთა პროლიფერაციისა და დიფერენციაციის პროცესებზე (Морозов и др., 2000; Lezhava et al., 2004).

ბიომარეგულირებელი თერაპია, რომლის საფუძველს წარმოადგენს პეპტიდური ბიორეგულატორების კომპლექსური გამოყენება, თანამედროვე მედიცინის ინტენსიურად განვითარებადი ახალი მიმართულებაა. პეპტიდური ბიორეგულაცია

წარმოადგენს მეცნიერულ მიმართულებას, რომელიც მიმართულია ჰომეოსტაზის მამოძრავებელი მოლეკულური და უჯრედული მექანიზმების კვლევებისაკენ. პეპტიდური ბიორეგულატორული თერაპია შეიძლება განვიხილოთ, როგორც ჰომეოსტატიური მიმართულება მედიცინაში. დღითიდღე იმატეს იმ ადამიანების რიცხვი, რომლებიც ორგანიზმის დარღვეული ფუნქციების აღსადგენად ასეთ თერაპიას მიმართავენ.

სინთეზირებულია მოკლე პეპტიდები: ვილონი (Lys-Glu) , თიმოგენი (α -Glu-Trp), კორტაგენი (Ala-Glu-Asp-Pro), ეპიტალონი (Ala-Glu-Asp-Gly), პროსტამაქსი (Lys-Glu-Asp-Pro). მათი გამოყენება დაიწყო მედიცინის პრაქტიკულად ყველა სფეროში. სამედიცინო პრაქტიკაში წარმატებით გამოიყენება როგორც სხვადასხვა ორგანოდან გამოყოფილი, ისე სინთეზურად მიღებული პეპტიდური რეგულატორები. ცნობილია, რომ ისინი აწელებენ ორგანიზმის ბიოლოგიური საათის სვლას. მათი მოქმედება მიმართულია სიმსივნეების და ასაკთან დაკავშირებული პათოლოგიების პროფილაქტიკისაკენ (Lezhava, 2006; Khavinson et al., 2000, 2001, 2002, 2013). მაგალითად, პეპტიდები Lys-Glu და Ala-Glu-Asp-Gly ამცირებენ სიმსივნის განვითარების რისკს ცხოველებში და ზრდიან მათი სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობას (Khavinson et al., 2000; Anisimov et al., 2002; Anisimov et al., 2003; Виноградова и др., 2008), პეპტიდი Ala-Glu-Asp-Pro ასტიმულირებს ნერვული უჯრედების რეგენერაციას (Khavinson et al., 2003, 2005, 2007), Lys-Glu-Asp-Trp ამცირებს გლუკოზის დონეს შაქრიანი დიაბეტის მქონე ექსპერიმენტულ ცხოველებში (Khavinson et al., 2005; 2010), Ala-Glu-Asp ზრდის ძვლოვანი ქსოვილის სიმკვრივეს (Поворознюк и др., 2007), Ala-Glu-Asp-Leu აღადგენს ბრონხული ეპითელიუმის უჯრედების ფუნქციას, Ala-Glu-Asp-Arg პეპტიდი აღადგენს მიუკარდიუმის უჯრედების ფუნქციონალურ აქტივობას (Khavinson et al., 2008).

ეპიფიზის პრეპარატის ჰიპოგლიკემიური მოქმედება განპირობებული იყო ინსულინის სეკრეციის მომატებით. ამ პრეპარატით მკურნალობის შემდეგ ინსულინდამოკიდებული შაქრიანი დიაბეტის მქონე ჰიპერტონიით დაავადებულ პაციენტებს აღენიშნებოდათ არტერიული წნევის დაქვეითება და მიოკარდის დიასტოლური ფუნქციის აღდგენა. ეპიფიზის პრეპარატის ეფექტიურობა დადგენილია ასთმის მქონე პაციენტებშიც, რომელთაც გამოუვლინდათ მელატონინის დაბალი შემცველობა, და ასევე ასთენიური მდგომარეობის პაციენტებშიც (Khavinson et al., 2002; 2011; Хавинсон и др., 2005).

თიმუსის პრეპარატის გამოყენება ძალიან ეფექტური აღმოჩნდა თიმუსის სიმსივნით დაავადებულებში თიმოქეტომიის შემდეგ. ოპერაციიდან 6-18 თვის შემდეგ ავადმყოფებს უვითარდებოდათ მძიმე იმუნოდეფიციტური მდგომარეობა, რაც რესპირატორული ვირუსული ინფექციების სიხშირის ზრდაში, განმეორებით პნევმონიებში, ფურუნკულოზში, რეგენერაციის უნარის დაქვეითებასა და ნაადრევი დაბერების ნიშნების გაჩენაში გამოიხატებოდა. ასეთი პაციენტების მკურნალობისას იყენებდნენ მხოლოდ თიმუსის პრეპარატებს, სხვა სანკურნალო საშუალებების

გარეშე. მკურნალობის კურსის ჩატარების შემდეგ აღინიშნებოდა უჯრედული იმუნიტეტის აღდგენა, ფურუნკულოზის გაქრობა, კუნთების ტონუსის გაძლიერება. მოგვიანებით შეინიშნებოდა ვირუსული დაავადებებისა და პნევმონიების სიხშირის კლება.

თიმუსის პეპტიდური პრეპარატების (სამკურნალო პრეპარატები „თიმალინი“, „თიმოგენი“, „ვილონი“) გამოყენება ეფექტური აღმოჩნდა მრავალი ისეთი დაავადებისა და მდგომარეობის დროს, რომლებიც დაკავშირებულია უჯრედული იმუნიტეტისა და ფაგოციტოზის დაქვეითებასთან: ონკოლოგიურ ავადმყოფებში სხივური თერაპიისა და ქიმიოთერაპიის დროს, მწვავე და ქრონიკული ინფექციურ-ანთებითი დაავადებებისას, ანტიბიოტიკების მასიური დოზების გამოყენების შემთხვევაში, რეგენერაციის პროცესების დაქვეითებისას, ღვიძლისა და წინამდებარე ჯირკვლის ქრონიკული დაავადებისას, ტუბერკულოზის ზოგიერთი ფორმის კომპლექსური მკურნალობის დროს (Morozov et al., 1996; Кузник и др., 1998; Khavinson et al., 2001; Хавинсон и др., 2003).

პეპტიდური ბიორეგულატორი ბრონხოგენი – მიღებულია ქიმიური სინთეზის გზით სანკტ-პეტერბურგის ბიორეგულაციისა და გერონტოლოგიის ინსტიტუტში. იგი შეიცავს ოთხ ამინომჟაურ ნაშთს - Ala-Glu-Asp-Leu. ბრონხოგენი ხასიათდება ქსოვილსპეციფიური მოქმედებით ფილტვების უჯრედებზე და ბრონქების ლორწოვან გარსზე. კლინიკური გამოკვლევების შედეგებმა აჩვენა, რომ ბრონხოგენის შემადგენლობაში შემავალი პეპტიდები ხასიათდებიან ხველითი შეტევების სიხშირის შემცირებისა და ბრონქული სპაზმის აღმოფხვრის უნარით. ბრონხოგენი ასევე მიზანმიმართულად გამოიყენება ბრონქული დაავადებების სამკურნალოდ, განსაკუთრებით მწვევლებში და ხანდაზმულ ადამიანებში (Khavinson et al., 2008).

კორტაგენი – ასევე ქიმიური სინთეზის გზით არის მიღებული სანკტ-პეტერბურგის ბიორეგულაციისა და გერონტოლოგიის ინსტიტუტში, ტეტრაპეპტიდს წარმოადგენს – Ala-Glu-Asp-Pro. სინთეზური ტეტრაპეპტიდი კორტაგენი მიღებული იყო პირდაპირი სინთეზის გზით, ტვინის ქერქის ტეტრაპეპტიდის – კორტექსინის ამინომჟაურ ანალიზის საფუძველზე. პოლიპეპტიდი კორტექსინი, რომელიც გამოყოფილია თავის ტვინის ქერქიდან, ავლენს ნეირომასტიმულირებელ ეფექტს (Anisimov et al., 2004; Khavinson et al., 2007), ასტიმულირებს ნევროლოგიური პაციენტების ტვინში აღდგენით პროცესებს და აღადგენს ტვინის აქტივობას სტრესის შემდგომ.

ლივაგენი ტეტრაპეპტიდია (Lys-Glu-Asp-Ala) - ღვიძლის კომპლექსური პრეპარატის ამინომჟაურ ანალიზს საფუძველზე ქიმიური სინთეზის გზით არის შექმნილი სანკტ-პეტერბურგის ბიორეგულაციისა და გერონტოლოგიის ინსტიტუტში. პრეპარატი ასტიმულირებს ქსოვილთა რეგენერაციის პროცესებს, ქსოვილსპეციფიკური ცილების სინთეზს, უჯრედების პროლიფერაციულ და მეტაბოლიტურ აქტივობას, აჩქარებს ჭრილობების შეხორცებას, ააქტიურებს შემაერთებელი ქსოვილის უჯრედების, მაკროფაგებისა და ლეიკოციტების ფუნქციას

დაზიანების კერაში. გააჩნია ანტიოქსიდანტური, იმუნომასტიმულირებელი და ანტისტრესული მოქმედება (Khavinson, 2009).

2.7 მეტალთა ბიოლოგიური აქტივობა

უკანასკნელ წლებში ინტერესი სხვადასხვა ბიოლოგიურ პროცესზე მეტალთა იონების ზემოქმედებისადმი მნიშვნელოვნად გაიზარდა. ეს განპირობებულია როგორც მეტალებით გარემოს დაბინძურების დონის ზრდით, ისე იმ როლით, რომელსაც ისინი ასრულებენ უჯრედთა ცხოველქმედების ყველა ეტაპზე.

მეტალთა იონებით რეგულირებადი პროცესებისათვის დამახასიათებელია განსაკუთრებული სირთულე. მაგალითად, კალიუმის, მაგნიუმის, რკინის, კობალტის, მოლიბდენის, სპილენძის, და თუთიის იონები შედიან იმ ფერმენტთა შემადგენლობაში, რომლებიც აკატალიზებენ ისეთ რეაქციებს, როგორცაა ჯგუფების გადატანა, ჟანგვა-აღდგენითი და ჰიდროლიზური პროცესები. უნდა აღინიშნოს, რომ ამ პროცესებში მონაწილეობენ არა მარტო მეტალშემცველი ფერმენტები, არამედ რიგ შემთხვევებში სხვა ცილოვანი სისტემებიც, რომლებიც ახორციელებენ როგორც მეტალთა იონების დაგროვებას და კონტროლს მათ კონცენტრაციაზე, ისე უზრუნველყოფენ მათ ტრანსპორტირებას შესაბამის ადგილებში და საჭირო ფერმენტულ სისტემებში ჩართვას. კალიუმის, კალციუმის და მაგნიუმის იონები ძალიან მნიშვნელოვანია აგრეთვე უჯრედის კედლის სტრუქტურის შენარჩუნებაში და აკონტროლებენ მათ ფუნქციონირებას.

ლიტერატურაში განსაკუთრებულად განიხილება მეტალთა იონების კავშირი ქრომატინთან და ნუკლეინის მჟავებთან (Mello et al., 1995; Nowosielska and Pawlas, 2015). ნაჩვენებია ქრომატინის შემადგენლობაში ცალკეულ ლითონთა არსებობის და მათი ლოკალიზაციის, აგრეთვე გარკვეულ რეაქციებში მათი მონაწილეობის ზუსტი მექანიზმები. აღნიშნულია რომ ქრომატინის დაშლისას კონდესირებულ და დეკონდესირებულ ფრაქციებად ორი მძიმე მეტალი – სპილენძი და ვერცხლისწყალი ქრომატინთან მჭიდროდ დაკავშირებული რჩება და განსაზღვრულ შერჩევითობას ავლენენ მასთან დაკავშირებისას. სპილენძზე და ვერცხლისწყალზე ჩატარებულმა ექსპერიმენტებმა აჩვენეს, რომ ამ მეტალთა შეღწევა *in vitro* სისტემაში მინიმალურია *in vivo* სისტემასთან შედარებით, რაც უჯრედის ბირთვში მეტალთა არსებობის ბიოლოგიურ მნიშვნელობაზე მიუთითებს.

მეტალთა იონების ურთიერთქმედება ნუკლეინის მჟავებთან და ქრომატინთან ვრცლად არის გაშუქებული ლიტერატურაში. მთელ რიგ შრომებში მოყვანილია მონაცემები ნუკლეინის მჟავებთან მეტალთა იონების კომპლექსების ბიოლოგიური მნიშვნელობის შესახებ, უჯრედულ სისტემებში მეტალთა იონების არსებობის შესახებ, მათი გავლენის შესახებ რნმ-ს აქტივობაზე და ნუკლეინის მჟავების მონაწილეობით მიმდინარე ფერმენტული რეაქციების სპეციფიურობაზე (Девидзе 1983; Львова и др., 1990; Abshire et al., 1996; Nowosielska and Pawlas, 2015)

მეტალები ძირითადად ნუკლეინის მჟავების სტრუქტურის სტაბილიზაციას ახდენენ, მაგრამ წყალხსნარებში მათ კავშირმა შეიძლება გამოიწვიოს მოლეკულის როგორც სტაბილიზაცია ისე მისი კონფორმაციის დარღვევაც. დნმ-ს სტაბილიზაცია მეტალებით, დაკავშირებულია უარყოფითად დამუხტული ფოსფატური და ჰიდროქსილური ჯგუფების დადებითად დამუხტული მეტალებით ჩანაცვლებასთან. დაკავშირების ეფექტი იზრდება რიგში: Mg, Co, Ni, Mn, Zn, Cd, Cu, Pb. მეტალებთან დაკავშირებამ შეიძლება გამოიწვიოს უჯრედში ნუკლეინის მჟავების როგორც სტრუქტურის ისე ფუნქციის მრავალგვარი დარღვევები, რაც მისი გენეტიკური აპარატის მუშაობის დაზიანებას იწვევს. მაგ.: დნმ-ზე ქრომით ზემოქმედება იწვევს გც-ათ ტიპის ტრანზიციების ინდუქციას, თუთიის ქლორიდი და ბიქრომატები იწვევენ ათვლის ჩარჩოს გადაადგილებას (Львова и др., 1990; Chen et al., 2006)

ბერილიუმის, კადმიუმის, სპილენძის, ქრომისა და ტყვიის მარილები იწვევენ დნმ-ის რეპლიკაციის დარღვევას, ბერილიუმის დაკავშირება ბირთვისა და ქრომატინის ცილებთან გავლენას ახდენს გენომის ექსპესიაზე; ნიკელი იწვევს რნმ-პოლიმერაზას აქტივობის ინჰიბირებას და ი-რნმ-ზე დამოკიდებული ღვიძლის მიკროსომული ფერმენტების სინთეზის ბლოკირებას (Chen et al., 2006; Ellen et al., 2009). მეტალთა როლის შესახებ გენთა ექსპრესიის კონტრილში მიუთითებს ჰალორანი (O'Halloran, 1993; Guecheva et al., 2001), რომელიც აღნიშნავს რომ მეტალოპროტეინები ასრულებენ სტრუქტურულ და კატალიზურ როლს გენთა ექსპრესიაში. ისეთი მეტალები, როგორცაა ქრომი, ტყვია, კადმიუმი, კობალტი და სპილენძი იწვევენ უჯრედში რნმ-ს სინთეზის დონის შეცვლას (Sharma, Talukder, 1987; Karin, 1997; Bellicci-Ferrari et al., 2005).

მძიმე მეტალთა გენეტიკური მოქმედების ეფექტი მნიშვნელოვნად არის დამოკიდებული გამოყენებულ ტესტ-სისტემაზე. ასეთ ტესტ-სისტემებს მიეკუთვნება ბაქტერიული სისტემა, უმაღლეს მცენარეთა უჯრედები, დროზოფილა, ძუძუმწოვართა ძვლის ტვინის უჯრედები, ძუძუმწოვართა და ადამიანის უჯრედული კულტურები. მძიმე ლითონთა ციტოგენეტიკური ეფექტი დაფიქსირებულია ძუძუმწოვართა უჯრედებზე მათი ზემოქმედებისას როგორც *in vitro* ისე *in vivo* სისტემებში (Davidson et al., 2011; Arita et al., 2012).

მოლიბდენის მარილების გენეტიკური ექტივობის შესწავლისას ნაჩვენებია, რომ მოლიბდენის საამქროს მუშებში, რომელთაც ხანგძლივი კონტაქტი ჰქონდა მოლიბდენის ნაერთებთან, ადგილი აქვს ქრომოსომათა აბერაციებისა და შქგ-ს სიხშირის მატებას. იგივე შედეგი მიიღეს *in vitro* სისტემაშიც – საკონტროლო პირების ლიმფოციტურ კულტურათა უჯრედებში მოლიბდენის მარილების შეყვანისას (Costa 1999).

პოზიტიური ეფექტი ქრომოსომათა დარღვევების ინდუქციის ტესტის მიხედვით დადასტურებულია თუთიის იონებისათვის, მათი ზემოქმედებისას ადამიანის ლიმფოციტურ კულტურებზე. კადმიუმის ქლორიდის დაბალი კონცენტრაციებით

ზემოქმედებისას მიუთითებდნენ დიცენტრული ქრომოსომების არსებობაზე უჯრედულ კულტურებში (Abshire et al., 1996).

შარმას მიერ (Sharma, 1989) მეტალთა კლასტოგენური მოქმედება შესწავლილ იქნა დაბერებასთან და სხვადასხვა დაავადებასთან კავშირში. მათ შეუძლიათ გამოიწვიონ გენეტიკური დარღვევები ორგანიზმში. მოახდინონ დნმ-ის სინთეზის ინჰიბირება, გამოიწვიონ დნმ-ს დარღვევები. ზოგიერთი მეტალი გავლენას ახდენს დაბერების პროცესებზე. მაგ.: Al^{3+} წარმოქმნის სტაბილურ შეუქცევად კომპლექსებს დნმ-თან და ქრომატინთან. ამ პროცესში დიდი მნიშვნელობა ენიჭება მეტალთა იონების კონცენტრაციას.

ლიტერატურაში ფართოდ არის გაშუქებული ლითონთა როლი ისეთი დაავადების განვითარებაში, როგორებიცაა ალცჰაიმერის და პარკინსონის დაავადება, მეტაბოლიზმის დარღვევები, ბრონქული ასთმა, კონტაქტური დერმატიტი, ეგზემა, სიმსივნე და სხვა. ლითონთა იონები პროვოცირებენ ორგანიზმის ჰიპერმგრძობელობას, მათ შეუძლიათ გამოიწვიონ როგორც ძლიერი ალერგიული რეაქციები და აუტოიმუნური პათოლოგიები, ისე იმუნური სტატუსის დაქვეითება (Sharma, 1989; Leonard and Lauvery 1990; Ellen et al., 2009).

კადმიუმის ქლორიდის ზეგავლენით ქრომოსომათა აბერაციების სიხშირის მატება და რეპარაციის ინტენსივობის დაქვეითება ნაჩვენებია ვასილევასა და თანაავტორთა (Васильева и др., 1991; Qin et al., 2012) შრომაში კადმიუმის საამქროს მუშათა გამოკვლევისას. იგივე ავტორები მიუთითებენ, რომ ანტიმუტაგენების სახით ვიტამინების გამოყენება (ვიტამინი C, რეტინოლი) იწვევდა რეპარაციის პროცესების სტიმულაციას, რაც თავის მხრივ განაპირობებდა მუტაგენური ეფექტის დაქვეითებას. აღსანიშნავია, რომ მკაფიოდ გამოხატული კორელაცია მუშაობის სტაჟსა (კადმიუმთან კონტაქტის ხანგრძლივობასა) და დნმ-ს გაწყვეტების რაოდენობასა და მათ შემდგომ რეპარაციას შორის არ გამოვლენილა.

ქრომოსომათა აბერაციების სიხშირის ზრდის უნარი გამოვლენილია კობალტის ქლორიდისათვის. კობალტი ქრომოსომათა აბერაციების ინდუქციას იწვევდა როგორც იმ პირთა ლიმფოციტებში, რომლებიც კობალტის ქლორიდთან 10 წელზე მეტი ხნის განმავლობაში კონტაქტობდნენ, ასევე *in vitro* პირობებშიც, ლიმფოციტურ კულტურებზე ზემოქმედებისას. ორივე შემთხვევაში მოცემული შრომის ავტორებმა მოახდინეს კობალტის დამაზიანებელი მოქმედების მოდიფიცირება ასკორბინის მჟავით, რომელიც საგრძნობლად აქვეითებდა აღნიშნული ნაერთის მუტაგენურ ეფექტს. ავტორები ამას ხსნიან ასკორბინის მჟავას უნარით გამოიწვიოს დნმ-ს რეპარაციის ოპტიმიზაცია (Bellicci-Ferrari et al., 2005).

მძიმე ლითონების ზემოქმედებით განპირობებული დნმ-ს დაზიანებები ძირითადად წარმოდგენილია დნმ-ს ერთძაფიანი გაწყვეტებით და ალკირებადი ბმული საიტების – დნმ-დნმ და დნმ-ცილა ჯვარედინი კავშირების სახით.

ნაჩვენებია აგრეთვე, რომ კობალტის ზოგიერთი ნაერთი ინდუცირებს ქრომოსომათა აბერაციებს მცენარეთა უჯრედებში. ამასთანავე, ავტორები უარყოფენ

კობალტისა და მისი ნაერთების მუტაგენურ აქტივობას ძუძუმწოვართა უჯრედებისთვის (Leonard and Lauverys, 1990), თუმცა ნაჩვენებია ვირთაგვებზე კობალტის აცეტატის ზემოქმედებით განპირობებული დნმ-ის ოქსიდაცია ფილტვის, ღვიძლის, თირკმლის ქრომატინში. უფრო მეტიც, დნმ-ის ფუძეებიდან ზოგიერთი, მაგ.: 5-ჰიდროქსიციტოზინი მიჩნეულია პრომუტაგენად, რომელიც სავარაუდოდ ჩართულია კობალტ (II) –ით ინდუცირებულ მუტაგენებში (Li et al., 2009).

მძიმე მეტალები მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ უჯრედში მიმდინარე პროცესებში. მათი მოქმედება ყოველთვის უნდა გაანალიზდეს კომპლექსური მიდგომით. მათი შესაძლო ეფექტები ცალსახად არის დამოკიდებული მათ კონცენტრაციაზე. მძიმე მეტალები, გარკვეულ კონცენტრაციით, აღწევენ უჯრედში და მონაწილეობენ ნორმალურ ფიზიოლოგიურ პროცესებში. ამასთან, ავლენენ თავის ტოქსიკურობას ნუკლეინის მჟავებთან და ცილებთან ქიმიური ურთიერთქმედების გზით, ცვლიან ბირთვში შემავალი მაკრომოლეკულების კონფორმაციას. ეს ყველაფერი იწვევს სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვანი ბირთვული პროცესების რეგულაციის დარღვევას, როგორცაა ტრანსკრიფცია, დნმ-ს რეპლიკაცია, რეპარაცია, რითაც ხშირად მიყავთ უჯრედი მოულოდნელ და შეუქცევად ცვლილებებამდე - კარცინოგენეზამდე (Nowosielska and Pawlas, 2015).

3. კვლევის მასალა და მეთოდика

3.1 მასალა

კვლევის მასალად გამოყენებული იყო 20–35 (40 ინდივიდი) და 75–90 (წლის 30 ინდივიდი) კლინიკურად ჯანმრთელი და ათეროსკლეროზით დაავადებული ორივე ასაკობრივი ჯგუფის (10-10 ინდივიდი) ინდივიდების მიტოგენით სტიმულირებული ლიმფოციტური კულტურების უჯრედები.

ყოველი ინდივიდიდან იდგმებოდა ორი კულტურა: ინტაქტური და ინდუცირებული, რაც საშუალებას იძლეოდა შეგვედარებინა ინდუცირებული კულტურების მაჩვენებლები საკუთარ კონტროლთან. ანალიზდებოდა ინტაქტური კულტურებისა და ბიორეგულატორებით – ბრონხოგენით (Ala-Glu-Asp-Leu), კორტაგენითა (Ala-Glu-Asp-Pro) და ლივაგენით (Lys-Glu-Asp-Ala) დამუშავებული (კონცენტრაციით 0,01 მკგ 1 მლ კულტურაზე) კულტურების 20–დან 100–მდე მეტაფაზა.

გამოყენებულ იქნა შემდეგი ტესტ-სისტემები - ქრომატინის კონდენსაციის ხარისხის შესწავლა დიფერენციული სკანირების მიკროკალორიმეტრით; შვილელ ქრომატიდთაშორისი რეკომბინაცია; ქრომოსომათა სტრუქტურული (აბერაციები) და რადენობრივი (ანეუპლოიდია, პოლიპლოიდია) დარღვევების აღრიცხვა; რიბოსომულ გენთა აქტივობის შეფასება აკროცენტრულ ქრომოსომებში და აკროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაციების დროს; სტრუქტურული (C-) ჰეტეროქრომატინის პოლიმორფიზმის განსაზღვრა.

3.1.1 ბიორეგულატორები

პეპტიდური ბიორეგულატორების სახით გამოიყენებოდა გერიატრიულ პრაქტიკაში ხმარებული სინთეზური ოლიგოპეპტიდები - ბრონხოგენი, კორტაგენი, ლივაგენი (Khavinson, 2009; Khavinson et al., 2007).

ბრონხოგენი – მიღებულია ქიმიური სინთეზის გზით სანკტ-პეტერბურგის ბიორეგულაციისა და გერონტოლოგიის ინსტიტუტში. იგი შეიცავს ოთხ ამინომჟაურ ნაშთს - Ala-Glu-Asp-Leu. ბრონხოგენი ხასიათდება ქსოვილსპეციფიური მოქმედებით ფილტვების უჯრედებზე და ბრონქების ლორწოვან გარსზე. მიზანმიმართულად გამოიყენება ბრონქული დაავადებების სამკურნალოდ.

კორტაგენი წარმოადგენს ტეტრაპეპტიდს – Ala-Glu-Asp-Pro, მიღებულია ასევე ქიმიური სინთეზის გზით სანკტ-პეტერბურგის ბიორეგულაციისა და გერონტოლოგიის ინსტიტუტში ტვინის ქერქის ტეტრაპეპტიდის – კორტექსინის ამინომჟაურ ანალიზის საფუძველზე. ასტიმულირებს ტვინში აღდგენით პროცესებს.

ლივაგენი ტეტრაპეპტიდია (Lys-Glu-Asp-Ala) - ღვიძლის კომპლექსური პრეპარატის ამინომჟაურ ანალიზს საფუძველზე ქიმიური სინთეზის გზით არის შექმნილი ასევე სანკტ-პეტერბურგის ბიორეგულაციისა და გერონტოლოგიის ინსტიტუტში. გააჩნია

ანტიოქსიდანტური, იმუნომასტიმულირებელი და ანტისტრესული მოქმედება. ლივაგენის პროტექტორულ მოქმედებას საფუძვლად უდევს ქრომატინზე მისი მამოდიფიცირებელი მოქმედება.

3.2 გამოყენებული მეთოდები

3.2.1 ადამიანის პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტების კულტივირება

ცნობილია, რომ პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტები ჩვეულებრივ პირობებში, დაუყოფადი უჯრედებია, რომლებიც იმყოფებიან G_0 ფაზაში. *in vitro* უჯრედულ კულტურაში ფიტოჰემაგლუტინინის (ფჰა) დამატების შემდეგ ისინი იწყებენ ციკლში შესვლას, რასაც თან სდევს ცილებისა და დნმ-ს სინთეზი და უჯრედების დაყოფა.

სამკურნალო პრეპარატების ციტოგენეტიკური აქტივობის შესასწავლად და ტესტირებისათვის *in vitro* სისტემაში გამოიყენება ადამიანის პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტური კულტურა. ამ სისტემის უმნიშვნელოვანესი დამსახურება არის მოკლევადიანი კულტურების მისაღებად დიდი რაოდენობით უჯრედების ხელმისაწვდომობა; ინტერფაზის G_0 და G_1 ფაზაში მყოფი უჯრედული პოპულაციების სინქრონულობა და მიტოგენით მათი სტიმულირების შესაძლებლობა.

ლიმფოციტების კულტივირება ხდებოდა მოდიფიცირებული მეთოდით (Lezhava, 1999). საკვლევი ინდივიდების 5 მლ ვენური სისხლი ალების შემდეგ თავსდებოდა 0,5 მლ ჰეპარინის სამუშაო ხსნარიან სინჯარაში. ერიტროციტების დალექვის მიზნით სისხლი 2 საათით თავსდებოდა ოთახის ტემპერატურაზე. ინკუბაციისათვის ლიმფოციტების შემცველ 1მლ პლაზმას ემატებოდა 3 მლ საკვები არე RPMI და ფიტოჰემაგლუტინინი (ფჰა) (Sigma) კონცენტრაციით 0,01მლ/1მლ პლაზმაზე. ლიმფოციტური კულტურები თავსდებოდა თერმოსტატში 37 °C –ზე. მათი ფიქსაცია ხდებოდა ინკუბაციის 72-ე საათზე. 3 სთ-ით ადრე კულტურებს ემატებოდა კოლხიცინი 0,5 მკგ/მლ საბოლოო კონცენტრაციით. ფიქსაცია მიმდინარეობდა მეთანოლისა და ყინულოვანი ძმარმჟავის ნარევი (3:1), ფიქსატორის ორჯერადი შეცვლით 30 წთ-ის განმავლობაში. ამის შემდეგ ხდებოდა პასტერის პიპეტის მეშვეობით ცივ სასაგნე მინებზე ნალექის გადატანა. პრეპარატები შრებოდა ჰაერზე და იღებებოდა.

3.2.2 ქრომოსომული მუტაციები

ქრომოსომების სტრუქტურული (აბერაციები) და რაოდენობრივი (ანეუპლოიდია, პოლიპლოიდია) მუტაციების შეფასება ხდებოდა ციტოგენეტიკური ნომენკლატურის საერთაშორისო სისტემის (ISCM, 1999) მიხედვით. ვაანალიზებდით კარგი განზნევის მქონე 44-47 ქრომოსომის შემცველ მეტაფაზებს. აღვრიცხავდით ერთეულ და წყვილ ფრაგმენტებს, ტრანსლოკაციებს, ცენტრომერის ნაადრევ დაცილებას, გეპებს და ფრაგილურ საიტებს.

აბერაციების შემცველ უჯრედთა პროცენტისათვის სტანდარტული შეცდომის გამოთვლა ხდებოდა ფორმულით:

$$m = \pm \frac{\sqrt{n(100-n)}}{N}$$

სადაც: n აბერანტულ უჯრედთა პროცენტული მაჩვენებელია,
N-გაანალიზებულ უჯრედთა რაოდენობა.

ორ სიმრავლეს ვადარებდით სტიუდენტის (t) კრიტერიუმით:

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$$

3.2.3 აქტიური ბირთვავის ორგანიზატორთა დიფერენციული შეღებვა (ვერცხლით იმპრეგნაციის მეთოდი)

ინტერფაზულ უჯრედებში ქრომოსომების აქტიური ბირთვავმაორგანიზებელი უბნების გამოვლენა და აქტივობის შეფასება, მათ შორის აკროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაციების სიხშირის, შესამღებელია დავერცხლის მეთოდის საშუალებით, არგენტოფილური სეგმენტების რაოდენობისა და ზომების მიხედვით. უჯრედის ეს მატად ზუსტი და მგრძობიარე მახასიათებლები ასახავენ უჯრედის ფიზიოლოგიური მდგომარეობის შეცვლას. Ag – შეღებვა ხდებოდა Bloom-ისა და Goodpasture-ს (1976) მცირედ მოდიფიცირებული მეთოდით. პრეპარატებს ემატებოდა ვერცხლის ნიტრატის 50%-იანი ხსნარის რამდენიმე წვეთი, ეფარებოდა საფარი მინა, თავსდებოდა ტენიან კამერაში და ინახებოდა 48 საათის განმავლობაში თერმოსტატში, 37°C-ზე. მოვერცხლილი სეგმენტების ზომა ფასდებოდა 3 ბალიანი სისტემით: 0 – სეგმენტების არარსებობა, 1 – მცირე ზომის სეგმენტები (ქრომატინის სისქეზე პატარა), 2 – დიდი ზომის (ქრომატიდის სისქის ტოლი ამ მასზე დიდი).

ასოციაციათა სიხშირე ფასდებოდა შემდეგი კრიტერიუმით: ასოციაციების შემცველი უჯრედების რაოდენობა, უჯრედზე ასოციაციათა საშუალო რაოდენობა, ასოციაციაში მონაწილე ქრომოსომების რიცხვი (Lezhava, 1999).

რამდენიმე კრიტერიუმით ვაფასებდით ბირთვავმაორგანიზებელ უბნებში ლოკალიზებული რიბოსომული ცისტრონების ტრანსკრიფციულ აქტივობას: ვერცხლით ღებვადი უბნების სიხშირის აღრიცხვით (D და G ჯგუფის ქრომოსომებისათვის ცალ-ცალკე და ერთდროულად) მოვერცხლილი სეგმენტების ზომით.

გამოითვლებოდა D და G აკროცენტრული ქრომოსომების Ag – პოზიტიურობა. მათი ნორმალური რიცხოვნების სხვაობის გათვალისწინებით გამოიყენებოდა ფორმულა:

$$\frac{P_D - P_G}{\sqrt{\frac{P_D(1-P_D)}{6n} + \frac{P_G(1-P_G)}{4n}}}$$

სადაც, P_D და P_G Ag⁺ - პოზიტიური აკროცენტრული ქრომოსომების შეხვედრის ალბათობის მაჩვენებელია. მათი გამოთვლა ხდებოდა ფორმულით:

$$P_D = \frac{m_D}{6n}, \quad P_G = \frac{m_G}{4n}$$

სადაც, m - Ag^+ - პოზიტიური ქრომოსომებია შესაბამის ჯგუფში.

n - გაანალიზებული უჯრედების რაოდენობა.

სარწმუნოება საკვლევ და საკონტროლო მნიშვნელობებს შორის ფასდებოდა სტიუდენტის (t) კრიტერიუმით.

3.2.4 დიფერენციული სკანირების მიკროკალორიმეტრული მეთოდი

ქრომატინის კონდენსაციის ხარისხს ვსწავლობდით დიფერენციული სკანირების კალორიმეტრის გამოყენებით (Monaselidze et al., 1978). აღნიშნული დანადგარი საშუალებას გვაძლევს შევისწავლოთ როგორც ცილებისა და ნუკლეინის მჟავების განზავებული ხსნარების, ასევე უჯრედებისა და ქსოვილების სითბური თვისებები.

დიფერენციული სკანირების კალორიმეტრის მგრძობელობა შეადგენს 10^{-7} კალ/წმ, ტემპერატურული ინტერვალი – $20-150^{\circ}C$. გათბობის სიჩქარე ვარირებს 1-დან 0.05 კ/სთ, გასაზომი უჯრედების რაოდენობა – 0,3 მლ. რნპ-კომპლექსისა და ქრომატინის განსაზღვრის სიზუსტის ცდომილება არ აღემატება $\pm 1^{\circ}$.

ქრომატინის კონდენსაციის გრაფიკულ გამოსახვას ვახდენდით სითბოს შთანთქმის მრუდებით. დიფერენციული სკანირების მიკროკალორიმეტრულ მეთოდს საფუძვლად უდევს ის ფაქტი, რომ ქრომატინის განსხვავებული ფრაქციები ხასიათდებიან განსხვავებული თერმოსტაბილობით.

3.2.5 სტრუქტურული პერიცენტრული ჰეტეროქრომატინის შეღებვის მეთოდი (C-ბენდირება)

პერიცენტრომერული (სტრუქტურული) ჰეტეროქრომატინი ჰომოლოგიური წყვილის ორივე ქრომოსომაში არის წარმოდგენილი უჯრედული ციკლის ყველა სტადიაზე, შეიცავს დნმ-ის მაღალგანმეორებად თანმიმდევრობებს, გენეტიკურად ინერტულია და ახასიათებს სახეობრივი სპეციფიკურობა (Hsu, 1975; Лонин и Подгорная, 1999).

მეთოდი, რომლითაც ვლინდება ცენტრომერული რაიონის მიმდებარედ ლოკალიზებული სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინი, ცნობილია C-ბენდირების სახელწოდებით. ქრომოსომათა C-შეღებვის მიღების ძირითად პირობას წარმოადგენს ის, რომ ქრომოსომის სტრუქტურის დამრღვევი ინკუბაციური ზემოქმედების შემდეგ, შეღებვის უნარი შეინარჩუნონ მხოლოდ პერიცენტრომერულმა ჰეტეროქრომატინულმა რაიონებმა. C-შეღებვისას ხდება ქრომოსომების ეუქრომატული ნაწილების შერჩევითი ექსტრაქცია, მაშინ როდესაც C-ჰეტეროქრომატინი ინარჩუნებს კომპაქტურობას (Jack et al., 1985).

C-ჰეტეროქრომატინის გამოვლენა ხორციელდებოდა Sumner-ის (1975) მეთოდით. ქრომოსომებთან მიმდებარე ციტოპლაზმის მოცილების მიზნით ხდებოდა ქრომოსომული პრეპარატების 1 საათიანი ჰიდროლიზი 0,2N მარილმჟავით და

ირეცხებოდა დისტილატით. ამის შემდეგ პრეპარატი მუშავდებოდა ბარიუმის ჰიდროქსიდის ახლადამზადებული 5%-იანი ნაჯერი ხსნარით, 11 წთ 52°C ტემპერატურაზე. დისტილირებული წყლით გარეცხვის შემდეგ ხდებოდა პრეპარატების ინკუბაცია 2xSSC-ს ხსნარში, 60°C ტემპერატურაზე, 1 სთ-ის განმავლობაში. ამის შემდეგ სამჯერადად ირეცხებოდა დისტილირებულ წყალში და გაშრობის შემდეგ იღებებოდა აზურ-ეოზინის 2%-იანი ხსნარით. პრეპარატი ინომრებოდა და ანალიზდებოდა მიკროსკოპით.

ქრომოსომების C- შეღებვის შედარებითი ანალიზისათვის გამოიყენებოდა პატილისა და ლაბსის მიერ შემოთავაზებული კლასიფიკაციის სისტემა (Patil, Lubs, 1977). ხდებოდა 1-ლი, მე-9-ე და მე-16-ე ქრომოსომების C-სეგმენტების ზომის შედარება მე-16-ე ქრომოსომის მოკლე მხართან. კლასიფიკაციის ამ სისტემის თანახმად, შედეგები ნაწილდება 5 ვარიანტად (a, b, c, d და e):

$$a < 0,5 \times 16p$$

$$b > 0,5 - 1 \times 16p$$

$$c > 1,5 \times 16p$$

$$d > 1,5 - 2 \times 16p$$

$$e > 2 \times 16p$$

χ^2 - ის გამოსათვლელად გამოიყენებოდა ზაკსის ფორმულა (Zaks, 1976).

$$\chi^2_{(k-1)} = (n+m) \frac{n}{m} \left\{ \sum_{i=1}^K \frac{\left[\frac{v_{ii}}{n_i} \right]}{\frac{v_{ii} + \mu_{ii}}{n+m}} \right\} - 1$$

სადაც:

v_i - განსაზღვრული ვარიანტების (a, b, c, d ან e) რაოდენობა ინტაქტურ უჯრედებში.

μ_i - განსაზღვრული ვარიანტების (a, b, c, d ან e) რაოდენობა პეპტიდური ბიორეგულატორებით დამუშავებულ უჯრედებში

n - C-სეგმენტების ყველა ვარიანტების რაოდენობა ინტაქტურ უჯრედებში.

m - C სეგმენტების ყველა ვარიანტის რაოდენობა პეპტიდური ბიორეგულატორებით დამუშავებულ უჯრედებში.

3.2.6 შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლების (შქგ) გამოვლენის მეთოდი

შქგ-ს ფენომენი ამჟამად შეისწავლება განსხვავებული მიმართულებებით, რომელთა შორისაც განსაკუთრებულ ინტერესს იწვევს ურთიერთკავშირი ინდუცირებულ შქგ-ს სიხშირესა და ქიმიურ ნივთიერებათა აქტივობას შორის.

შვილეულ ქრომატიდთა დიფერენციული შეღებვის საფუძველი შქგ-ს გამოსავლენად მდგომარეობს იმაში, რომ რეპლიკაციის ორი ციკლის განმავლობაში ხდება უჯრედების ინკუბაცია 5-ბრომდეოქსირიდინის თანაობისას (5-ბდუ), რომელიც დნმ-ს სინთეზის პროცესში ერთვება თიმინის ადგილას. რეპლიკაციის ორი ციკლის შემდეგ ერთ-ერთი ქრომატიდის დნმ-ს მოლეკულის ორივე ჯაჭვი შეიცავს ანალოგს და სპეციალური დამუშავების შემდეგ იღებება ნაკლებად ინტენსიურად,

ვიდრე მეორე შვილეული ქრომატიდა, რომელიც შეიცავს მხოლოდ ერთ ბდუ-ჩანაცვლებულ ჯაჭვს, რაც იძლევა მათ შორის გაცვლების აღმოჩენის შესაძლებლობას.

ხანდაზმულ ინდივიდთა ლიმფოციტურ კულტურაში შვილეულ ქრომატიდათა მონიშვნისათვის, ფჰა-ის შეყვანისთანავე ემატებოდა 5-ბდუ კონცენტრაციით 7,7მკგ/მლ, რომელიც რჩებოდა კულტურაში ფიქსაციამდე. უჯრედების ინკუბაცია მიმდინარეობდა 72 სთ-ის განმავლობაში 37 °C-ზე. ტესტირებული ბიორეგულატორები კულტურებს ემატებოდა დადგმიდან 24-ე საათზე, კონცენტრაციით – 0,01 მკგ 1 მლ კულტურაზე. კოლხიციინიზაცია, ჰიპოტონიზაცია და კულტურების ფიქსაცია ტარდებოდა ისევე, როგორც ლიმფოციტების კულტივირების შემთხვევაში.

რამდენიმე (5-6) დღის განმავლობაში პრეპარატები ინახებოდა სიბნელეში და ამის შემდეგ იღებებოდა ფლუოროქრომების გამოყენების გარეშე, ანტომჰინასა და პარიადკოვას მეთოდის მიხედვით (1978). ქრომოსომული სლაიდები თავსდებოდა 2xSSC ხსნარში და სხივდებოდა DPT-375 ნათურით. დასხივების დასრულების შემდეგ, პრეპარატები ირეცხებოდა წყლით და შრებოდა. შეღებვა ხდებოდა აზურ-ეოზინის ახლად დამზადებული საღებავით.

აღწერილი პროცედურების შედეგად მეორე მიტოზის მეტაფაზურ ქრომოსომებში ვლინდება მკვეთრი დიფერენცირება შვილეულ ქრომატიდათა შორის, კარგად გარჩევადი შქგ-თი.

შქგ-ს სიხშირის შესაფასებლად ცალკეულ ქრომოსომულ ჯგუფებში აღირიცხებოდა ტერმინალური და ინტერკალარული გაცვლები. ეს უკანასკნელი აღირიცხებოდა როგორც ორი გაცვლა.

ციტოგენეტიკური ეფექტის მაჩვენებელს წარმოადგენდა შქგ-ს დონე მეტაფაზაზე (M), რომელიც გამოითვლებოდა ფორმულით:

$$M = \frac{n}{N},$$

სადაც: n არის შესწავლილი შქგ-ების სრული რაოდენობა,

N - შესწავლილი მეტაფაზების სრული რიცხვი.

სტანდარტული შეცდომა გამოითვლებოდა ფორმულით:

$$m = \frac{\sqrt{n}}{N}.$$

ორი სიდიდის შესადარებლად გამოიყენებოდა სტიუდენტის (t) კრიტერიუმი:

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}.$$

4. მიღებული შედეგების ანალიზი და განსჯა

4.1 პეპტიდური ბიორეგულატორების (ბრონხოგენისა და კორტაგენის) გავლენა ქრომოსომათა აბერაციების შემცველი უჯრედების სიხშირეზე ხანდაზმულ ასაკში

ქრომოსომათა აბერაციების შემცველი უჯრედების სიხშირეს ვსწავლობდით 20–დან 35–მდე და 75–დან 90 წლამდე ასაკის კლინიკურად ჯანმრთელი ინდივიდების პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტარული კულტურების მეტაფაზებში. ვაანალიზებდით ინტაქტური და პეპტიდური ბიორეგულატორებით (ბრონხოგენითა და კორტაგენით) დამუშავებული კულტურების მეტაფაზებს.

ქრომოსომათა სტრუქტურული დარღვევების შეფასება ხდებოდა ციტოგენეტიკური ნომენკლატურის საერთაშორისო სისტემის თანახმად (ISCN, 1982).

თითოეული გამოკვლეული ინდივიდიდან იდგმებოდა საკონტროლო და საცდელი ვარიანტები და ხდებოდა ქრომოსომების სტრუქტურული დარღვევების შემცველი უჯრედების სიხშირის განსაზღვრა. აბერანტული უჯრედების სიხშირემ (% გაანალიზებულ უჯრედთა საერთო რაოდენობიდან) ხანდაზმულ ინდივიდთა კულტურებში შეადგინა $4,08 \pm 0,41\%$, რაც სარწმუნოდ აღემატება საშუალო ასაკის ანალოგიურ მაჩვენებელს ($1,7 \pm 0,5\%$) და ამ მოდელური სისტემისათვის ლიტერატურაში მიღებულ ზოგად მაჩვენებელს შეესაბამება (სურ.4.1.1).

შესწავლილი იყო პეპტიდური ბიორეგულატორების მამოდიფიცირებელი მოქმედება ხანდაზმულ ინდივიდებში აღრიცხულ ქრომოსომათა სტრუქტურული დარღვევების სიხშირეზე განმხილოებელი ზემოქმედებისას.

ჩვეულებრივ, პეპტიდური ბიორეგულატორების გამოყენებისას, სამუშაოდ აღებულია ერთჯერადი თერაპიული დოზის შესაბამისი კონცენტრაცია, მას შემდეგ რაც იგი შემოწმდება შესაძლო საკუთარ ციტოგენეტიკურ ეფექტზე.

რადგან ასეთი მონაცემები კორტაგენისათვის არ არსებობდა, ამდენად, პირველ ეტაპზე მოხდა მისი სამუშაო დოზის შერჩევა. ამ მიზნით გამოვიკვლიეთ მისი ციტოგენეტიკური აქტივობა საშუალო ასაკის ინდივიდებში (20–დან 35 წლამდე). გამოიცადა ორი დოზა: 0.01 მკგ/მლ - ერთჯერადი თერაპიული შესაბამისი, და მასზე ათჯერ მაღალი - 0.1 მკგ/მლ. 0,01მკგ/მლ კონცენტრაციისას აბერანტულ ქრომოსომიანი უჯრედების სიხშირე საკონტროლო მაჩვენებლისაგან არ განსხვავდებოდა და შეადგინა $1,8 \pm 0,7\%$ ($1,7 \pm 0,5\%$ კონტროლი). კონცენტრაციის ათჯერადი მომატებისას შეინიშნებოდა აბერაციების სიხშირის მატების ერთგვარი ტენდენცია - აბერანტული ქრომოსომების შემცველი უჯრედების რიცხვმა საშუალოდ შეადგინა $3,6 \pm 1,1\%$ (ცხრ. 4.1.1). ამდენად, სამუშაო დოზად კორტაგენის შემთხვევაშიც შერჩეული იქნა ერთჯერადი თერაპიული დოზის შესაბამისი კონცენტრაცია.

ცხრილი 4.1.1

ქრომოსომული დარღვევის შემცველი უჯრედების სიხშირე საშუალო ასაკის ინდივიდთა ლიმფოციტურ კულტურებში კორტაგენის 0,01მკგ/მლ და 0,1მკგ/მლ კონცენტრაციით ზემოქმედებისას

| კონცენტრაცია | ცდის პირობები | განალიზებული მეტაფაზების რაოდენობა | უჯრედები ქრომოსომული აბერაციებით - % |
|--------------|---------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| 0,1 მკგ/მლ | კონტროლი | 300 | 1,7±0,5 |
| | კორტაგენი | 300 | 3,6±1,1 |
| 0,01 მკგ/მლ | კონტროლი | 300 | 1,7±0,5 |
| | კორტაგენი | 300 | 1,8±0,7 |

ანალიზის შედეგად აღმოჩნდა, რომ აბერანტული უჯრედების მაჩვენებელი ხანდაზმულ ინდივიდებში პეპტიდური ბიორეგულატორების ზემოქმედებისას კორტაგენის შემთხვევაში ($3,2 \pm 0,9\%$) სარწმუნოდ არ განსხვავდებოდა საკონტროლო მაჩვენებლისაგან.

ბრონხოგენის მოქმედებისას სხვაობა ხანდაზმულ ინდივიდთა აბერანტული უჯრედების მაჩვენებელსა და საკონტროლო მაჩვენებელს შორის სტატისტიკურად სარწმუნო ხასიათს ატარებდა – ($2,6 \pm 0,1\%$) (საკონტროლო მაჩვენებელი – $4,08 \pm 0,41\%$, $p < 0,001$) (სურ.4.1.1).

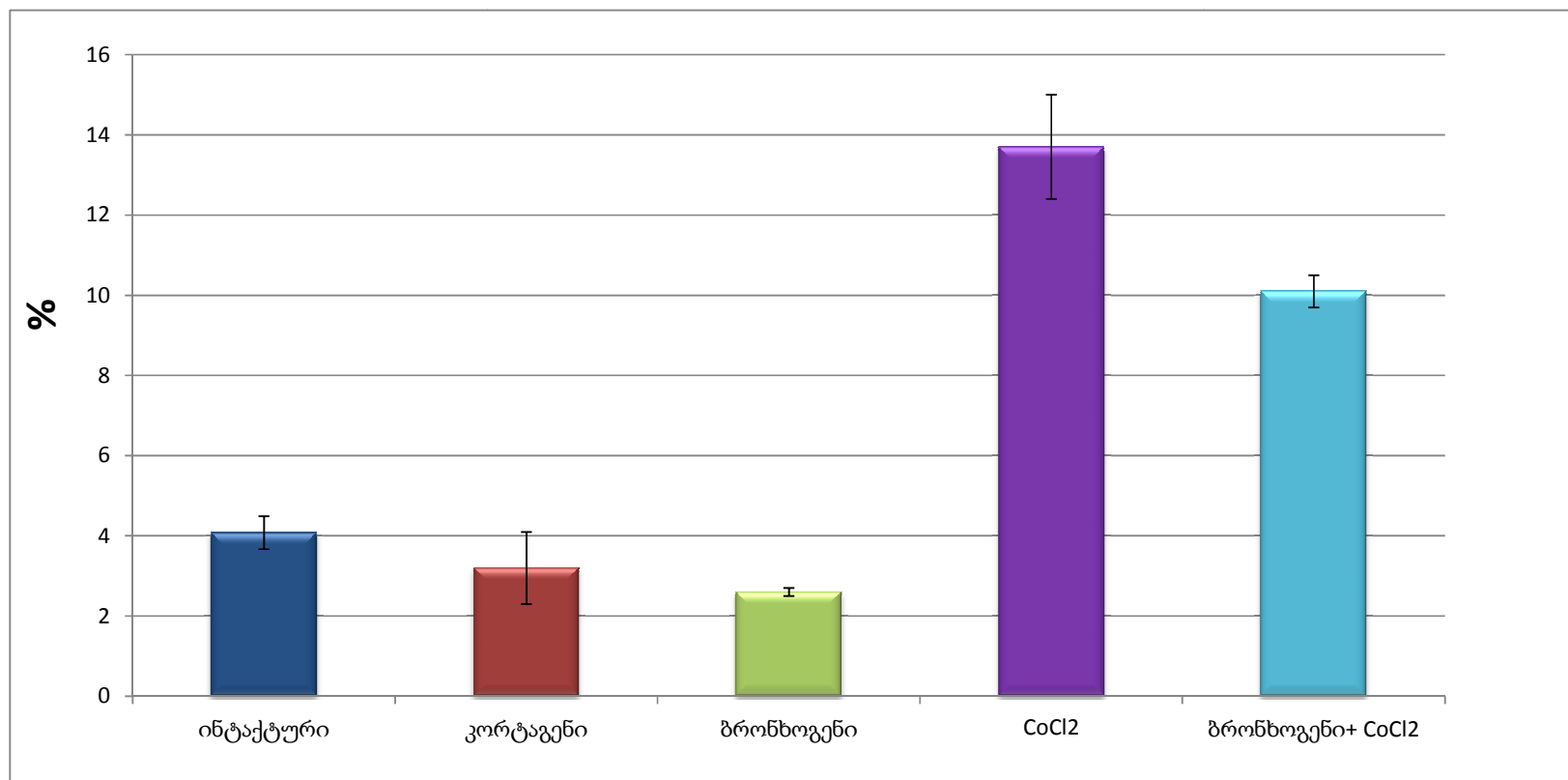
ბრონხოგენის მიერ გამოვლენილი პროტექტორული ეფექტის გამო ეს უკანასკნელი გამოიცადა კობალტთან ერთობლივი ზემოქმედების პირობებშიც. ადრე ნაჩვენები იყო (Jokhadze et al., 2008; Lezhava et al., 2011), რომ კობალტი (10^{-4} M) ხანდაზმულთა ასაკობრივ ჯგუფში საკუთარი მაღალი კლასტოგენური ეფექტით ხასიათდება. შესაბამისად, საინტერესო იყო ბრონხოგენის დამცველობითი მოქმედების შესწავლა ინდუცირებული მუტაგენეზის შემთხვევაში.

აღმოჩნდა, რომ ბრონხოგენის მოქმედებით ასევე სარწმუნოდ შემცირდა Co-ის იონებით ინდუცირებული აბერაციების შემცველი უჯრედების რაოდენობა ($13,7 \pm 1,3\%$ - Co-ის განმხოლოებული მოქმედებისას; $10,1 \pm 0,4\%$ - ბრონხოგენტან ერთად) (სურ.4.1.1). ქრომოსომათა სტრუქტურული დარღვევების სპექტრს ქმნიდა ერთეული და წყვილი ფრაგმენტები.

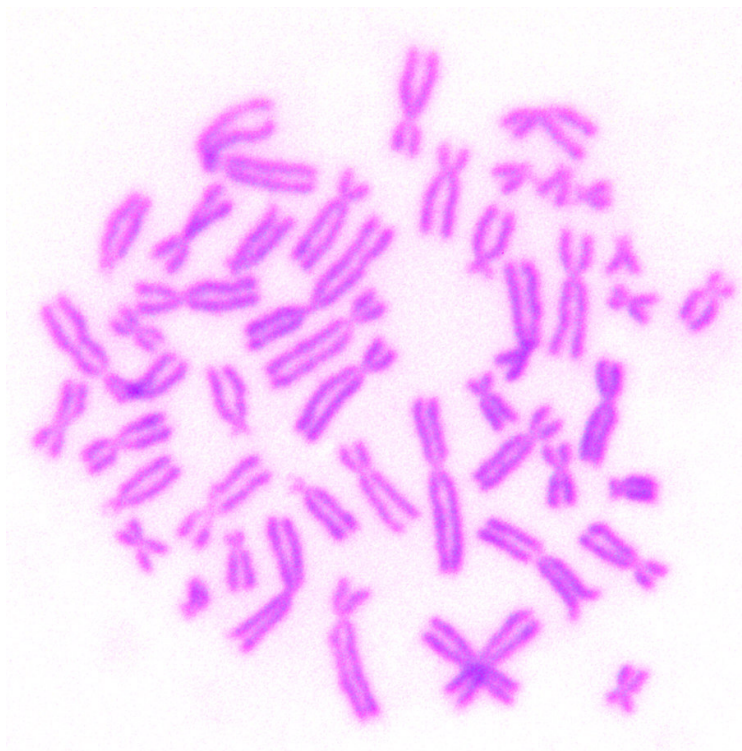
როგორც ჩვენს ცდებში დაფიქსირდა, პეპტიდური ბიორეგულატორის - ბრონხოგენის მოქმედებით მეტალით ინდუცირებული აბერაციების სიხშირე შემცირდა. ლიტერატურაში არის მონაცემები პეპტიდების ანტიმუტაგენური მოქმედების თაობაზე (Khavinson et al., 2000), თუმცა ამ ავტორთა შრომაში ბიორეგულატორები მუტაგენებით ინდუცირებული დარღვევების დონეს კი არ აქვეითებდნენ, არამედ ანტიმუტაგენურ ეფექტს ავლენდნენ ექსპერიმენტული თავგების ისეთ ხაზში, რომელიც მუტაციების მაღალი სპონტანური დოზით ხასიათდებოდა.

დღეისათვის ცნობილი ანტიმუტაგენები მაკორეგირებელ გავლენას ახდენენ უჯრედში მიმდინარე პროცესებზე, პირველ რიგში რეპარაციაზე. მუტაციების ფორმირების პროცესი დნმ-ს პირველადი დაზიანების შემდეგ მრავალ ეტაპად მიმდინარეობს და ნებისმიერ ეტაპზე შესაძლებელია მისი კორექცია, რაც ძირითადად რეპარაციულ სისტემებზე ზემოქმედებით ხორციელდება. ამდენად, რეპარაციული პროცესების ინტენსივობაზე ზემოქმედების გზების ძიებას ძალიან დიდი მნიშვნელობა ენიჭება. ამ გზების ძიებისას კი პერსპექტიულია სინთეზური პეპტიდური ბიორეგულატორების გამოყენება, რომლებიც ქრომატინის სტრუქტურის მოდიფიკაციის უნარით ხასიათდებიან.

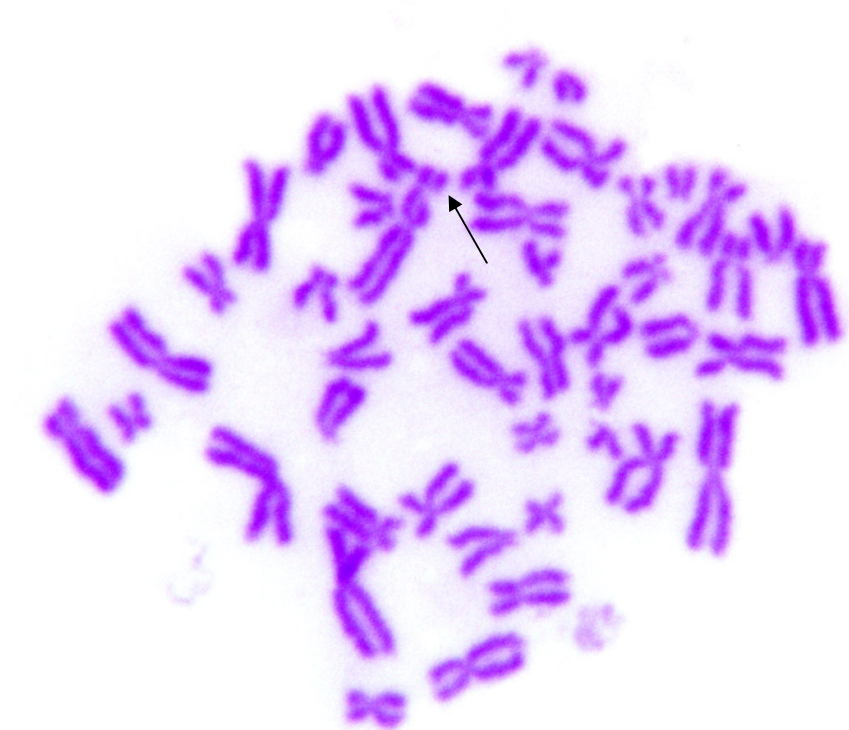
ზოგადად, ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ ასაკთან ერთად მატულობს როგორც სპონტანური, ისე ქიმიური ნაერთებით, გამოსხივებით, ჰორმონებით ინდუცირებული ქრომოსომული აბერაციების სიხშირე (Jokhadze and Lezhava, 1994; Pikalova et al., 2013). კერძოდ, ნაჩვენებია, რომ სპილენძის დამაზიანებელი ეფექტი ონტოგენეზის გვიანდელ ეტაპზე მნიშვნელოვნად იზრდება საშუალო ასაკთან შედარებით. ეს იმით აიხსნება, რომ ქრომოსომული აბერაციების ფორმირება ძირითადად ხდება ქრომოსომათა ჰეტეროქრომატულ უბნებში (Прокофьева-Бельговская, 1986), ასაკთან ერთად კი ადგილი აქვს ქრომატინის პროგრესულ ჰეტეროქრომატინიზაციას, რაც ქრომოსომული აბერაციების სიხშირის მაჩვენებელზე აისახება (Lezhava et al., 2011). მეორე მხრივ, ჰეტეროქრომატინიზებული ქრომატინი რეპარაციის ფერმენტებისათვის მიუწვდომელი ხდება და ეს გარემოებაც თავის ასახვას ქრომოსომათა აბერაციების ზრდაში ჰპოვებს. ამდენად, ბრონხოგენის მაკორეგირებელი ეფექტი ქრომატინზე მისი მამოდიფიცირებელი ეფექტით უნდა აიხსნას.



სურათი 4.1.1. ხნდაზმულ ინდივიდთა ქრომოსომული აბერაციების შემცველი უჯრედები კობალტის იონების, ბრონხოგენისა და კორტაგენის 0,01მკგ/მლ კონცენტრაციის და კობალტის იონებისა და ბრონხოგენის ერთობლივი ზემოქმედებისას ($p > 0.05$ – კორტაგენისათვის; $p < 0.001$ – ბრონხოგენისათვის)



სურათი 4.1.2 ნორმალური მეტაფაზა



სურათი 4.1.3 მეტაფაზა ქრომატიდული წყვეტით

4.2 პეპტიდური ბიორეგულატორების გავლენა რიბოსომული ცისტრონების აქტივობაზე (სინთეზური პროცესების ინტენსივობაზე) ხანდაზმულ ინდივიდებში

როგორც ცნობილია, უჯრედის ფუნქციური მდგომარეობისა და მისი დიფერენციაციის დონის მნიშვნელოვანი მახასიათებელია ბირთვაკების ზომა, ფორმა და რაოდენობა. ბირთვაკების წარმოქმნაში მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ე.წ. ბირთვაკის ორგანიზატორი, ანუ ქრომოსომის ბირთვაკმორგანიზებელი უბანი. ბირთვაკის ორგანიზატორები შეიცავენ 18S და 28S რიბოსომული რნმ-ს მაკოდირებელ ცისტრონებს და ლოკალიზებული არიან ქრომოსომათა მეორეული ჭიმის ზონებში. მათი რაოდენობა და ლოკალიზაცია სახეობასპეციფიკურ ნიშანს წარმოადგენს. როგორც უკვე აღინიშნა, ადამიანში ბირთვაკის ორგანიზატორთა ლოკალიზაციის ადგილს წარმოადგენს ათივე აკროცენტრული ქრომოსომის მოკლე მხრის მეორადი ჭიმების ზონები, ე.წ. თანამგზავრული ძაფები (Stalk). აკროცენტრული ქრომოსომები თანამგზავრული ძაფებით უკავშირდებიან ერთმანეთს - შედიან ასოციაციებში, რაც მათზე ლოკალიზებული ბირთვაკის ორგანიზატორების აქტივობის მაჩვენებელია. აქტიურ ბირთვაკის ორგანიზატორთა სიხშირე და თანამგზავრული ასოციაციები - ეს ორი ურთიერთდამოუკიდებელი პარამეტრია (Lezhava et al., 2008).

მოცემულ განაკვეთში გამოკვლეულ იქნა პეპტიდური ბიორეგულატორების - ბრონხოგენისა და კორტაგენის გავლენა აქტიურ ბირთვაკის ორგანიზატორთა სიხშირეზე და, შესაბამისად, რიბოსომული ცისტრონების აქტივობის დონეზე ხანდაზმულ ინდივიდებში.

როგორც უკვე აღინიშნა, აქტიურ ბირთვაკის ორგანიზატორთა გამოსავლენად გამოყენებულ იქნა ვერცხლით იმპრეგნაციის მეთოდი და აქტივობის შეფასება ხდებოდა მოვერცხლილი ბლოკების ზომის მიხედვით. კერძოდ, შესწავლილ იქნა აღნიშნული ბიორეგულატორების უნარი, ხანდაზმულ ინდივიდთა ლიმფოციტურ კულტურებში გამოიწვიონ ჰეტეროქრომატული უბნების დეჰეტეროქრომატინიზაცია და, შესაბამისად, სინთეზური პროცესების აქტივაცია.

75–90 წლის ინდივიდების ლიმფოციტებში მოვერცხლილი - Ag-დადებითი ბირთვაკის ორგანიზატორების აღრიცხვის შედეგები ინტაქტურ და პეპტიდური ბიორეგულატორებით დამუშავებულ კულტურებში, წარმოდგენილია ცხრილში: 4.2.1 და სურ. 4.2.1

როგორც ცხრილის მონაცემებიდან ჩანს, აკროცენტრიკების არგენტოფილურობა - Ag-დადებითი ბირთვაკის ორგანიზატორების გამოვლენის სიხშირე, იცვლება ინტაქტურ და დამუშავებულ კულტურებში. ინტაქტურ კულტურებში ერთ უჯრედზე საშუალოდ აღირიცხებოდა 5,97 აქტიური ბირთვაკის ორგანიზატორი, რაც შეესაბამება ლიტერატურაში ხანდაზმული ინდივიდებისათვის მიღებულ მაჩვენებელს (Lezhava et al., 2008). აღმოჩნდა, რომ ყველა ინდივიდში, პეპტიდური ბიორეგულატორის -

კორტაგენის მოქმედებისას, Ag-დადებითი ბირთვაკის ორგანიზატორების რაოდენობა ერთ უჯრედზე სტატისტიკურად სარწმუნოდ იზრდებოდა საკუთარ ინტაქტურ კონტროლთან შედარებით ($p < 0.001$). საშუალო მაჩვენებელმა კორტაგენით ზემოქმედებისას შეადგინა 8,3, რაც სარწმუნოდ აღემატებოდა ინტაქტურ მაჩვენებელს.

Ag-დადებითი ბირთვაკის ორგანიზატორების შემცველი ასოცირებული აკროცენტრიკების რაოდენობა კულტურაში, ერთ უჯრედზე, კორტაგენით ინდუცირებისას შეადგენს 2,25, რაც გაზრდილია როგორც ხანდაზმულ ინდივიდთა საკონტროლო (1,04), ისე საშუალო ასაკის ინტაქტური კულტურების მაჩვენებელთან შედარებით – 1,04, (ცხრ.4.2.1).

გამოთვლილ იქნა ასოციაციების საშუალო მაჩვენებელი ერთ უჯრედზე და ასოციაციების შემცველი უჯრედების სიხშირე ინტაქტურ კულტურებში და კორტაგენით ზემოქმედებისას. ამ შემთხვევაშიც აღმოჩნდა, რომ კორტაგენი ზრდის (0,97 ასოც./უჯ; $67,4 \pm 5,9$, შესაბამისად) ინტაქტური კულტურებისათვის დაფიქსირებულ ამ მაჩვენებლებს როგორც ხანდაზმულების (0,46; $42,0 \pm 4,6$), ისე საშუალო ასაკის ინდივიდებთან შედარებით (0,49; $49,2 \pm 2,2$) (ცხრ.4.2.1; 4.2.2; სურ. 4.2.2; 4.2.3; 4.2.5).

მიღებული მონაცემები მიუთითებენ კორტაგენის მკვეთრად გამოხატულ მამოდიფიცირებელ ეფექტზე, მის უნარზე, გაზარდოს როგორც ბირთვაკის ორგანიზატორთა აქტივობა, ისე ასოციაციებში მათი გაერთიანების სიხშირე. როგორც უკვე აღინიშნა, ეს ორივე მაჩვენებელი მიუთითებს უჯრედებში სინთეზური პროცესების გააქტიურებაზე კორტაგენის მოქმედებით.

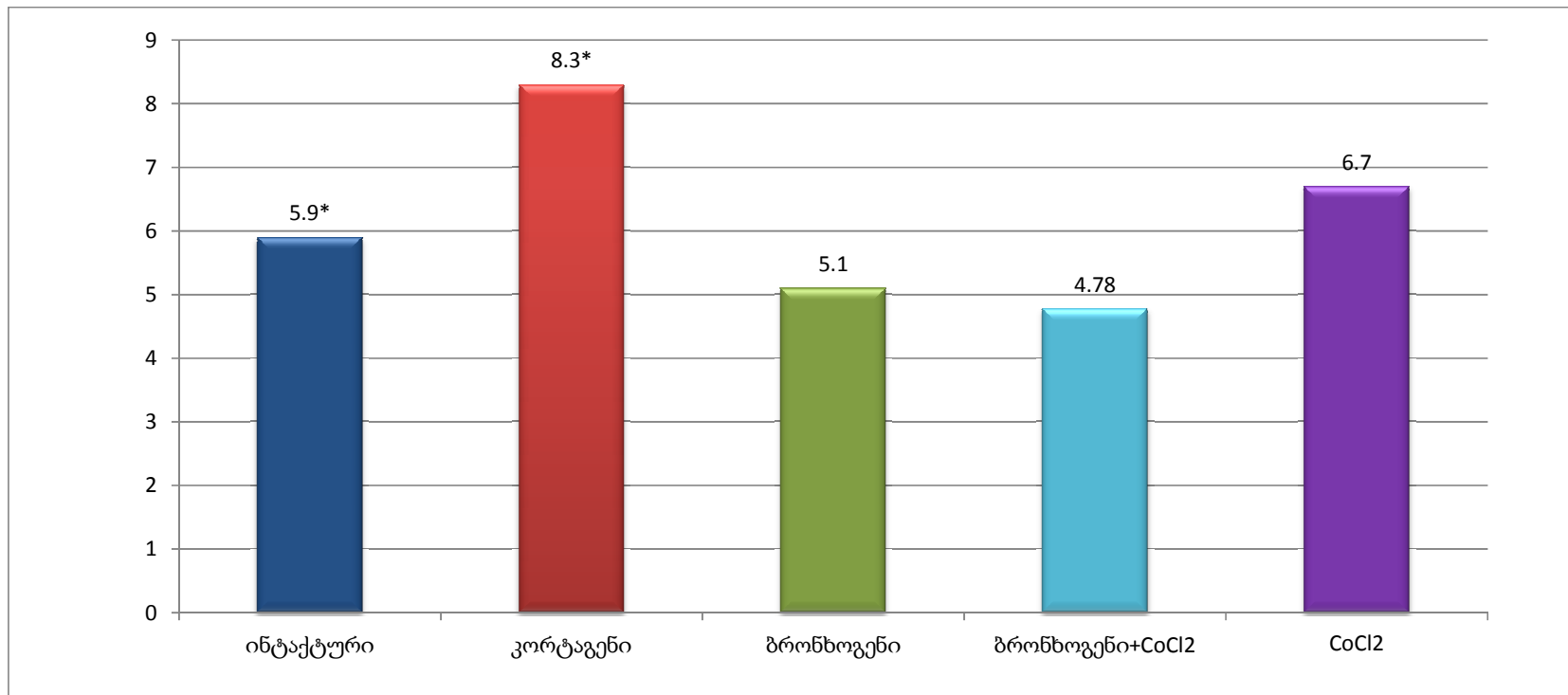
რაც შეეხება ბრონხოგენის, ასევე ბრონხოგენისა და კობალტის კომბინირებულ მოქმედებას, ამ შემთხვევაში ადგილი არ ჰქონია არც ერთი შესწავლილი პარამეტრის - აქტიური ბირთვაკის ორგანიზატორებისა და ასოციაციათა სიხშირეების ცვლილებას - ბრონხოგენით ზემოქმედებისას ერთ უჯრედზე აღირიცხებოდა 5,1, ხოლო ბრონხოგენისა და კობალტის ერთობლივი მოქმედებისას - 4,78 Ag⁺ ბირთვაკის ორგანიზატორიანი ქრომოსომა (კონტროლში - 5,9). ერთ უჯრედზე ასოცირებული აკროცენტრული ქრომოსომების რაოდენობა ბრონხოგენის განმხოლოებული და კობალტთან ერთობლივი მოქმედებისას ასევე არ იცვლებოდა ინტაქტური კულტურების მაჩვენებელთან შედარებით (1,04) და შეადგინა - 0,8 და 0,9 შესაბამისად) (ცხრ.4.2.1; 4.2.2; სურ. 4.2.1; 4.2.2; 4.2.3; 4.2.5).

შესაბამისად, მიღებული შედეგების საფუძველზე შეიძლება დავასკვნათ, რომ ტესტირებული პეპტიდური ბიორეგულატორებისათვის შესწავლილი გენომური ფუნქციური პარამეტრების მიხედვით დამახასიათებელია ეფექტის სპეციფიკურობა.

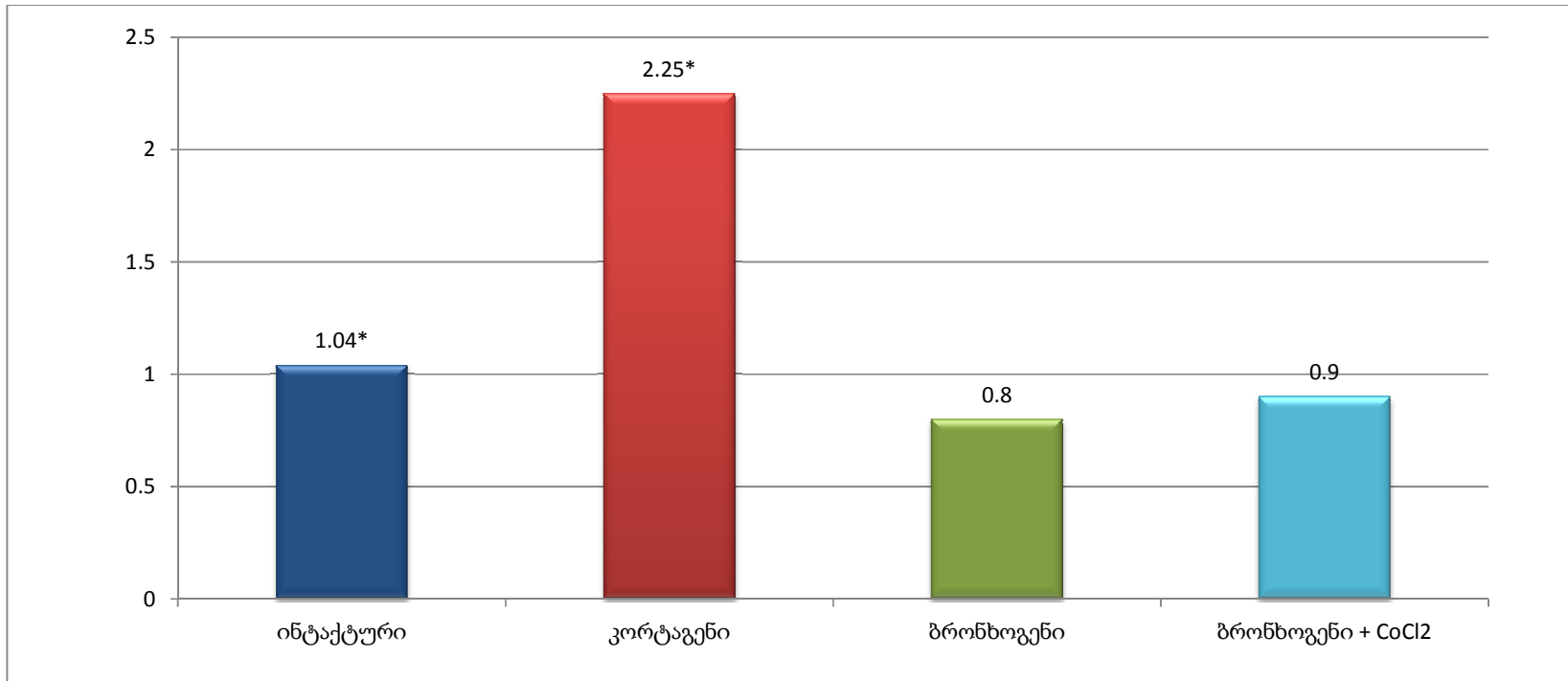
კორტაგენისა და ბრონხოგენის გავლენა ბირთვაკმაორგანიზებელი რაიონებისა და ასოციაციების სიხშირეზე ხანდაზმულ ინდივიდთა უჯრედებში

| ცდის პირობები | Ag ⁺ ქრომოს. რაოდ. უჯრედ. | <i>P</i> | ასოციაციების რაოდენობა უჯრედზე | ასოცირებული ქრომოსომების რაოდენობა უჯრედზე |
|-----------------------|--|----------|--------------------------------------|---|
| ინტაქტური | 5,97 | <0,001 | 0,46 | 1,04 |
| კორტაგენი | 8,3 | | 0,97 | 2,25 |
| ბრონხოგენი | 5,1 | <0,05 | 0,52 | 0,85 |
| Co-ის იონები | 6,7 | <0,05 | 0,68 | 2,24 |
| ბრონხ. + Co-ის იონები | 4,78 | <0,05 | 0,53 | 0,9 |

* საშუალო ასაკის ინტაქტური მაჩვენებელი: Ag⁺ ქრომოსომების რაოდენობა ერთ უჯრედზე - 6,5; ასოცირებული ქრომოსომები ერთ უჯრედზე - 1,04; ასოციაცია ერთ უჯრედზე - 0,49.



სურათი 4.2.1 აქტიური ბირთვების ორგანიზატორიანი ქრომოსომების რაოდენობა უჯრედზე - კორტაგენის, ბრონხოგენის და ბრონხოგენისა და კობალტის იონების ერთობლივი მოქმედებისას, ხანდაზმულ ინდივიდთა ლიმფოციტურ კულტურებში (* $p < 0,001$ კორტაგენისათვის, $p < 0,05$ ბრონხოგენისათვის)

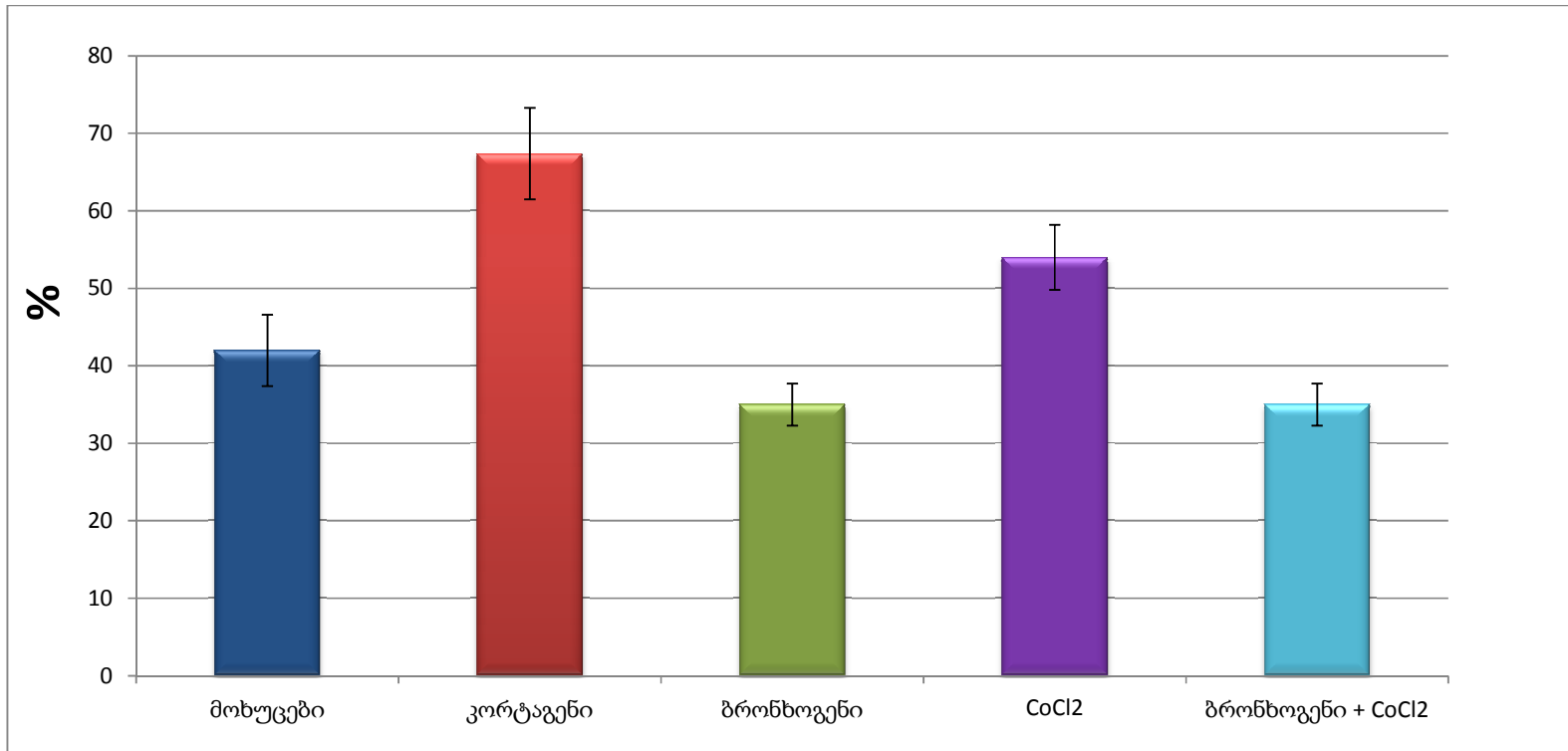


სურათი 4.2.2 აქტიური ბირთვას ორგანიზატორიანი ასოცირებული ქრომოსომების რაოდენობა ერთ უჯრედზე, კორტაგენის, ბრონხოგენის, ბრონხოგენისა და კობალტის იონების ერთობლივი მოქმედებისას, ხანდაზმულ ინდივიდთა ლიმფოციტურ კულტურებში (* $p < 0,001$)

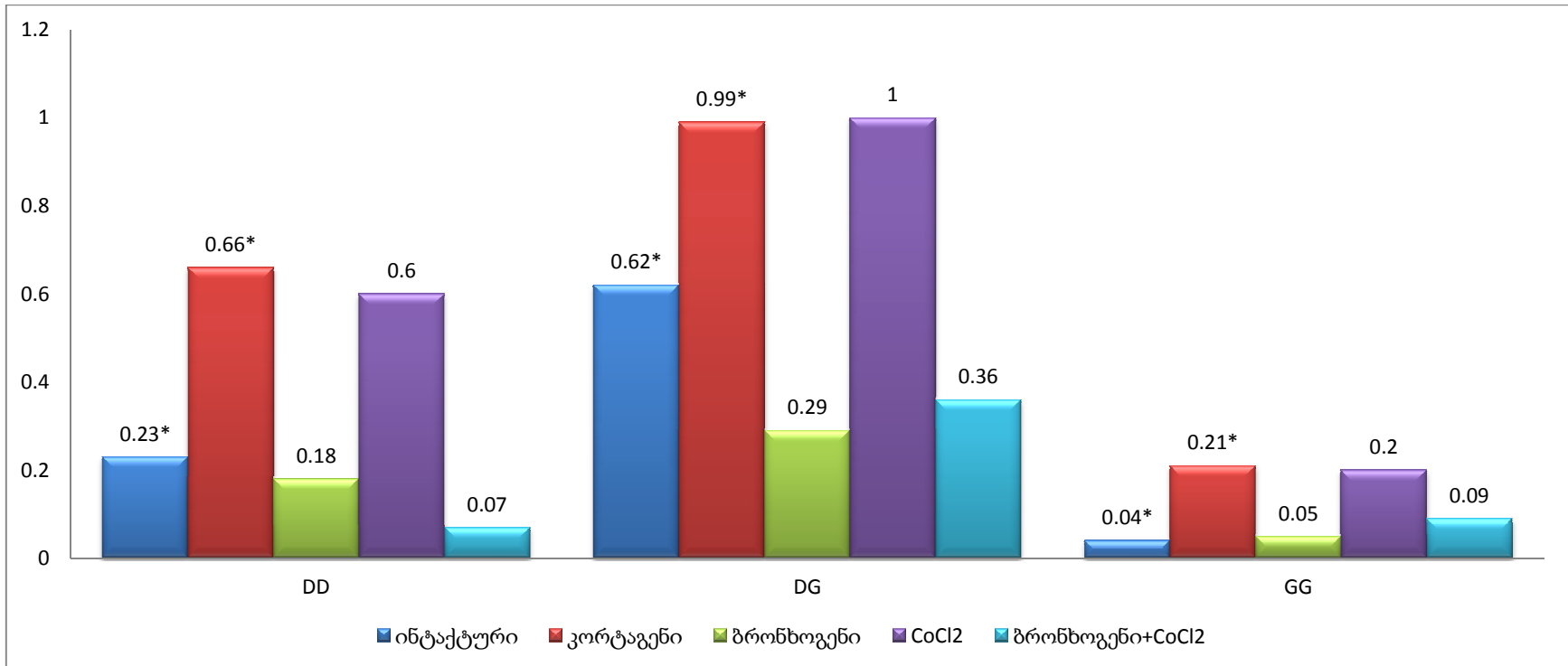
ცხრილი 4.2.2

ბიორეგულატორების – კორტაგენის, ბრონხოგენის, კობალტის იონების განმხოლოებული და ბრონხოგენისა და კობალტის იონების ერთობლივი გავლენა ხანდაზმულ ინდივიდთა აკროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაციების სიხშირეზე

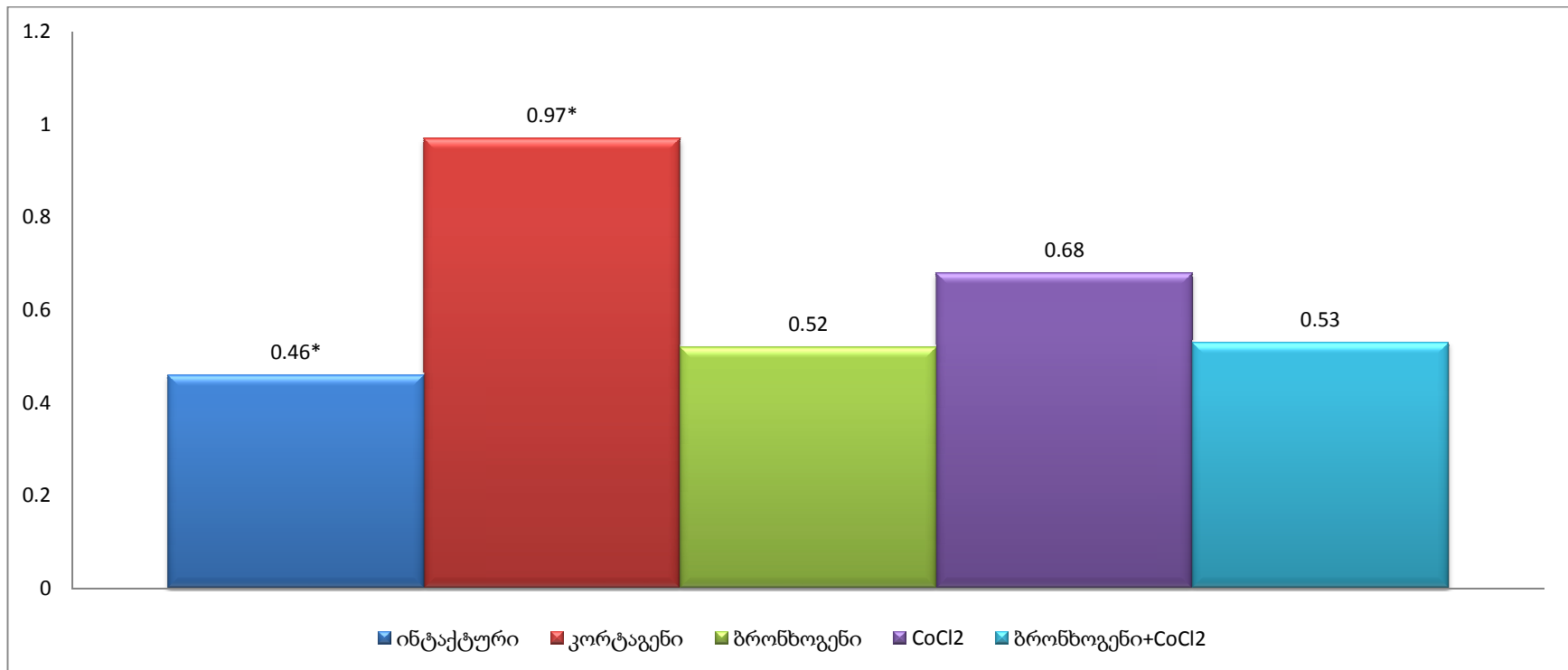
| ცდის პირობები | მეტაფაზები ასოციაციებით (%) | ასოციაციათა რაოდენობა უჯრ-ზე | ასოცირებული ქრომოსომების რაოდენობა უჯრედზე | | | | ასოციაციათა ტიპები | | |
|-----------------------|-----------------------------|------------------------------|--|------|------|------------------|--------------------|------|------|
| | | | სულ | D | G | D/G (p) | DD | DG | GG |
| კონტროლი | 42,0±4,6 | 0,46 | 1,04 | 0,64 | 0,41 | 1,56 (p>0.05) | 0,23 | 0,62 | 0,04 |
| კორტაგენი | 67,4±5,9 | 0,97 | 2,2 | 1,4 | 0,84 | 1,67 (p>0.05) | 0,66 | 0,99 | 0,21 |
| ბრონხოგენი | 35±2,7 | 0,52 | 0,85 | 0,56 | 0,29 | 1,93 p<0.001) | 0,18 | 0,29 | 0,05 |
| Co-ის იონები | 54 ±4,2 | 0,68 | 2,24 | 1,36 | 0,88 | 1,54 (p>0.05) | 0,6 | 1,0 | 0,2 |
| ბრონხ. + Co-ის იონები | 35±2,7 | 0,53 | 0,9 | 0,45 | 0,46 | 0,98_(p<0.001) | 0,07 | 0,36 | 0,09 |



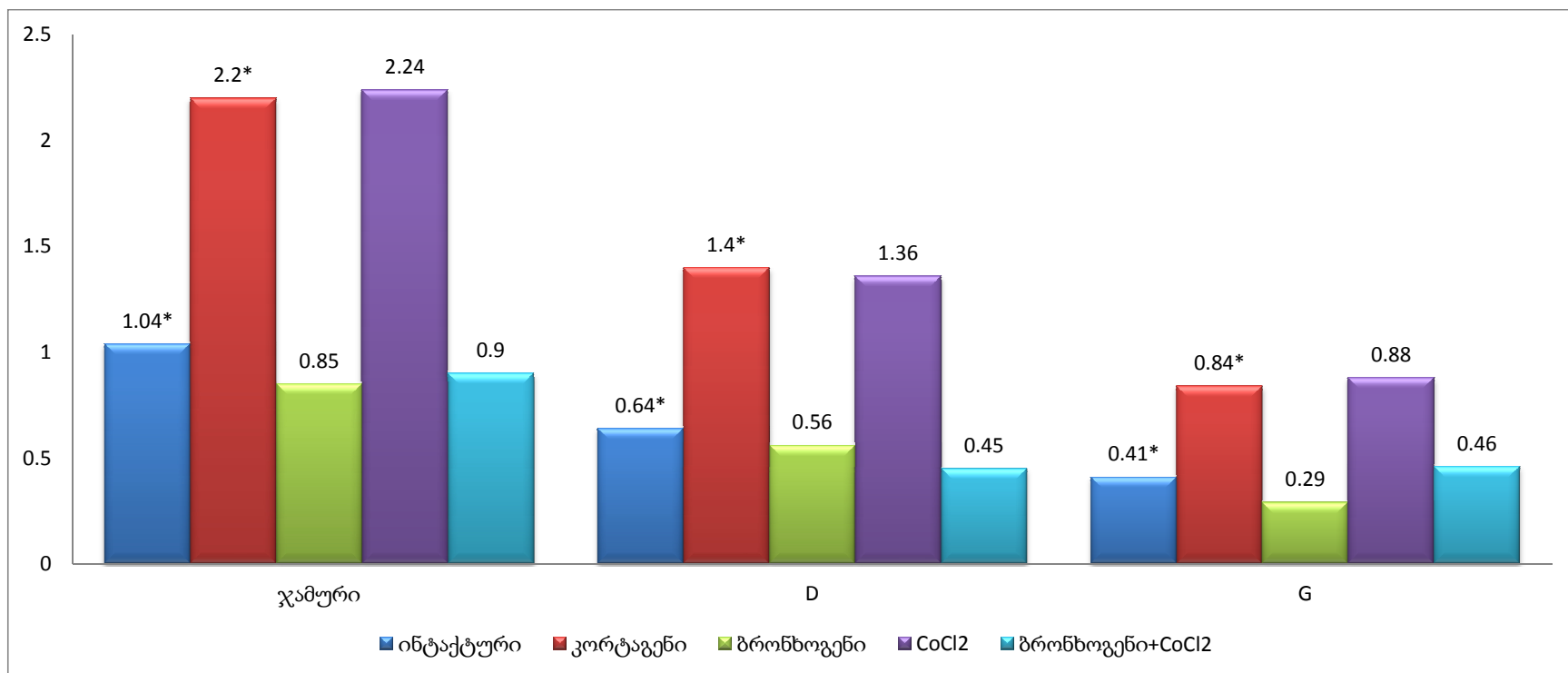
სურათი 4.2.3 ასოციაციების შემცველი მეტაფაზების პროცენტული მაჩვენებელი ხანდაზმულ ინდივიდთა ლიმფოციტურ კულტურებში, ბიორეგულატორების – ბრონხოგენისა და კორტაგენის, ასევე კობალტის იონების განმხოლოებული და ბრონხოგენისა და კობალტის იონების ერთობლივი მოქმედებისას ($p < 0,001$, კორტაგენისათვის).



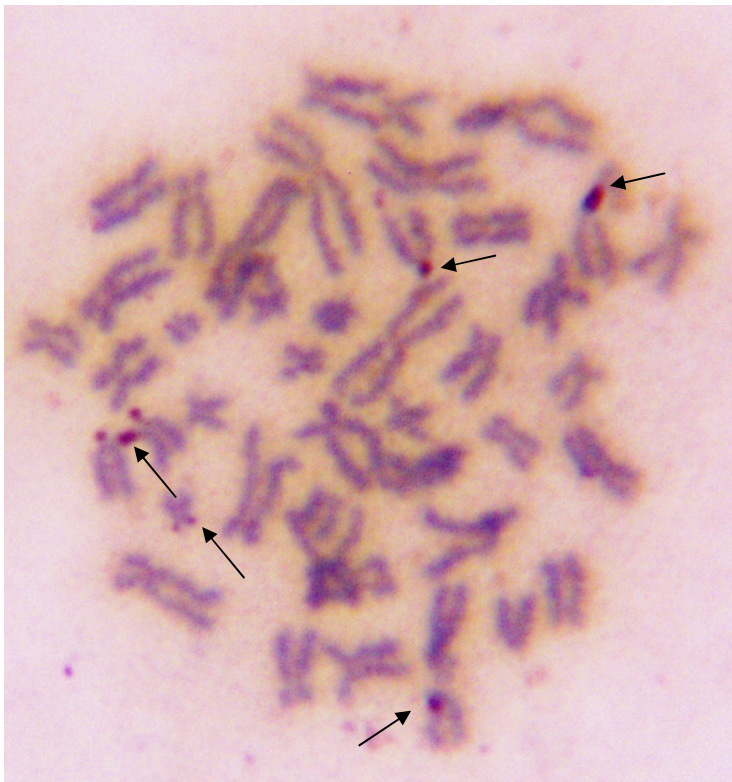
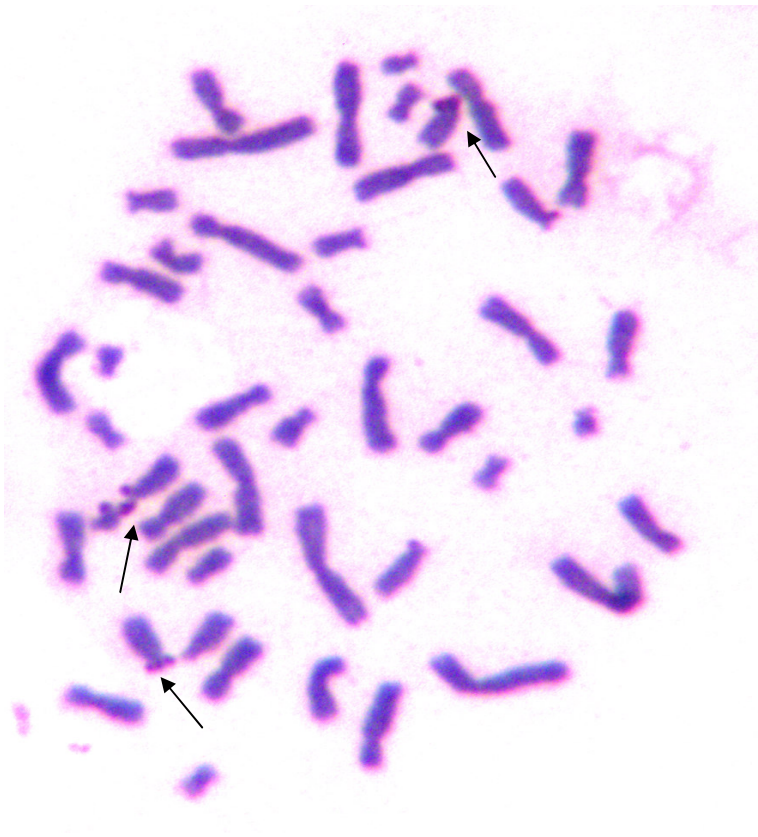
სურათი 4.2.4 ასოციაციათა ტიპების სიხშირე ერთ უჯრედზე ხანდაზმულ ინდივიდთა ლიმფოციტურ კულტურებში ბრონხოგენისა და კორტაგენის; კობალტის იონებისა და ბრონხოგენისა და კობალტის იონების ერთობლივი მოქმედებისას (* $p < 0,001$, კორტაგენისათვის).



სურათი 4.2.5 ასოციაციას რაოდენობა ერთ უჯრედზე ხანდაზმულ ინდივიდთა ლიმფოციტურ კულტურებში, ბიორეგულატორების – ბრონხოგენისა და კორტაგენის; კობალტის იონებისა და ბრონხოგენისა და კობალტის იონების ერთობლივი მოქმედებისას (* $p < 0,001$, კორტაგენისათვის).



სურათი 4.2.6 ასოცირებულ ქრომოსომათა რაოდენობა ერთ უჯრედზე ხანდაზმულ ინდივიდთა ლიმფოციტურ კულტურებში, ბრონხოგენისა და კორტაგენის; კობალტის იონების განმხოლოებული და ბრონხოგენისა და კობალტის იონების ერთობლივი მოქმედებისას (* $p < 0,001$, კორტაგენისათვის).



სურათი 4.2.7 მეტაფაზები ასოციაციებითა და ვერცხლის ჩართვებით

ბოლო წლების ლიტერატურული მონაცემები მიუთითებენ, რომ უჯრედებში ფიზიოლოგიური მდგომარეობისა და უჯრედული ჰომეოსტაზის ცვლილებისას, კერძოდ, გარკვეული პათოლოგიების შემთხვევაში იცვლება D და G ჯგუფის ქრომოსომათა ხვედრითი წილი ასოციაციების ფორმირებაში და შესაბამისად, ამ ცვლადი პარამეტრის შესწავლას დიდი ყურადღება ეთმობა (Lezhava et al., 2008) ჩვენს მიერ შესწავლილი იყო D და G ჯგუფის ქრომოსომათა თანაფარდობის ცვალებადობა პეპტიდური ბიორეგულატორებითა და მეტალით ზემოქმედებისას (ცხრ. 4.2.2; სურ. 4.2.3; 4.2.4; 4.2.6).

ინტაქტურ კულტურებში ერთ უჯრედზე ასოცირებული ქრომოსომების ჯამური რაოდენობა შეადგენდა 1.04. აქედან, ასოციაციებში მონაწილე D ჯგუფის ქრომოსომების სიხშირე ერთ უჯრედზე შეადგენდა 0,64, G ჯგუფისა - 0,41 (თანაფარდობა D და G ჯგუფის ქრომოსომების საშუალო მაჩვენებლებში 1,56-ის ტოლია, რაც გამომდინარე D და G ჯგუფის ქრომოსომების რაოდენობიდან, ნორმალური თანაფარდობის შესაბამისია). კორტაგენითა და კობალტის იონებით განმხოლოებული ზემოქმედება აღნიშნულ თანაფარდობას არსებითად არ ცვლიდა. მაშინ, როდესაც ბრონხოგენის განმხოლოებული ზემოქმედებისას აღინიშნებოდა D ჯგუფის ქრომოსომების გაზრდილი ასოციაციური აქტივობა, ხოლო ბრონხოგენითა და კობალტით ერთობლივი ზემოქმედებისას მკვეთრად გაიზარდა G ჯგუფის ქრომოსომების ასოციაციებში გაერთიანების სიხშირე (ცხრ.4.2.2; სურ.4,2,4; 4,2,6).

შესწავლილ იქნა აგრეთვე ასოციაციათა ტიპების სიხშირეები ცდების ვარიანტების მიხედვით. გამომდინარე D და G ჯგუფის ქრომოსომების არათანაბარი რაოდენობიდან, უპირატესად გვხვდებოდა შერეული ტიპის DG ასოციაციები. ერთ უჯრედზე GG ტიპის ასოციაციების მატება შეინიშნებოდა კორტაგენის მოქმედებისას, კობალტის იონების განმხოლოებული და ბრონხოგენთან ერთობლივი ზემოქმედებისას (ცხრ.4.2.2; სურ.4,2,4).

დაფიქსირებული შედეგები მიუთითებენ უჯრედებზე ჩატარებული ზემოქმედების ტიპის სპეციფიკურობაზე.

Ag-დადებითი ბირთვაკმაორგანიზებელი რეგიონები და ასოციაციები წარმოადგენენ დადებითი კორელაციის პარამეტრებს, ისინი გენეტიკურად დეტერმინირებულეზია და მონაწილეობას ეღებულობენ ბირთვაკების ფორმირებაში (Lezhava, 2001).

აკროცენტრულ ქრომოსომათა მოკლე მხართან, სადაც ლოკალიზებულია რიბოსომული დნმ, ასოცირებულია atrx გენი, რომლის პროდუქტი NF2-ჰელიკაზა/ატფ-აზას ოჯახის წევრს წარმოადგენს და ქრომატინის ფუნქციონირებასა და სტრუქტურაზე მოქმედების გზით არეგულირებს გენთა ექსპრესიას, კერძოდ, რიბოსომული ცისტრონების ექსპრესიას (mcDowell et al., 1999).

ლიტერატურული მონაცემები გვიჩვენებს, რომ ჰორმონებისა და ზოგიერთი ზრდის ფაქტორის მოქმედებისას იზრდება ბირთვაკმაორგანიზებელი რაიონების ტრანსკრიფციული აქტივობა (de Capoa et al., 1985; Мамаев и др., 1986).

ზოგიერთი შედეგი (Lezhava and Bablishvili, 2003; Khavinson et al., 2002, 2003), რომელმაც გამოავლინა Ag-დადებითი ბირთვაკის ორგანიზატორებისა და ასოციაციების სიხშირის ზრდა ხანდაზმულ ინდივიდთა ლიმფოციტარულ კულტურებში ნატრიუმის ჰიდროფოსფატისა და ბიორეგულატორების – ეპიტალონისა და ლივაგენის მოქმედებისას, ემთხვევა მოცემული სამუშაოს შედეგებს.

ადამიანის აკროცენტრული ქრომოსომების ასოციაციების სიხშირე დამოკიდებულია თანამგზავრული ძაფების კონდენსაციის ხარისხზე (ჰეტეროქრომატინიზაციაზე). D და G ჯგუფის ქრომოსომები, დაგრძელებული თანამგზავრული ძაფებით, ავლენენ ასოციაციების წარმოქმნის ძლიერ ტენდენციას. აკროცენტრიკების თანამგზავრული ძაფების სიგრძის ცვლილება (კონდენსირება–დეკონდენსირება), რიბოსომული ცისტრონების სინთეზური აქტივობის ცვლილების გამოხატულებას წარმოადგენს (Orey, 1974; Stitou et al., 2000).

გრძელ თანამგზავრულ ძაფში ფუნქციონირებს („ჩართულია“) მეტი რაოდენობით აქტიური რიბოსომული გენები და ასეთი ძაფი, ჩვეულებრივ, უფრო ხშირად შედის ასოციაციაში (Lezhava, 1999). აღნიშნულიდან გამომდინარე, კორტაგენით დამუშავებულ ხანდაზმულ ინდივიდთა ლიმფოციტარულ კულტურაში Ag-დადებითი ბირთვაკის ორგანიზატორებისა და აკროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაციების ზომებისა და რაოდენობის გაზრდა, საკუთარი კონტროლის ინტაქტურ კულტურებთან შედარებით, მიუთითებს თანამგზავრული ძაფების დეჰეტეროქრომატინიზაციაზე, რასაც თან ახლავს რიბოსომული გენების აქტივაცია და, შესაბამისად, სინთეზური პროცესების გაძლიერება.

ამგვარად, სხვაობა D და G ჯგუფის ქრომოსომათა ასოციაციურ აქტივობებს შორის, და აგრეთვე ასოციაციათა ტიპების განაწილებაში, რასაც ადგილი ჰქონდა უჯრედზე განსხვავებული ზემოქმედებისას, მიუთითებს იმაზე, რომ თანამგზავრული ძაფების დეკონდენსაციის ეპიგენეზური რეგულაციის მექანიზმი სხვადასხვა ჯგუფის ქრომოსომებისათვის განსხვავებულია - მნიშვნელოვნად არის დამოკიდებული ზემოქმედების ხასიათზე, რაც შესაბამისად, მისი მიზანმიმართული მართვის შესაძლებლობას იძლევა.

ამდენად, კორტაგენი (Ala-Glu-Asp-Pro), ხანდაზმულ ინდივიდთა ორგანიზმში, ქრომოსომული რაიონების სპეციფიკური დეჰეტეროქრომატინიზაციის შედეგად, იწვევს რიბოსომული გენების რეაქტივაციას, რაც თავის მხრივ, სინთეზური პროცესების ინტენსივობის ზრდის წინაპირობაა.

4.3 ბრონხოგენისა და კორტაგენის გავლენა ჰექტეროქრომატინიზაციის დონეზე

სამუშაოს მოცემულ განაკვეთში გამოკვლეულია პეპტიდური ბიორეგულატორების – ბრონხოგენისა (Ala-Glu-Asp-Leu) და კორტაგენის (Ala-Glu-Asp-Pro) გავლენა ხანდაზმული ინდივიდების ლიმფოციტების შემადგენლობაში არსებული ზოგადი ქრომატინის მდგომარეობის ცვლილებაზე, მისი დენატურაციის პარამეტრებზე დაკვირვების გზით. გამოკვლევები მიმდინარეობდა 75–90 წლის ინდივიდების ლიმფოციტებზე.

ქრომატინის მდგომარეობის ცვალებადობის უშუალო ინდიკატორს წარმოადგენს ქრომატინის კონდენსირებული ფრაქციების კონფორმაციული ცვლილებები უშუალოდ უჯრედების შემადგენლობაში, რისი გამოვლენის შესაძლებლობას დიფერენციული სკანირების მიკროკალორიმეტრული მეთოდი იძლევა. შესაბამისად, შრომის ამ განაკვეთში შესწავლილი იყო ბრონხოგენისა და კორტაგენის გავლენა ქრომატინის ლლობის პარამეტრების ცვალებადობაზე ხანდაზმულ ინდივიდთა უჯრედებში. აღსანიშნავია, რომ გერიატიულ პრაქტიკაში გამოყენებული სხვა პეპტიდური ბიორეგულატორებისათვის ნაჩვენებია აქტიური ქრომატინის დონის ზრდა ონტოგენეზის გვიანდელ ეტაპზე.

უჯრედების შემადგენლობაში მყოფი ქრომატინის ლლობის დინამიკა შესწავლილი პეპტიდური ბიორეგულატორებით - ბრონხოგენითა (Ala-Glu-Asp-Leu) და კორტაგენით (Ala-Glu-Asp-Pro) ზემოქმედებისას ნაჩვენებია სურათზე 4.3.1. აღნიშნულ სურათზე წარმოდგენილია შესწავლილ ინდივიდთა გასაშუალოებული ჯამური მაჩვენებლების მიხედვით აგებული კალორიმეტრული მრუდები.

წარმოდგენილი კალორიმეტრული მრუდები წარმოქმნილია ლიმფოციტარული კულტურის გაცხელების პროცესში 40–120°C ტემპერატურულ ინტერვალში. როგორც სურათიდან ჩანს, ინტაქტური ლიმფოციტარული კულტურის სითბოსშთანთქმის მრუდს გააჩნია დამოუკიდებელი პიკების საკმარისად რთული პროფილი. როგორც ზემო იყო აღნიშნული (Cavazza et al., 1991; Cardellini et al., 2000), ბირთვის შემადგენლობაში არსებული ქრომატინი დენატურირებს 74–107 °C-ის ფარგლებში. ამიტომ, მიგვაჩნია, რომ ქრომატინის დენატურაციას შეესაბამება პიკები – I, II, III (სურ. 4.3.1). ამ გადასვლების დენატურაციის პარამეტრები შემდეგია: Td(I)=82,3°C, Qd(I)=33,8 J/g; Td(II)=95°C, Qd(II)=30,2 J/g; Td(III)=106,2°C, Qd(III)=28,0 J/g.

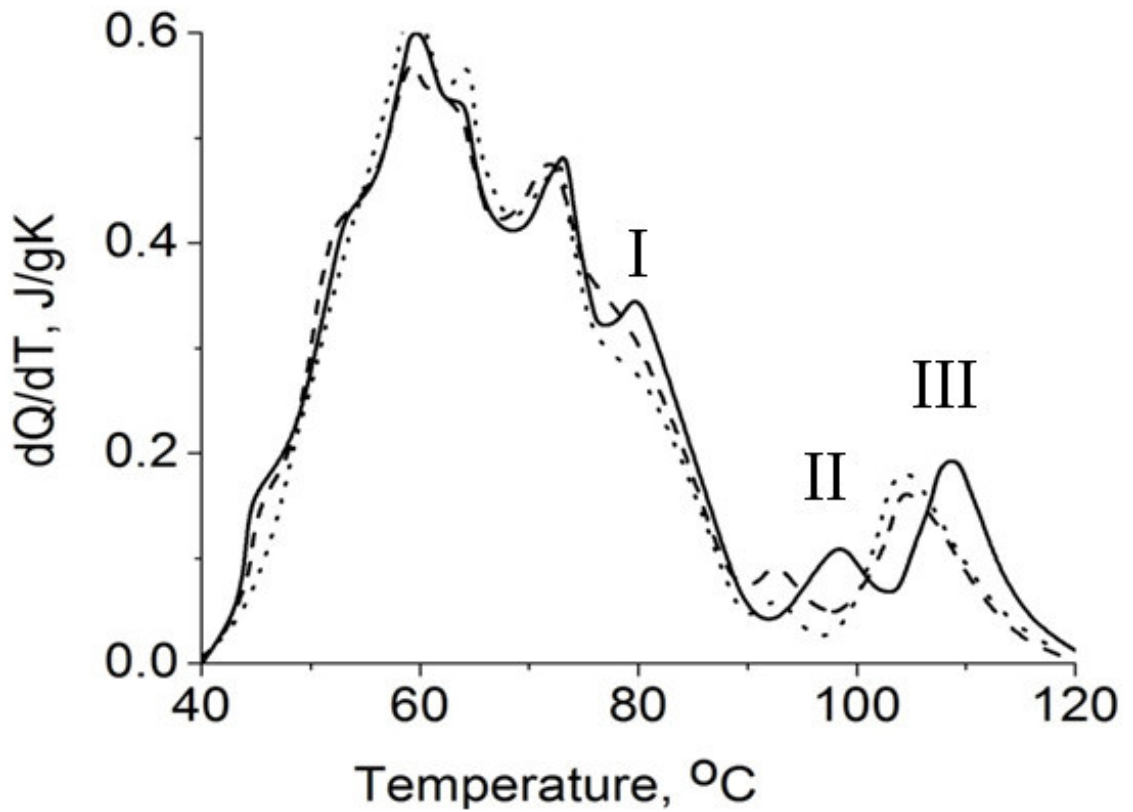
სურათზე 4.3.1 ასევე ნაჩვენებია, რომ პეპტიდების – ბრონხოგენისა და კორტაგენის დამატება ლიმფოციტარულ კულტურაში, იწვევს სითბოსშთანთქმის მრუდის პროფილის მსგავს - ერთნაირ ცვლილებას. სახელდობრ, ორივე შემთხვევაში ადგილი აქვს II და III პიკების გადანაცვლებას 2.9°C და 2.5 °C –ით.

ლიტერატურაში მიუთითებენ, რომ უჯრედებისა და უჯრედთა ბირთვების მიკროკალორიმეტრიული გამოკვლევებისას დენატურაციის პროცესი ხასიათდება სითბოს შთანთქმის ზუსტად წარმოქმნილი პიკებით (Monaselidze et al., 1981; Touchete,

Cole, 1985; Lezhava et al., 1993, Cardellini et al., 2000). ბირთვული ქრომატინისა და ხსნარებში ქრომატინის სითბური დენატურაციის მრავალრიცხოვანი ექსპერიმენტული შედეგების ანალიზის საფუძველზე ნაჩვენებია იყო, რომ მემბრანები, ციტოპლაზმური სტრუქტურები და ბირთვული ცილები დენატურირდება 40–70 °C ტემპერატურულ ინტერვალში, ხოლო ქრომატინი გაცილებით მაღალ ტემპერატურებზე – 74–107 °C (Cavazza et al., 1991; Cardellini et al., 2000). ყველა პიკის ინტენსივობა და მდებარეობა ტემპერატურულ შკალაზე დამოკიდებულია ქსოვილის ტიპზე და გარემოს (არის) შიდა პირობებზე (Monaselidze et al., 1981; Touchete, Cole, 1985). ასევე ნაჩვენებია იყო, რომ ქრომატინი, გაერთიანებული H1 ჰისტონით, კალორიმეტრიულ მრუდზე წარმოქმნის დამატებით პიკს დაახლოებით 60 °C –ზე (Fulmez, Fasman, 1979; Cardellini et al., 2000), რაც შეესაბამება H1 ჰისტონით სუსტად დაცული ნუკლეოსომათაშორისი დნმ–ის ლლობას. დეკონდენსირებული ქრომატინის (ეუქრომატინი) სითბოტევადობის მაჩვენებელი მაქსიმალურ მნიშვნელობას აღწევს ~ 66 °C –ზე, რაც სითბოს შთანთქმის ტემპერატურულ შკალაზე წარმოიქმნის პიკს. ჰეტეროქრომატინისათვის შესაბამისი მაჩვენებელი 80-ის ფარგლებში ვარიირებს. როგორც სითბოს შთანთქმის მაქსიმალური მნიშვნელობების სიდიდის ცვლილება, ისე პიკის გადანაცვლება შკალაზე ეუქრომატინისა და ჰეტეროქრომატინის თანაფარდობის ცვლილების მაჩვენებელია.

ლიტერატურულ მონაცემებზე დაყრდნობით, სავარაუდოა, რომ ჩვენს მიერ დაფიქსირებული გადანაცვლების II პიკი დაკავშირებულია 10 და 30 ნმ ფიბრილების გახსნასთან, ხოლო გადანაცვლების III პიკი – მარყუჟის გახსნასთან, რომელიც შედგება ბირთვის მატრიქსთან მიმაგრებული 30 ნმ ფიბრილებისაგან (სურ.4.3.1.)

ეს შედეგები აშკარად მიუთითებს იმას, რომ ბრონხოგენისა და კორტაგენის დამატება იწვევს ქრომატინის დეკონდენსაციას, ანუ დეჰეტეროქრომატინიზაციას, რისი შედეგიც ლოგიკურად უნდა იყოს ინაქტივირებული გენების გამოთავისუფლება, „გახსნა“.



სურ. 4.3.1 ქრომატინის სითბური მდგომარეობის მახასიათებლები ხანდაზმულ ინდივიდთა ლიმფოციტებში, ბრონხოგენისა და კორტაგენის ზემოქმედებისას. მრუდები გაანგარიშებულია ერთ გრამ მშრალ ბიომასაზე.

(სწორი ხაზი შეესაბამება ხანდაზმულ ინდივიდთა ინტაქტურ ლიმფოციტებს; წყვეტილი ხაზი – იმავე ხანდაზმულ ადამიანთა კორტაგენით დამუშავებულ ლიმფოციტებს; წერტილოვანი – ბრონხოგენით დამუშავებულს).

4.4 კორტაგენის გავლენა პერიცენტრომერულ სტრუქტურულ (C-) ჰეტეროქრომატინზე

ადრეული ლიტერატურული მონაცემები - პერიცენტრულ ჰეტეროქრომატინთან, როგორც ზოგადად ქრომატინის მდგომარეობის ცვალებადობის მახასიათებელთან დაკავშირებით გნსხვავებულია. ზოგი ავტორი მას ნეიტრალურ მაჩვენებლად მიიჩნევდა, თუმცა მოგვიანებით გაჩნდა ცნობები, რომლებიც მიუთითებენ სეგმენტების პოპულაციურ ვარიაბელობაზე და მათ კავშირზე სხვადასხვა ფენოტიპურ გამოვლინებებთან: რეპროდუქციულ ფუნქციასთან, ზოგიერთ ფიზიოლოგიურ და ანთროპოლოგიურ მაჩვენებელთან და პათოლოგიასთან (Трубникова, 2006; Стабровская, 2010; Bagatskaya and Medzanovskaya, 2011; Храпцов и др., 2012). მუთითებენ, რომ ადამიანში ქრომოსომების სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის დიფერენციალური შეღებვისას C-ბენდირების მეთოდით ფიქსირდება ჰეტეროქრომატინის ნაწილობრივი ცვლილებები, შესაბამისად, სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის პოლიმორფიზმის შესწავლა დაბერებისას ონტოგენეზში ჰეტეროქრომატინის ფუნქციონირების კანონზომიერებების თავისებურებათა შესწავლის ერთიანი პრობლემის ნაწილია.

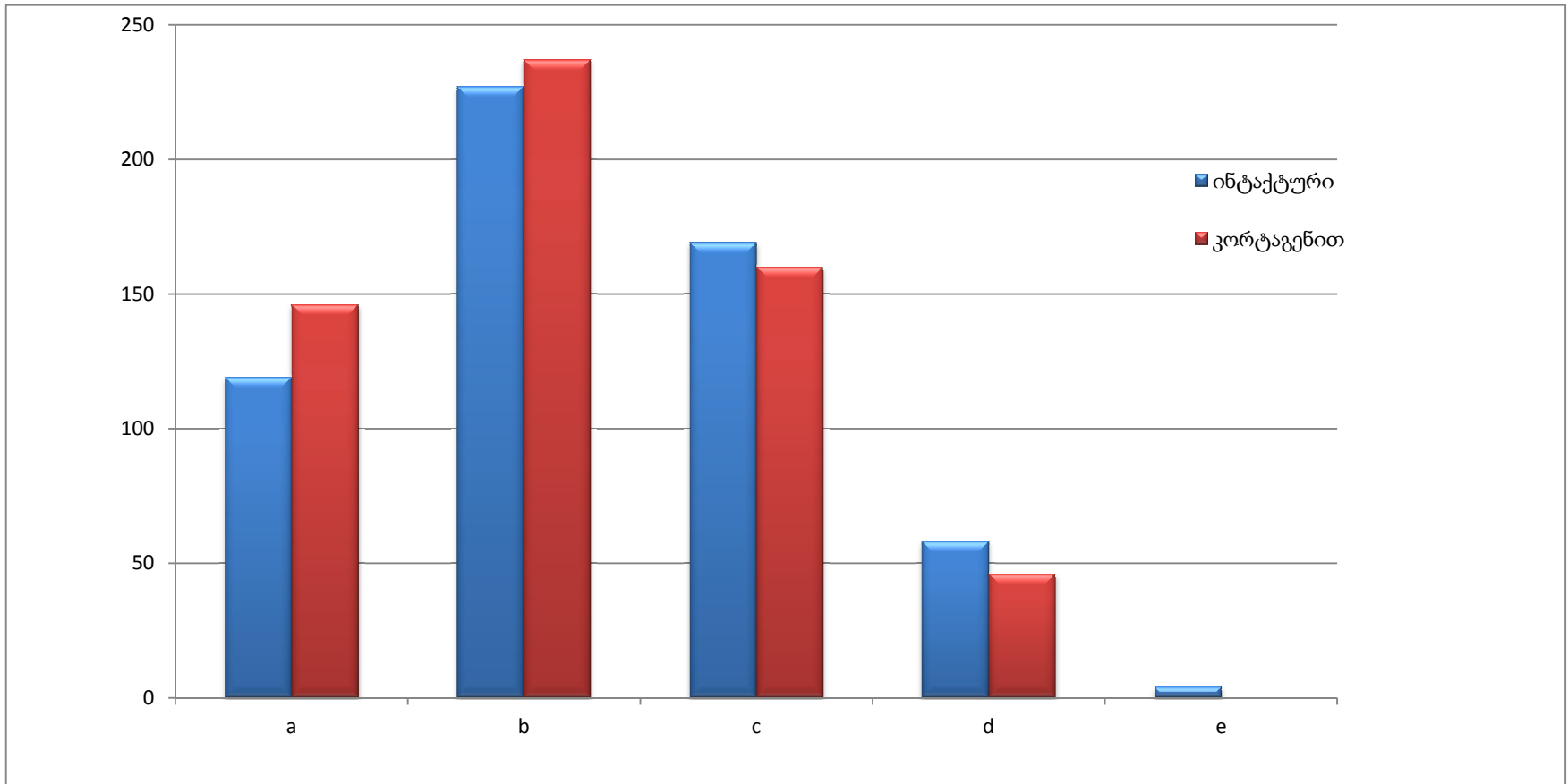
პირველ ეტაპზე ჩატარდა 1, 9 და 16 ქრომოსომების C-სეგმენტების ჯამური მონაცემების შედარებითი ანალიზი ინტაქტურ და პეპტიდური ბიორეგულატორით – კორტაგენით დამუშავებულ კულტურათა უჯრედებში. ანალიზის შედეგები სამივე წყვილი ქრომოსომის C-სეგმენტებისათვის წარმოდგენილია 4.4.1. ცხრილში.

კორტაგენის ზემოქმედებისას C-სეგმენტების დიდი ზომის d და e ვარიანტების შეხვედრის სიხშირე რამდენადმე იკლებდა ამავე ინდივიდების ინტაქტურ უჯრედების მაჩვენებელთან შედარებით, ხოლო მცირე a და b ვარიანტების სიხშირე ზრდის ტენდენციას ავლენდა (ცხრ. 4.4.1; სურ.4.4.1).

ცხრილი 4.4.1

C სეგმენტების ვარიანტების შეხვედრის სიხშირე ადამიანის პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტებში, კორტაგენის ზემოქმედებისას

| C ბუნდების ვარიანტები | v_i (ინტაქტური უჯრედები) | μ_i (კორტაგენი) | v_i/n | $\frac{v_i + \mu_i}{n + m}$ | χ^2 |
|-----------------------|-------------------------------|------------------------|---------|-----------------------------|---------------------------------|
| a | 119 | 146 | 0,2077 | 0,2281 | $\chi^2_3 = 1,75$ $p > 0,05$ |
| b | 227 | 237 | 0,3962 | 0,3993 | |
| c | 169 | 160 | 0,2949 | 0,2831 | |
| d | 58 | 46 | 0,1012 | 0,0895 | |
| e | 4 | 0 | 0 | 0 | |



სურათი 4.4.1 C სეგმენტების ვარიანტების შეხვედრის სიხშირე ადამიანის პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტებში კორტაგენის ზემოქმედებისას (ინტაქტურ და ცდის ვარიანტებს შორის სხვაობა სტატისტიკურად არასარწმუნოა, $p > 0.05$).

ცხრილი 4.4.2

C-სეგმენტების ჰეტერომორფიზმი ადამიანის 1, 9 და 16 ქრომოსომებში (ლიმფოციტურ კულტურებში) კორტაგენის ზემოქმედებისას

| ქრომოს. № | C ბენდების ვარიანტები | ν_i (ინტაქტური უჯრედები) | μ_i (კორტაგენი) | ν_i/n | $\frac{\nu_{ii} + \mu_{ii}}{n + m}$ | χ^2 |
|-----------|-----------------------|------------------------------|---------------------|-----------|-------------------------------------|---------------------------------|
| 1 | a | 21 | 24 | 0,1088 | 0,1151 | $\chi^2_3 = 1,79$ $p > 0,05$ |
| | b | 59 | 68 | 0,3057 | 0,3248 | |
| | c | 68 | 70 | 0,3523 | 0,3529 | |
| | d | 45 | 36 | 0,2332 | 0,2072 | |
| | e | 4 | 0 | 0 | 0 | |
| 9 | a | 37 | 47 | 0,1907 | 0,2159 | $\chi^2_3 = 1,94$ $p > 0,05$ |
| | b | 75 | 75 | 0,3866 | 0,3856 | |
| | c | 69 | 63 | 0,3557 | 0,3393 | |
| | d | 13 | 10 | 0,0670 | 0,0590 | |
| | e | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 16 | a | 61 | 74 | 0,3279 | 0,3560 | $\chi^2_2 = 1,52$ $p > 0,05$ |
| | b | 93 | 94 | 0,5000 | 0,4895 | |
| | c | 32 | 27 | 0,1720 | 0,1545 | |
| | d | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | e | 0 | 0 | 0 | 0 | |

ჩატარებული იყო ასევე C ბენდების ჰეტერომორფიზმის ანალიზი 1, 9 და 16-ე ქრომოსომებისთვის ცალკე-ცალკე, ინტაქტურ და ბიორეგულატორით დამუშავებულ უჯრედებში. კორტაგენის მოქმედებისას C სეგმენტების დიდი და მცირე ზომის ვარიანტები იქნა რეგისტრირებული 1, 9 და 16 ქრომოსომებზე დაახლოებით იგივე სიხშირით, როგორც ინტაქტურ უჯრედებში – სხვაობა მონაცემებს შორის სტატისტიკურად არასარწმუნო იყო ($\chi^2_3 = 1,79$; $p > 0,05$ – 1-ლი ქრომოსომისათვის, $\chi^2_3 = 1,94$; $p > 0,05$ – 9-ე და $\chi^2_2 = 1,52$; $p > 0,05$ – 16-ე ქრომოსომებისთვის (ცხრ. 4.4.2).

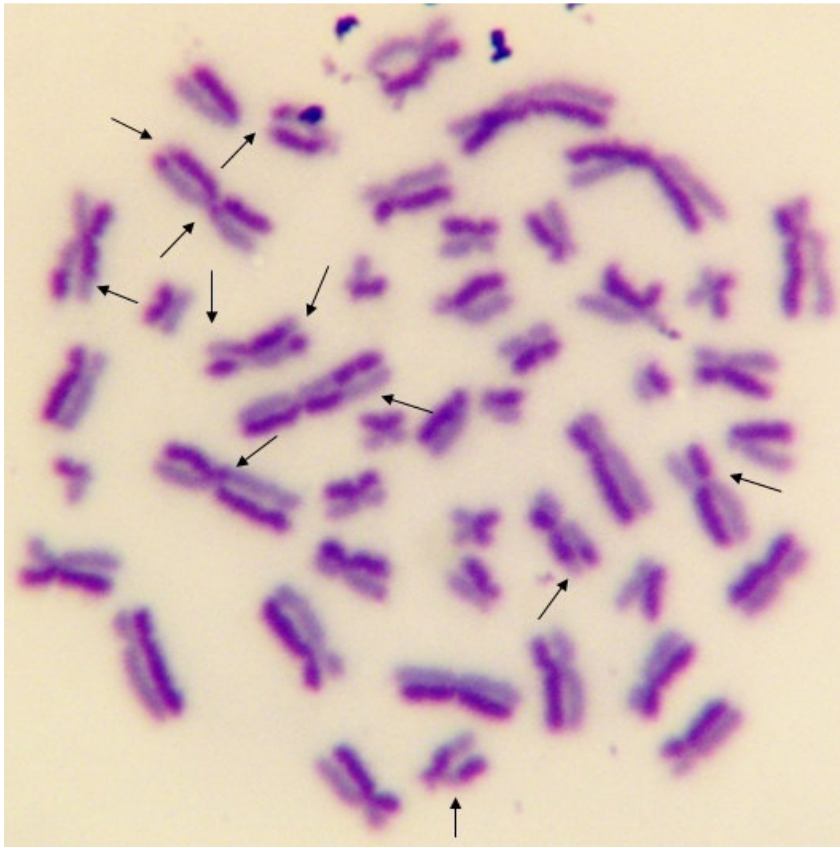
აღსანიშნავია, რომ ლიტერატურული მონაცემების თანახმად (Lezhava and Bablishvili, 2003; Khavinson et al., 2002, 2003) 16-ე ქრომოსომა გამოირჩევა შედარებითი სტაბილურობით. ჰეტეროქრომატინის C სეგმენტების ვარიანტების განაწილება მე-16 ქრომოსომაზე რჩებოდა სტაბილური ჩვენს მიერ ტესტირებული ბიორეგულატორის გამოყენების დროსაც - არ განსხვავდებოდა ინტაქტური უჯრედების ანალოგიური მაჩვენებლისაგან.

ზოგიერთი ლიტერატურული მონაცემის თანახმად ნაჩვენებია მე-9 ქრომოსომის C ჰეტეროქრომატინის აბსოლუტური და შედარებითი ზომების გამოხატული ვარიაბელობა დაბერების in vitro სისტემებში და ზოგიერთი პათოლოგიის დროს (Двалишვილი, 1989; Narayan et al., 1998). აღინიშნება ასევე პირველი ქრომოსომის C ჰეტეროქრომატინის ზომის შემცირება ნატრიუმის ჰიდროფოსფატის მოქმედებისას (Lezhava and Bablishvili, 2003), თუმცა არსებობს აგრეთვე მრავალრიცხოვანი შრომები, რომლებშიც C ჰეტეროქრომატინის ვარიაბელობა სხვადასხვა ზემოქმედების პირობებში და აგრეთვე პათოლოგიების დროსაც არ არის დაფიქსირებული და მრავალი ავტორი C ჰეტეროქრომატინის ტესტს ნეიტრალურად მიიჩნევს.

ჩვენს მიერ მიღებული შედეგების თანახმად, უჯრედულ კულტურებზე კორტაგენის ზემოქმედებისას შეინიშნება მხოლოდ C ბლოკების ზომის შემცირების ტენდენცია, ანუ ტესტირებულმა ბიორეგულატორმა არ გამოავლინა პერიცენტრული კონსტიტუციური ჰეტეროქრომატინის მოდიფიკაციის უნარი.

4.5 პეპტიდური ბიორეგულატორების გავლენა შვილეულ ქრომატიდთა შორის გაცვლებზე - ფაკულტატურ ჰეტეროქრომატინზე

როგორც მე-3 თავში იყო მითითებული, ფაკულტატური ჰეტეროქრომატინის მდგომარეობის შეფასებისათვის გამოყენებულ იქნა შვილეულ ქრომატიდთა შორის გაცვლების (შქგ) აღრიცხვის მეთოდი. როგორც ცნობილია, გაცვლები უპირატესად ფორმირდება ევქრომატულ უბნებში. შესაბამისად, გაცვლების სიხშირე და ლოკალიზაცია მიუთითებს ფაკულტატური ჰეტეროქრომატინის ცვალებადობაზე (სურ. 4.5.1).



სურათი 4.5.1 მეტაფაზა შვილეულ ქრომატიდათაშორისი გაცვლებით

მიღებულია, რომ შქგ სომატური რეკომბინაციის მაჩვენებელია და წარმოადგენს ფიზიოლოგიურ ტესტს - მიუთითებს უჯრედული ჰომეოსტაზის ცვლილებებზე. შქგ-ს სიხშირე მგრძობიარედ რეაგირებს სხვადასხვა ენდოგენური და ეგზოგენური ფაქტორების ზემოქმედებაზე.

შრომის მოცემულ განაკვეთში შესწავლილ იქნა შქგ-ს განაწილებისა და სიხშირის ცვალებადობა ინტაქტურ და პეპტიდური ბიორეგულატორებით (ბრონხოგენითა და კორტაგენით) დამუშავებულ ლიმფოციტურ კულტურათა უჯრედებში (75–90 წლის ინდივიდთა კულტურები). გამომდინარე იქიდან, რომ ამ მაჩვენებლისათვის დამახასიათებელია ინდივიდათაშორისი ვარიაბელობა, თითოეული ნივთიერების ტესტირების შედეგები შედარებულ იქნა საკუთარ კონტროლთან.

ყველა შემთხვევაში ანალიზდებოდა მეტაფაზები კარგად გაშლილი და მკვეთრად დიფერენცირებადი ქრომატიდებიანი ქრომოსომებით. რადგან ინდივიდების მიხედვით შქგ-ს სიხშირის საშუალო მაჩვენებლები არ განსხვავდებოდა, ცხრილებში და სურათებზე მოყვანილია ჯამური გასაშუალოებული რიცხვები.

ანალიზის შედეგები ასახულია ცხრ. 4.5.1; 4.5.2; 4.5.3. აღმოჩნდა, რომ შქგ-ს სიხშირე კორტაგენით დამუშავებულ კულტურებში საშუალოდ შეადგენდა $10,1 \pm 0,3$ გაცვლას

ერთ უჯრედზე, ამავე დონორების ინტაქტურ კულტურებში კი $5,9 \pm 0,4$ გაცვლას უჯრედზე. განსხვავება შედარებულ სიდიდეებს შორის სარწმუნოა ($t=11,9$; $p<0,001$). (ცხრ. 4.5.1; სურ. 4.5.2).

ბრონხოგენის შემთხვევაში ქრომატიდთაშორისი გაცვლების სიხშირის მაჩვენებელი ($6 \pm 0,2$ გაც./უჯრ.) არ შეცვლილა (ინტაქტური კულტურების მაჩვენებელი - $5,9 \pm 0,4$ გაც./უჯრ.). კობალტის იონებისათვის ასევე არ დაფიქსირებულა მამოდიფიცირებელი მოქმედება. ამ შემთხვევაში ერთ უჯრედზე საშუალოდ $6,2 \pm 0,36$ გაცვლა ფიქსირდებოდა. ანალოგიური სურათი შეინიშნებოდა ბრონხოგენისა და კობალტის იონების კომბინირებული მოქმედებისას ($6,4 \pm 0,08$ გაც./უჯრ.) (ცხრ. 4.5.1; სურ. 4.5.2).

მიღებული შედეგები ერთი მხრივ, მიუთითებენ იმაზე, რომ შესწავლილი აგენტები გავლენას არ ახდენენ ფაკულტატური ჰეტეროქრომატინის ზოგად შემცველობაზე, და მეორე მხრივ, შესაბამისად, არ ცვლიან სომატური რეკომბინაციის სიხშირეს უჯრედებში.

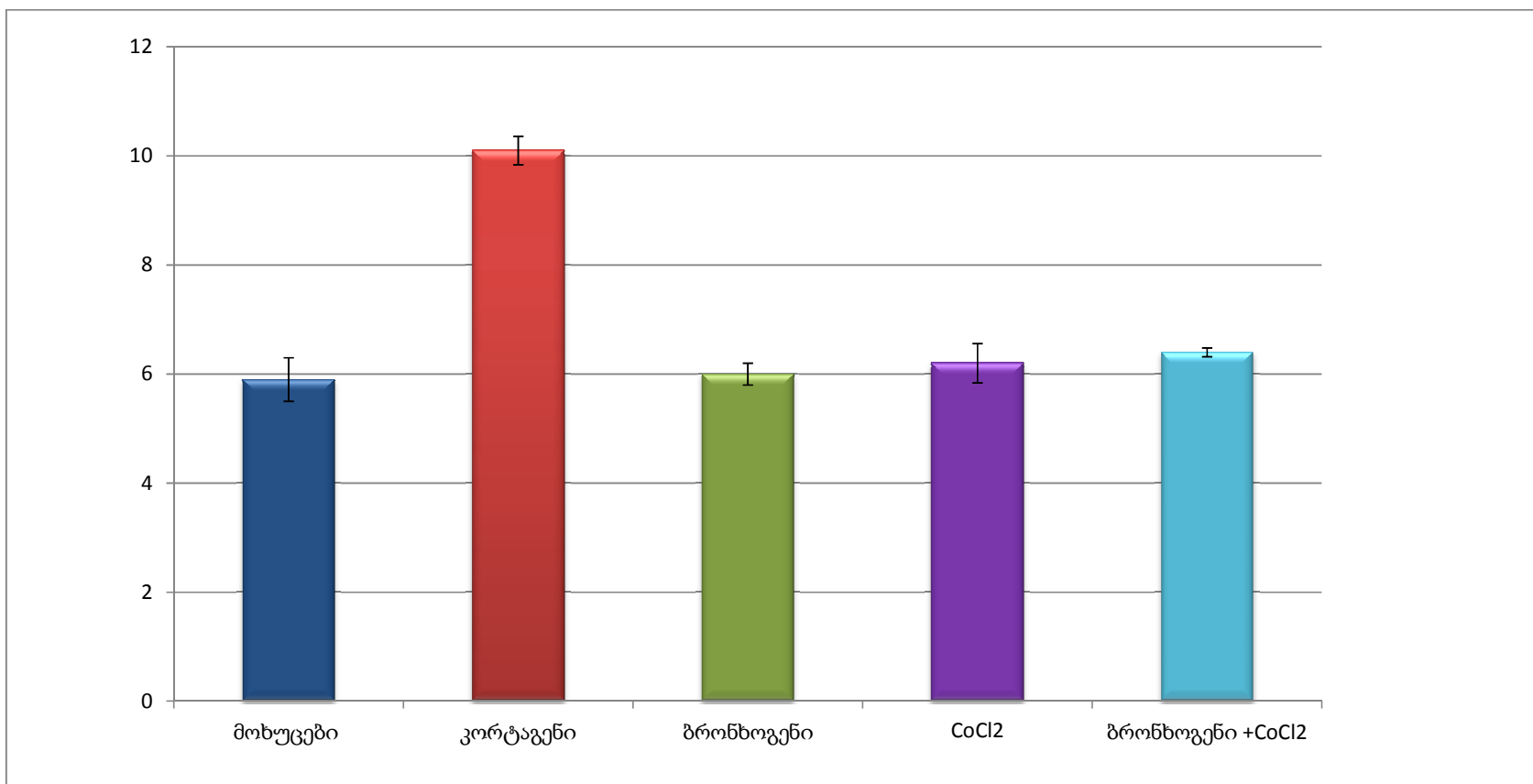
ცხრილი 4.5.1

ბიორეგულატორების – ბრონხოგენისა და კორტაგენის განმხოლოებული და ბრონხოგენისა და კობალტის იონების ერთობლივი გავლენა შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლების სიხშირეზე ხანდაზმულ ინდივიდებში

| ცდის პირობები | შქგ-ს რაოდენობა ერთ უჯრედზე |
|-----------------------|-----------------------------|
| ინტაქტური | $5,9 \pm 0,4$ |
| კორტაგენი | $10,1 \pm 0,26$ * |
| ბრონხოგენი | $6 \pm 0,2$ |
| ბრონხოგენი + $CoCl_2$ | $6,4 \pm 0,08$ |
| $CoCl_2$ | $6,2 \pm 0,36$ |

*სხვაობა ინტაქტურ კულტურებთან შედარებით სტატისტიკურად სარწმუნოა ($t=11,9$; $p<0,001$);

** საშუალო ასაკის 10 ინდივიდის ლიმფოციტთა კულტურაში შქგ-ს რაოდენობა უჯრედზე შეესაბამება $7,73 \pm 0,55$ (საშუალო ასაკის საკონტროლო მაჩვენებელი).

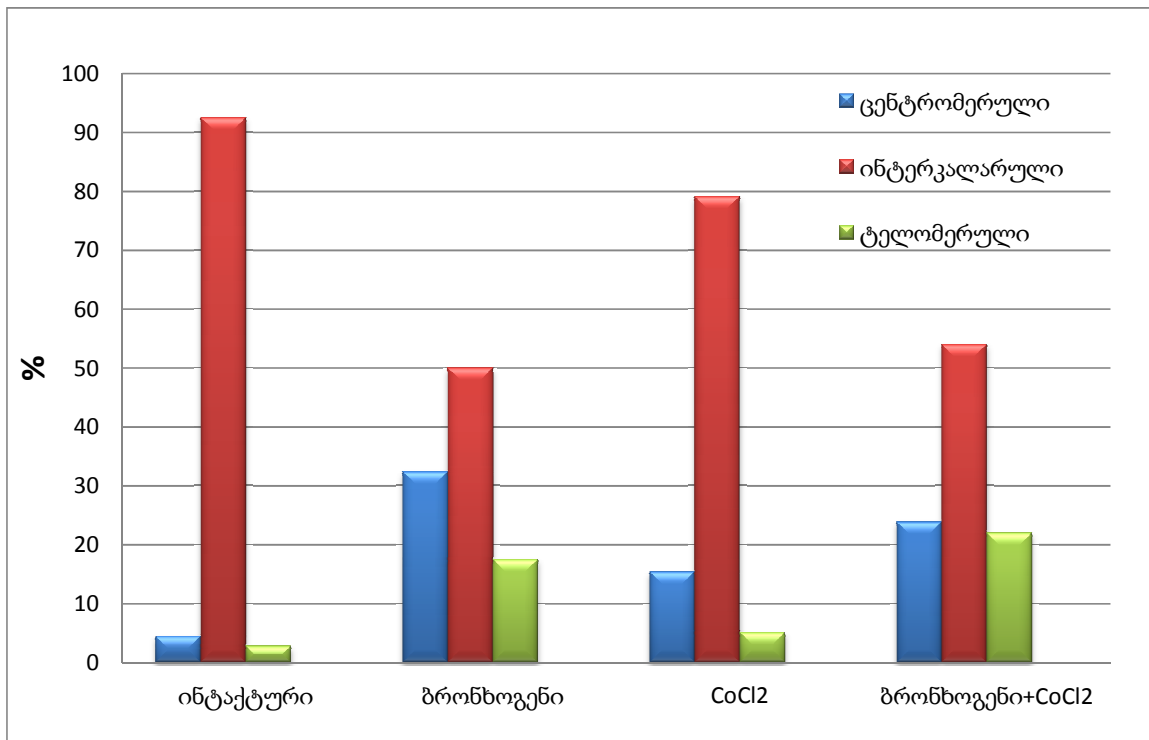


სურათი 4.5.2 შვილეულ ქრომატიდაშორისი გაცვლების რაოდენობა ერთ უჯრედზე, ხანდაზმულ ინდივიდთა ლიმფოციტურ კულტურებში ბიორეგულატორების – ბრონხოგენისა და კორტაგენის განმხოლოებული და ბრონხოგენისა და კობალტის იონების ერთობლივი მოქმედებისას ($p < 0.001$, კორტაგენისათვის).

ცხრილი 4.5.2

შქგ-ს ლოკალიზაცია ხანდაზმულ ინდივიდთა უჯრედებში ბიორეგულატორის – ბრონხოგენის განმხოლოებული და ბრონხოგენისა და კობალტის იონების ერთობლივი ზემოქმედებისას.

| ცდის პირობები | შვილელ ქრომატიდაშორის რეკომბინაციის ტიპები (%) | | |
|--------------------------------|--|---------------|------------|
| | ცენტრომერული | ინტერკალარული | ტელომერული |
| ინტაქტური | 4,5 | 92,5 | 2,8 |
| ბრონხოგენი | 32,4 | 50 | 17,5 |
| CoCl ₂ | 15,4 | 79,1 | 5,12 |
| ბრონხოგენი + CoCl ₂ | 23,9 | 54 | 22 |



სურათი 4.5.3 შქგ-ს ტიპები ხანდაზმულ ინდივიდთა უჯრედებში ბიორეგულატორის – ბრონხოგენის განმხოლოებული და ბრონხოგენისა და კობალტის იონების ერთობლივი ზემოქმედებისას ($p < 0.001$ - ბრონხოგენისათვის).

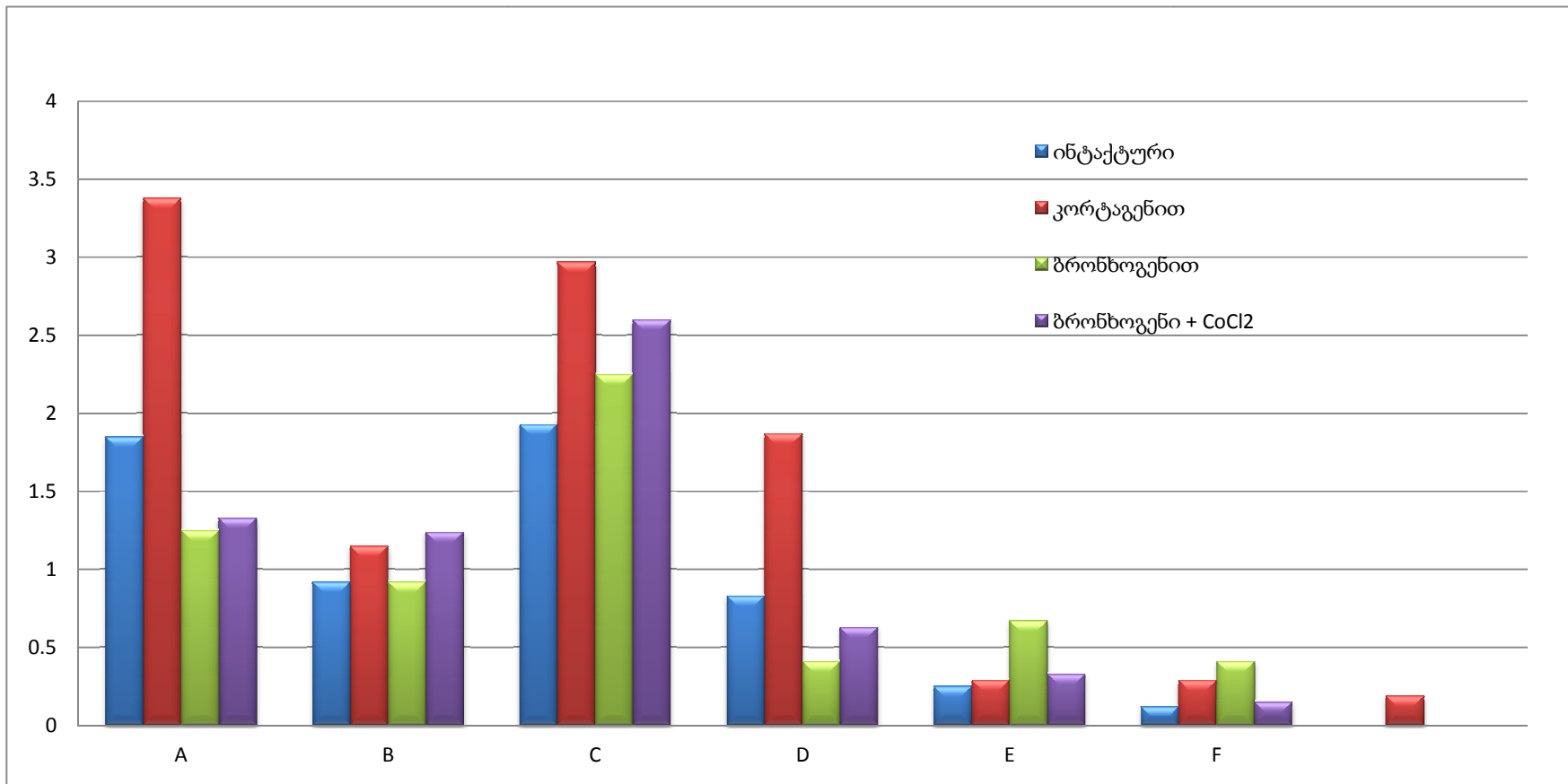
ჩვენს მიერ დიფერენციული სკანირების მიკროკალომეტრული მეთოდის გამოყენებით დადგენილ იქნა, რომ ორივე ტესტირებული ბიორეგულატორი იწვევდა ზოგადად ქრომატინის დეკონდენსაციას - დეჰეტეროქრომატინიზაციას. შქგ ტესტი საშუალებას იძლევა განისაზღვროს ქრომატინის დეკონდენსაციის ზონები. როგორც უკვე აღინიშნა, გაცვლები ფორმირდება ევქრომატინში. შესაბამისად, გაცვლების ლოკალიზაციის მიხედვით შესაძლებელი ხდება დეკონდენსაციის უბნების გამოვლენა. ამდენად, შემდეგ ეტაპზე ჩვენს მიერ განსაზღვრულ იქნა შქგ-ს მდებარეობა ქრომოსომებზე ინტაქტურ და პეპტიდური ბიორეგულატორებით დამუშავებულ ხანდაზმულ ინდივიდთა კულტურებში. კერძოდ, აღირიცხებოდა ცენტრომეროსთან და ტელომეროსთან მიმდებარე და ინეტერკალარული (ანუ მედიალური) გაცვლები.

აღმოჩნდა, რომ შქგ-ს ზოგადი სიხშირის უცვლელობის ფონზე საინტერესო სურათი გამოვლინდა სხვადასხვა ლოკალიზაციის გაცვლების ცვალებადობის შესწავლისას ბიორეგულატორის - ბრონხოგენის განმხოლოებული და კობალტის იონებთან კომბინირებული მოქმედების დროს. მოხდა გაცვლების გადანაწილება - კერძოდ, გაიზარდა ტელომერული (17,5% - ბრონხოგენის და 22% - ბრონხ.+კობალტის შემთხვევაში; კონტროლი - 2,8%) და ცენტრომერული (32,4% - ბრონხოგენის და 23,9% - ბრონხ.+კობალტის შემთხვევაში; კონტროლი - 4,5%) გაცვლების სიხშირე (ცხრ. 4.5.2; სურ.4.5.3). კობალტის იონებით განმხოლოებული მოქმედებისას კი სხვადასხვა ლოკალიზაციის გაცვლების სიხშირე ფაქტობრივად არ განსხვავდებოდა ინტაქტური კულტურების მაჩვენებლისაგან. შესაბამისად, დასაშვებია რომ ბრონხოგენ-კობალტის ერთობლივი მოქმედებისას დაფიქსირებული მამოდიფიცირებელი ეფექტის ფორმირებაში ძირითად როლს ბრონხოგენი ასრულებს. მიღებული შედეგები საფუძველს გვაძლევს დავასკვნათ, რომ ბრონხოგენის მოქმედება ქრომატინზე სპეციფიკურ ხასიათს ატარებს და მას გააჩინა საკუთარი სპეციფიკური სამიზნე.

შესწავლილ იქნა აგრეთვე შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლების განაწილება ქრომოსომათა ცალკეული ჯგუფების მიხედვით. აღმოჩნდა, რომ ინტაქტურ უჯრედებში გაცვლები უპირატესად რეგისტრირდებოდა A და C ჯგუფის ქრომოსომებზე და გაცილებით მცირე რაოდენობა აღირიცხებოდა F ჯგუფის ქრომოსომებზე, რაც სრულ შესაბამისობაშია ლიტერატურულ მონაცემებთან (ცხრ. 4.5.3; სურ. 4.5.4).

შქგ-ს განაწილება ქრომოსომებზე ხანდაზმულ ინდივიდთა უჯრედებში ბიორეგულატორების – ბრონხოგენისა და კორტაგენის განმხილვით და ბრონხოგენისა და კობალტის იონების ერთობლივი ზემოქმედებისას.

| ქრომოსომები | შქგ-ს განაწილება ქრომოსომულ ჯგუფებში (ერთ უჯრედზე) | | | |
|-------------|--|----------------------------------|-----------------------------------|---|
| | ინტაქტურ უჯრედებში | კორტაგენით დამუშავებულ უჯრედებში | ბრონხოგენით დამუშავებულ უჯრედებში | ბრონხოგენითა და CoCl_2 -ით დამუშავებულ უჯრედებში |
| A | 1,85±0,11 | 3,38±0,15 | 1,25±0,3 | 1,33±0,2 |
| B | 0,92±0,08 | 1,15±0,09 | 0,95±0,2 | 1,24±0,19 |
| C | 1,93±0,11 | 2,97±0,14 | 2,25±0,4 | 2,6±0,28 |
| D | 0,83±0,07 | 1,87±0,11 | 0,41±0,18 | 0,63±0,1 |
| E | 0,25±0,04 | 0,29±0,04 | 0,67±0,2 | 1,33±0,1 |
| F | 0,12±0,03 | 0,29±0,04 | 0,41±0,18 | 0,15±0,06 |
| G | 0,26±0,04 | 0,19±0,04 | 0,08±0,08 | 0,09±0,05 |



სურათი 4.5.4 შქგ-ს განაწილება ქრომოსომებზე ხანდაზმულ ინდივიდთა უჯრედებში ბიორეგულატორების – ბრონხოგენისა და კორტაგენის განმხოლოებული და ბრონხოგენისა და კობალტის იონების ერთობლივი ზემოქმედებისას.

კორტაგენის ზემოქმედებისას გაცვლების რაოდენობა სარწმუნოდ გაიზარდა A, C და D ჯგუფის ქრომოსომებში ($p < 0,001$). მისი მოქმედებისას ცდისა და საკონტროლო მაჩვენებლებს შორის სტატისტიკურად არასარწმუნო განსხვავება იყო B, E, F და G ჯგუფის ქრომოსომებისათვის. რაც შეეხება ბრონხოგენის მოქმედებას, აქ შქგ-ს მატებას ადგილი ჰქონდა E და F ჯგუფის ქრომოსომებზე (ცხრ. 4.5.3; სურ.4.5.3).

შედეგები გვიჩვენებენ, რომ შესწავლილი პეპტიდური ბიორეგულატორი – კორტაგენი იწვევს შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლებისა და სომატური რეკომბინაციის სიხშირის ერთმნიშვნელოვან მატებას ხანდაზმულ ინდივიდთა უჯრედებში ინტაქტური უჯრედების საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით. ლიტერატურული მონაცემების თანახმად, ქრომოსომათა ჰეტეროქრომატინულ რაიონებში გაცვლითი პროცესები არ მიმდინარეობს (Прокофьева-Бельговская, 1986; Hawley and Arbel, 1993; Лонгов и Подгорная, 1999), შქგ უმეტესწილად ფორმირდება ევქრომატულ რაიონებში. ჩვენს მიერ გამოვლენილი სურათი შქგ–ს მაჩვენებლის გაზრდისა, უნდა მიუთითებდეს დაბერების პროცესში ქრომოსომის ჰეტეროქრომატინიზებული ევქრომატული რაიონების გაძლიერებულ დეჰეტეროქრომატინიზაციაზე, რაც პეპტიდური ბიორეგულატორის – კორტაგენის ეფექტს მიეწერება.

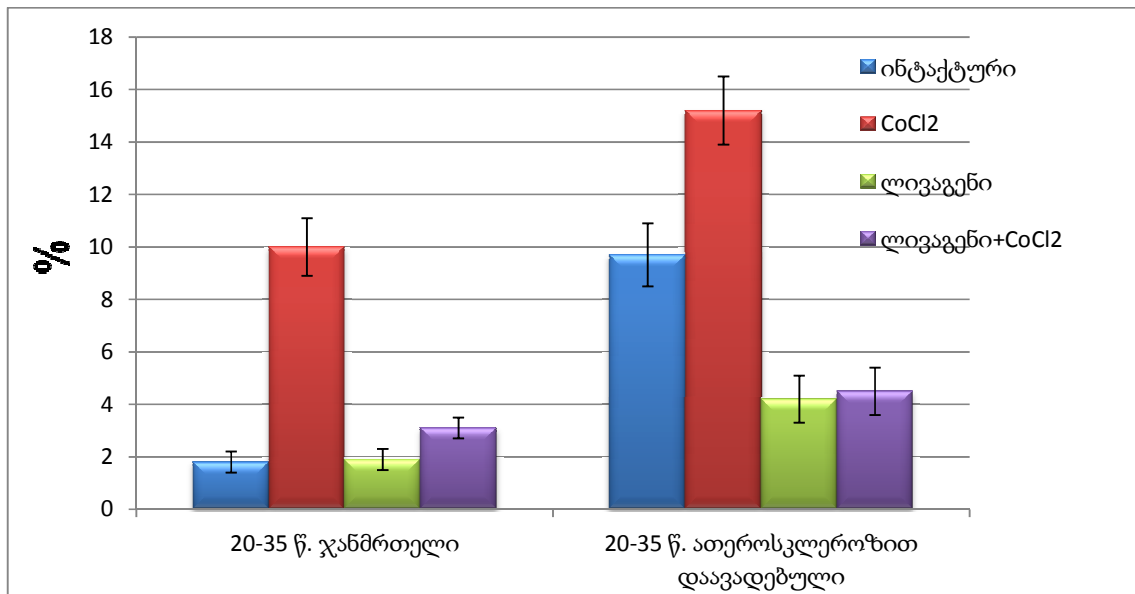
ამგვარად, ამ ტესტის მიხედვით შესაძლოა ვივარაუდოთ, რომ პეპტიდური ბიორეგულატორები – ბრონხოგენი და კორტაგენი მათი მოქმედების სპეციფიკურობის პირობებში დასაშვებია ახდენენ დაბერების პროცესში ჰეტეროქრომატინიზაციის შედეგად „ჩაკეტილი“ გენების სპეციფიკურ გამოთავისუფლებას.

4.6 გენომური პარამეტრების კორექცია ათეროსკლეროზით დაავადებულ ხანდაზმულ ინდივიდებში ქრომატინის მამოდიფიცირებელი აგენტების ზემოქმედებისას

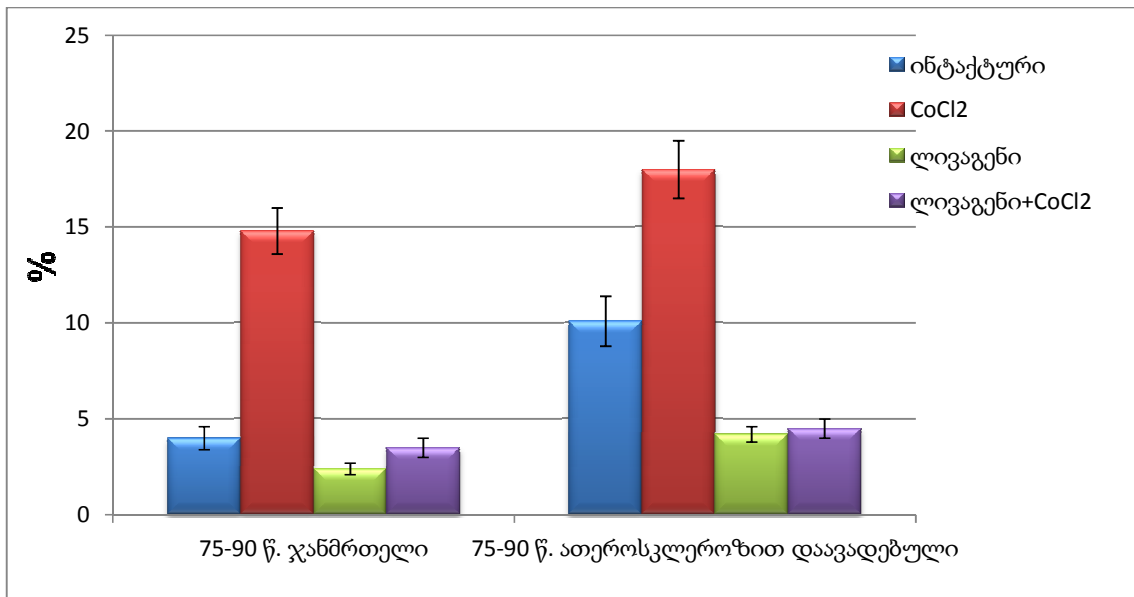
როგორც უკვე აღინიშნა, დაბერების პროცესი ასოცირებულია სიბერის პათოლოგიების განვითარებასთან, რომელთა შორის ყველაზე ხშირია ათეროსკლეროზი. ეს დაავადება მოიაზრება როგორც მემკვიდრული წინასწარგანწყობის პათოლოგია, რომლის ფორმირებაშიც მრავალი გენია ჩართული. ცნობილია, რომ მემკვიდრული და მემკვიდრული წინასწარგანწყობის დაავადებების დროს გენომური მახასიათებლები ცვალებადობას ექვემდებარება. სამუშაოს მოცემულ ნაწილში, ჩვენს მიერ, პირველ რიგში განსაზღვრულ იქნა ქრომოსომული პარამეტრების მდგომარეობა ათეროსკლეროზით დაავადებულთა უჯრედებში. ჩატარებულ იქნა შედარებითი შესწავლა დაავადებულთა ორ ასაკობრივ ჯგუფში (20-35 წლის და 75-90 წლის) იმ შესაძლო ცვლილებების გამოსავლენად, რომლებიც

ასაკთან არის ასოცირებული და ტესტირებული აგენტების მამოდიფიცირებელი მოქმედების სპეციფიკურობაზე შეიძლება მიუთითებდეს. მამოდიფიცირებელ აგენტებად ამ შემთხვევაში გამოყენებული იყო ლივაგენი და კობალტის ქლორიდი მათი განმხოლოებული და კომბინირებული მოქმედებისას. აგენტები შერჩეულ იქნა ლიტერატურულ მონაცემებზე დაყრდნობით, რომლებიც მიუთითებენ მათი გამოყენების ეფექტურობაზე ხანდაზმულ ინდივიდთა და ზოგიერთი მემკვიდრული წინასწარგანწყობის დაავადების დროს ქრომატნის კორექციის მიზნით (Lezhava and Jokhadze, 2007).

გენომის სტაბილურობის დონის ინდიკატორად გამოყენებული იყო ქრომოსომათა სტრუქტურული (აბერაციები) და რაოდენობრივი (ანეუპლოიდია, პოლიპლოიდია) დარღვევების მაჩვენებელი და მისი ცვალებადობა.



სურათი 4.6.1 აბერაციების შემცველი უჯრედების სიხშირე 20-35 წლის კლინიკურად ჯანმრთელ და ათეროსკლეროზით დაავადებულ ინდივიდებში.

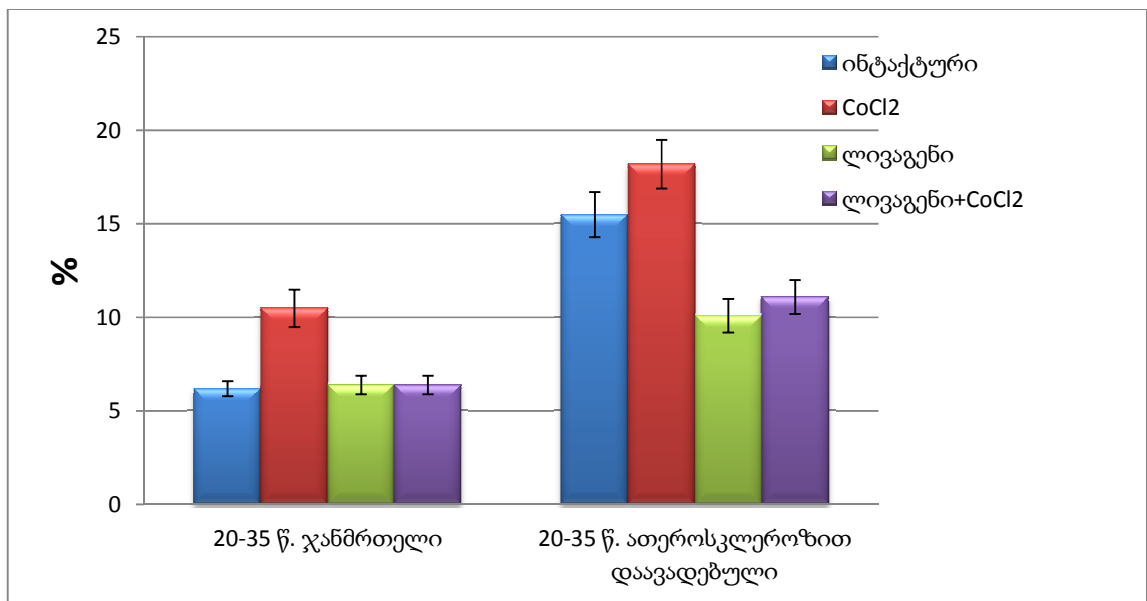


სურათი 4.6.2 აბერაციების შემცველი უჯრედების სიხშირე 75-90 წ. კლინიკურად ჯანმრთელ და ათეროსკლეროზით დაავადებულ ინდივიდებში.

ქრომოსომათა სტრუქტურული აბერაციების ტესტის მიხედვით დადგინდა, რომ ათეროსკლეროზით დაავადებულ ინდივიდთა ორივე ასაკობრივ ჯგუფში, იმავე ასაკის ჯანმრთელ ინდივიდებთან შედარებით, აბერაციების მაჩვენებელი საგრძნობლად მაღალია: 20-35 წლის ათეროსკლეროზით დაავადებულებში - $9,7 \pm 1,2\%$; ჯანმრთელ ინდივიდებში - $1,8 \pm 0,4\%$; ხოლო დაავადებულ ხანდაზმულებში $10,1 \pm 1,3\%$; ჯანმრთელ საკონტროლო ჯგუფში - $4 \pm 0,6\%$. ორივე ასაკობრივი ჯგუფის ათეროსკლეროზით დაავადებულ ინდივიდებში ლივაგენის მოქმედებამ მოახდინა გაზრდილი მაჩვენებლის შემცირება - ახალგაზრდებში აბერაციების შემცველი უჯრედების სიხშირემ შეადგინა $4,2 \pm 0,9\%$; ხანდაზმულებში - $4,2 \pm 0,4\%$ (სურ. 4.6.1; 4.6.2). ამ მაჩვენებლის მიხედვითაც, ლივაგენის მნიშვნელოვანი მაკორეგირებელი ეფექტი ჯანმრთელ ინდივიდებში არ დაფიქსირებულა.

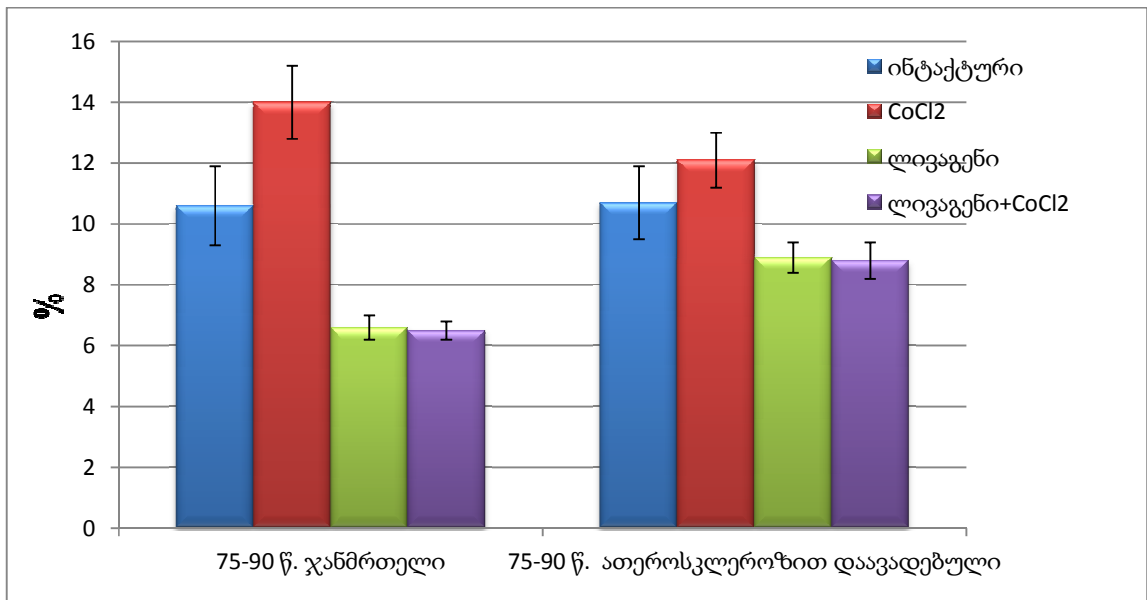
კობალტი, მისი განმხოლოებული გამოყენებისას, საგრძნობლად ზრდიდა აბერანტული უჯრედების სიხშირეს ორივე ასაკობრივი ჯგუფის ჯანმრთელ და დაავადებულ ინდივიდებში. ლივაგენ-კობალტის ერთობლივმა მოქმედებამ კი აბერაციების დონე სარწმუნოდ შეამცირა ორივე ასაკობრივი ჯგუფის როგორც ჯანმრთელ, ისე ათეროსკლეროზით დაავადებულ ინდივიდებში (სურ. 4.6.1; 4.6.2). კერძოდ, 20-35 წლის ჯანმრთელ ინდივიდებში $10 \pm 1,1\%$ -დან $3,1 \pm 0,4\%$ -მდე, ხოლო ათეროსკლეროზით დაავადებულებში - $15,2 \pm 1,3\%$ -დან $4,5 \pm 0,9\%$ -მდე; 75-90 წლის ჯანმრთელ ინდივიდებში $14,8 \pm 1,2\%$ -დან $3,5 \pm 0,5\%$ -მდე, ხოლო ათეროსკლეროზით დაავადებულებში - $18 \pm 1,5\%$ -დან $4,5 \pm 0,5\%$ -მდე.

როგორც უკვე აღინიშნა, ქრომოსომული აბერაციების ტესტის განხილვისას, აბერაციები ფორმირდება ძირითადად ჰეტეროქრომატულ უბნებში. ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები საფუძველს გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ ათეროსკლეროზით დაავადებულების გენომი ქრომატინის კონდენსაციის დონე - ჰეტეროქრომატინიზაცია გაზრდილია ორივე ასაკობრივ ჯგუფში. ლივაგენისა და ლივაგენ-კობალტის მაკორეგირებელი ეფექტი კი უნდა აიხსნას ქრომატინზე მისი სპეციფიკური მადეკონდენსირებელი მოქმედებით.



სურათი 4.6.3 ანეუპლოიდის მაჩვენებელი 20-35 წლის კლინიკურად ჯანმრთელ და ათეროსკლეროზით დაავადებულ ინდივიდებში.

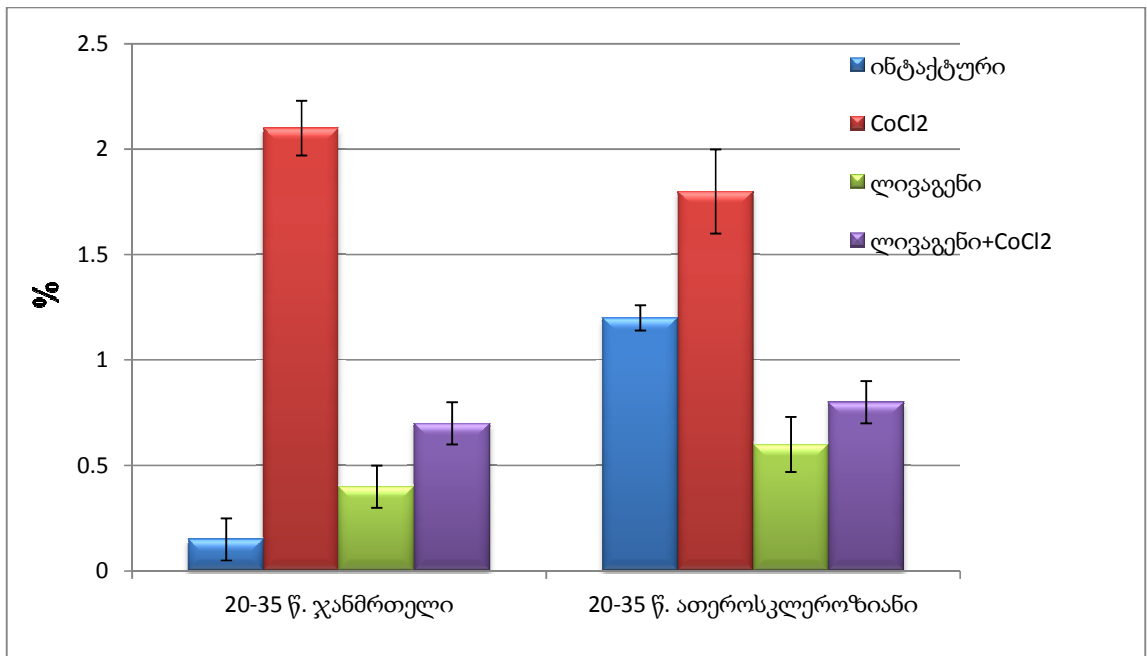
ანეუპლოიდის მაჩვენებლის შესწავლისას 20-35 წლის კლინიკურად ჯანმრთელ და ათეროსკლეროზით დაავადებულ ინდივიდებში დადგინდა, რომ ანეუპლოიდური უჯრედების რაოდენობა ათეროსკლეროზით დაავადებულებში მომატებულია. ჯანმრთელებში ეს მაჩვენებელია $6,2 \pm 0,4\%$, ხოლო დაავადებულებში $15,5 \pm 1,2\%$. პეპტიდური ბიორეგულატორის - ლივაგენის (Lys-Glu-Asp-Ala) მოქმედებით ანეუპლოიდის მაჩვენებელი დაავადებულებში სარწმუნოდ მცირდება ($10,1 \pm 0,9\%$), ხოლო ჯანმრთელ ინდივიდებში ლივაგენის მოქმედება სურათს არ ცვლის ($6,4 \pm 0,5\%$). მეტალის იონების (Co^{+2}) განმხოლოებული მოქმედებით ინდუცირებული ანეუპლოიდის მაჩვენებლის შემცირებას ადგილი ჰქონდა ლივაგენ-კობალტის ერთობლივი მოქმედებისას (ჯანმრთელ ინდივიდთა ჯგუფში $10,5 \pm 1,0\%$ -დან შეამცირა $6,4 \pm 0,5\%$ -მდე, ხოლო ათეროსკლეროზით დაავადებულებში - $18,2 \pm 1,3\%$ -დან $11,1 \pm 0,9\%$ -მდე) (სურ. 4.6.3).



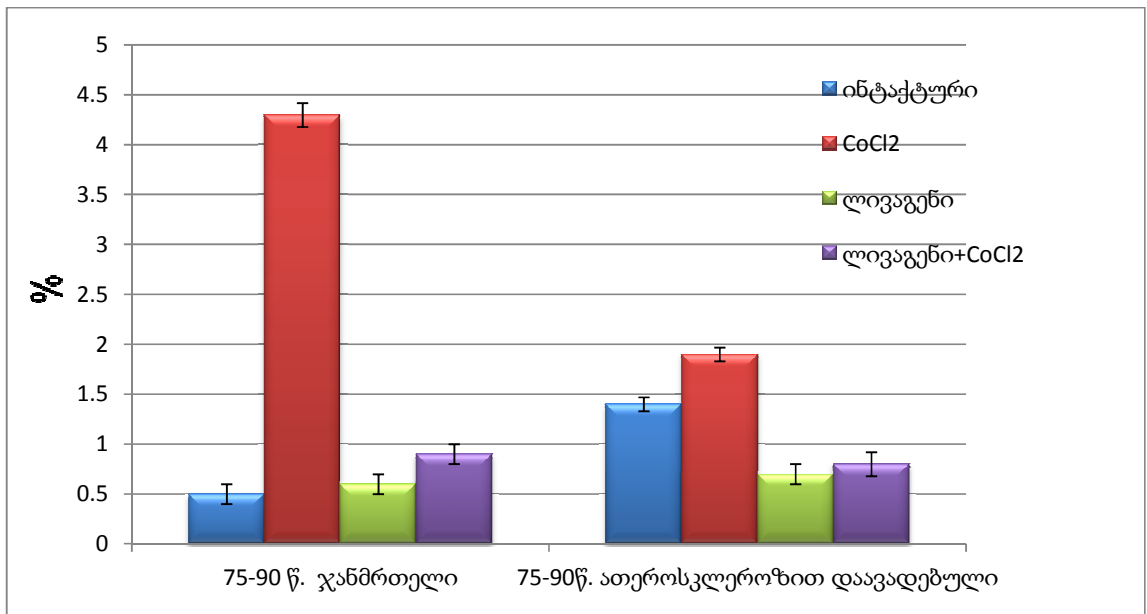
სურათი 4.6.4 ანეუპლოიდის მაჩვენებელი 75-90 წ. კლინიკურად ჯანმრთელ და ათეროსკლეროზით დაავადებულ ინდივიდებში.

ათეროსკლეროზით დაავადებულთა უფროს ასაკობრივ ჯგუფში (75-90 წ) აღმოჩნდა, რომ ანეუპლოიდის დონე გაზრდილია ახალგაზრდა ჯანმრთელ ინდივიდების ჯგუფთან შედარებით და შეადგენს $10,7 \pm 1,2\%$, ხოლო ხანდაზმულ ჯანმრთელ ინდივიდებთან შედარებით არ იცვლება ($10,6 \pm 1,3\%$). ლივაგენის მოქმედებამ მოახდინა ამ მაჩვენებლის ნორმალიზება ჯანმრთელ ინდივიდებში, ($6,6 \pm 0,4\%$), დაავადებულებისათვის კი შეინიშნებოდა მხოლოდ კლების ტენდენცია - $8,9 \pm 0,5\%$. ლივაგენ-კობალტის ერთობლივი მოქმედების ეფექტი ანალოგიურია (სურ. 4.6.3).

კობალტის იონებით ინდუცირებული ანეუპლოიდის მომატებული მაჩვენებელი ასევე მცირდება ლივაგენ-კობალტის კომბინირებული მოქმედებისას როგორც ჯანმრთელ ინდივიდთა ჯგუფში ($14 \pm 1,2\%$ -დან $6,5 \pm 0,3\%$ -მდე) ასევე ათეროსკლეროზით დაავადებულებში, თუმცა ამ უკანასკნელ შემთხვევაში ეფექტი ნაკლებად არის გამოხატული ($12,1 \pm 0,9\%$ -დან $8,8 \pm 0,6\%$ -მდე) (სურ. 4.6.4).



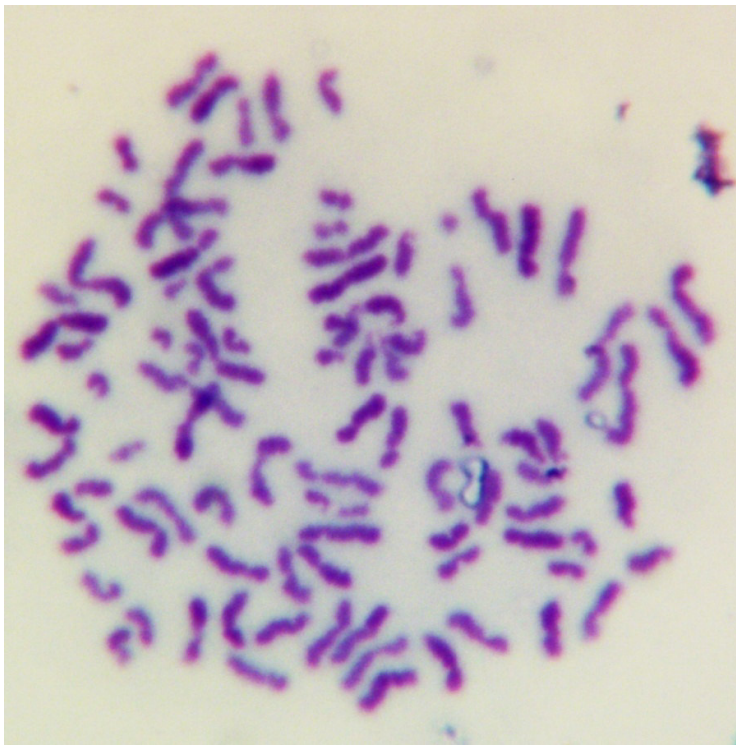
სურათი 4.6.5 პოლიპლოიდის მაჩვენებელი 20-35 წლის კლინიკურად ჯანმრთელ და ათეროსკლეროზით დაავადებულ ინდივიდებში.



სურათი 4.6.6 პოლიპლოიდის მაჩვენებელი 75-90 წ. კლინიკურად ჯანმრთელ და ათეროსკლეროზით დაავადებულ ინდივიდებში.

გარდა ანუპლოიდის მაჩვენებლისა, ლივაგენის მოქმედებით შემცირდა ასევე პოლიპლოიდის მაჩვენებელიც ათეროსკლეროზით დაავადებულ ორივე ასაკობრივ ჯგუფში (1,2±0,06%-დან 0,6±0,13%-მდე ახალგაზრდებში და 1,4±0,07%-დან 0,7±0,1%-

მდე ხანდაზმულებში). ჯანმრთელ ინდივიდთა შემთხვევაში აღნიშნულ ბიორეგულატორს მნიშვნელოვანი მაკორეგირებელი მოქმედება არ მოუხდენია, თუმცა კობალტის იონებით ინდუცირებული პოლიპლოიდის მაჩვენებლისათვის დაფიქსირდა პროტექტორული ეფექტი. კერძოდ, როგორც ჯანმრთელ, ასევე ათეროსკლეროზით დაავადებულ ორივე ასაკობრივი ჯგუფის ინდივიდებში ეს მაჩვენებელი დაქვეითდა: ახალგაზრდა ჯანმრთელებში $2,1 \pm 0,13\%$ -დან $0,7 \pm 0,1\%$ -მდე, ახალგაზრდა ათეროსკლეროზიანებში - $1,8 \pm 0,2\%$ -დან $0,8 \pm 0,1\%$ -მდე; ჯანმრთელ ხანდაზმულებში $4,3 \pm 0,12\%$ -დან $0,9 \pm 0,1\%$ -მდე, ხოლო ათეროსკლეროზით დაავადებულ ხანდაზმულ ინდივიდებში - $1,9 \pm 0,07\%$ -დან $0,8 \pm 0,12\%$ -მდე (სურ. 4.6.5; 4.6.6) .



სურათი 4.6.7 პოლიპლოიდია (მეტვაზური უჯრედი)

როგორც ლიტერატურული მონაცემებიდან ჩანს, ქრომოსომათა რაოდენობრივი დარღვევების სიხშირის მატება დამახასიათებელია რიგი მემკვიდრული და მემკვიდრული წინასწარგანწყობის დაავადებებისათვის. ჩვენმა ანალიზმა გამოავლინა, რომ ათეროსკლეროზიც ამ თვალსაზრისით გამონაკლისს არ წარმოადგენს.

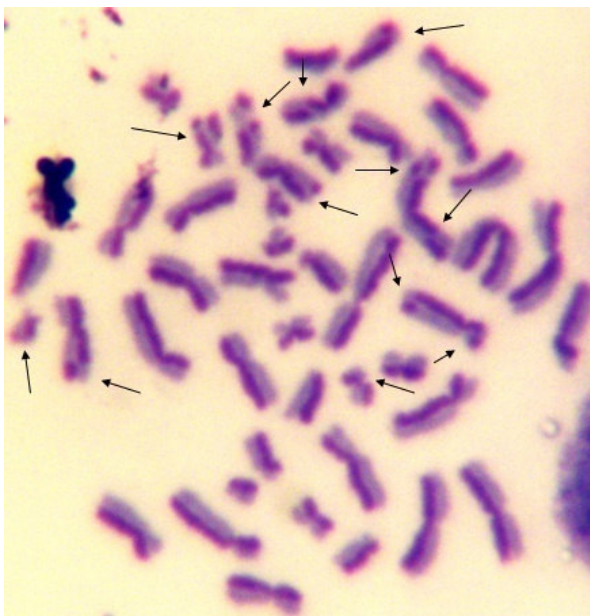
ანეუპლოიდია განპირობებულია მიტოზში ქრომატიდთა სეგრეგაციის დარღვევით. როგორც ცნობილია, თითისტარას ძაფების მიმაგრებაზე პასუხისმგებელია

კინეტოქორები, რომლებიც ცენტრომეროს უბნებში წარმოიქმნება. ვარაუდობენ, რომ ცენტრომეროს ფუნქციონირებისათვის გადამწყვეტია არა დნმ-ს კონკრეტული ნუკლეოტიდური შემადგენლობა, არამედ ის სივრცობრივი სტრუქტურა, რომელიც ქმნის პირობებს მასთან „უნიკალური“ ცენტრომერული ცილების დაკავშირებისათვის.

ეს ცილები ცენტრომერული ქრომატინის შემადგენლობაში მთელი უჯრედული ციკლის განმავლობაში არსებობენ და წარმოადგენენ საფუძველს კინეტოქორის ფორმირებაში მონაწილე ცილების მიმაგრებისათვის. ქრომატინის მოდიფიკაციის პირობებში (რაც ასაკთან და პათოლოგიებთან არის ასოცირებული), კინეტოქორების ფორმირების პროცესი შეიძლება დაირღვეს, რაც თავის მხრივ, პოლუსებისაკენ ქრომატიდთა გადაადგილების დარღვევის მიზეზი შეიძლება გახდეს. ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები კი მიუთითებენ, რომ ლივაგენს ქრომატინის მამოდიფიცირებელი ეფექტის გამო, სავარაუდოდ, ამ დარღვევის გასწორების უნარი აღმოაჩნდა, როგორც განმხოლოებული, ასევე კობალტის იონებთან ერთობლივი მოქმედებისას.

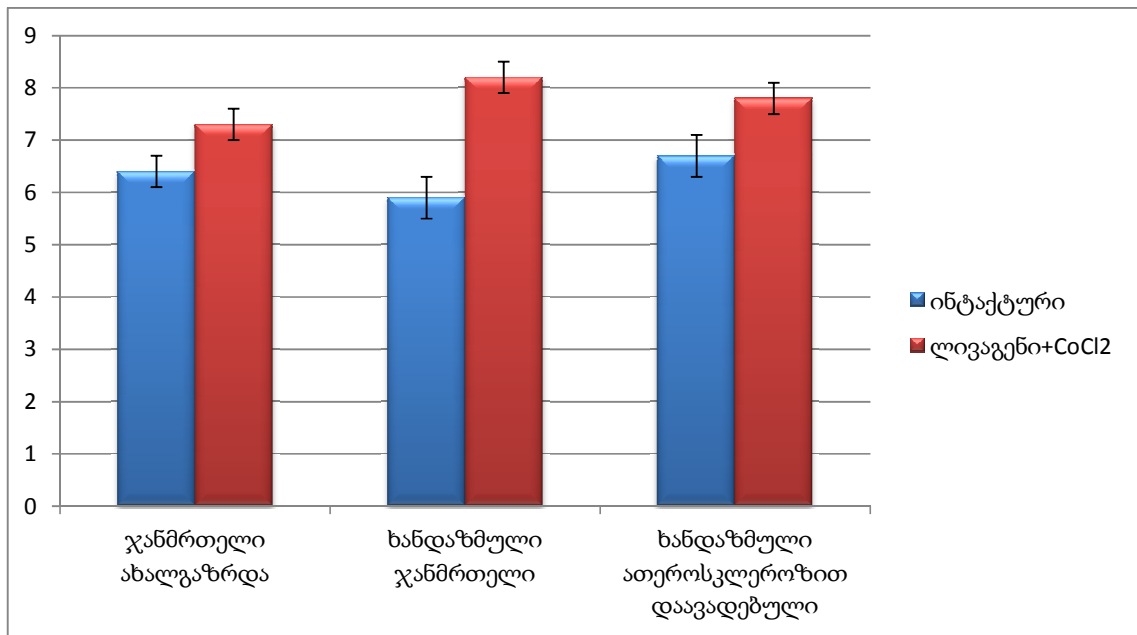
4.6.1 შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლების ვარიაბელობა ათეროსკლეროზით დაავადებულ ხანდაზმულ ინდივიდებში

ქრომატინის მდგომარეობის ცვალებადობის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან მახასიათებელს წარმოადგენს შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლების (შქგ) ტესტი, რომელიც ერთდროულად საშუალებას გვაძლევს ვიმსჯელოთ უჯრედებში მიმდინარე სომატური რეკომბინაციის დონეზე (სურ. 4.6.1.1).



სურათი 4.6.1.1 მეტაფაზა შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლებით

რადგან აბერაციებისა და ანეუპლოიდიის ტესტის მიხედვით სხვაობა ათეროსკლეროზით დაავადებულ ახალგაზრდა და ხანდაზმულ ინდივიდთა კულტურალურ უჯრედებზე მიღებულ შედეგებში არ შეინიშნებოდა, შრომის ამ განაკვეთში მიზანშეწონილად ჩავთვალეთ შქგ-ს ტესტის გამოყენება მხოლოდ ხანდაზმულ ინდივიდებში. კონტროლად გამოყენებული იყო ახალგაზრდა ჯანმრთელ ინდივიდთა კულტურალური უჯრედები, მაკორეგირებელ აგენტად - ლივაგენ-კობალტის კომბინაცია.



სურ. 4.6.1.2 შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლების რაოდენობა ერთ უჯრედზე

შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლების სიხშირის მაჩვენებელი ჯანმრთელ და ათეროსკლეროზით დაავადებულ ხანდაზმულ ინდივიდთა კულტურალურ უჯრედებში არ განსხვავდებოდა საკონტროლო ჯგუფის ინტაქტური კულტურების ანალოგიური მაჩვენებლისაგან (სურ.4.6.1.2). აღმოჩნდა, რომ ლივაგენისა და კობალტის ერთობლივი მოქმედებით ყველა აღნიშნულ ჯგუფში გაზრდილია შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლების სიხშირე უჯრედზე როგორც საკუთარ კონტროლთან, ასევე ახალგაზრდა ინდივიდთა ჯანმრთელ ჯგუფთან შედარებით (6,4±0,3 გაც./უჯრ.) და შეადგენს: 8,2±0,4 გაც./უჯრ. - ხანდაზმულ ჯანმრთელებში (საკუთარი კონტროლი - 5,9±0,4 გაც./უჯრ.); 7,±0,3 გაც./უჯრ.- ხანდაზმულ ათეროსკლეროზიანებში (საკუთარი კონტროლი - 6,7±0,4 გაც./უჯრ.).

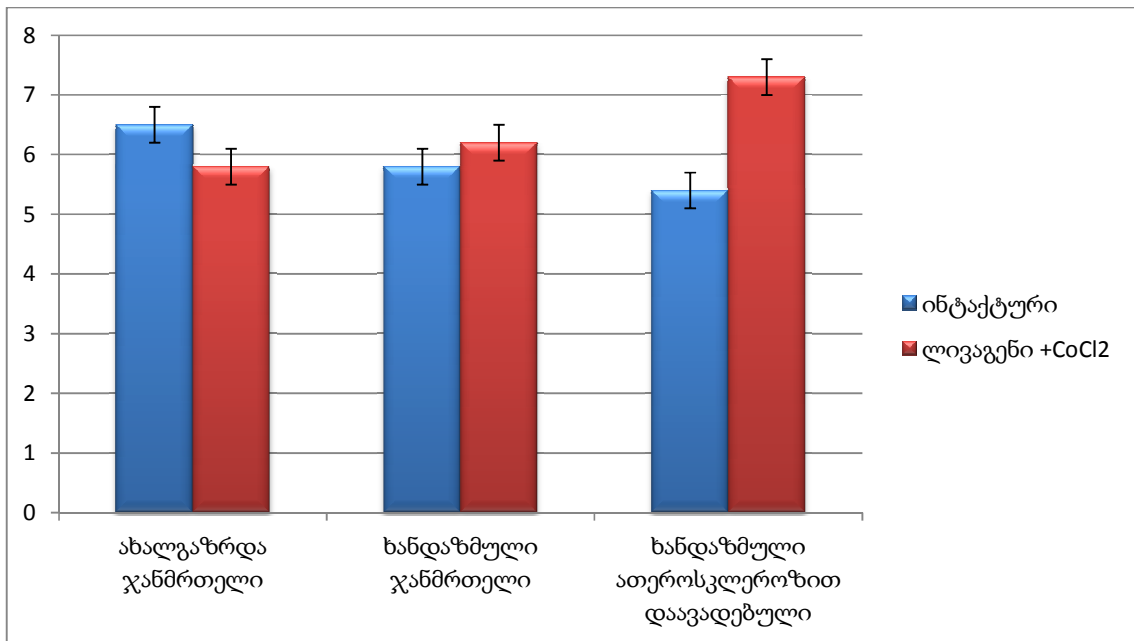
იმის გათვალისწინებით, რომ გაცვლები ქრომოსომათა ევქრომატულ უბნებში ფორმირდება, შრომის ამ განაკვეთში შქგ-ს ტესტის მიხედვით მიღებული შედეგების მიხედვით შეიძლება დავასკვნათ, რომ ათეროსკლეროზით დაავადებულ ინდივიდთა

უჯრედებზე ლივაგენ-კობალტის ერთობლივი მოქმედება განაპირობებს ჰეტეროქრომატინზეებული ქრომატინის დეკონდენსაციას, და ამავდროულად ზრდის სომატური რეკომბინაციის სიხშირეს.

4.6.2 Ag⁺ ბირთვაკის ორგანიზატორთა სიხშირე ათეროსკლეროზით დაავადებულ ხანდაზმულ ინდივიდებში

როგორც ზევით უკვე აღინიშნა, აქტიურ ბირთვაკის ორგანიზატორთა გამოსავლენად გამოყენებული იყო ვერცხლით იმპრეგნაციის მეთოდი და შესაბამისად, ხდებოდა Ag⁺ ბირთვაკმაორგანიზებელი რაიონების აღრიცხვა. აქტიური ბირთვაკის ორგანიზატორთა სიხშირე ასახავს მათში ლოკალიზებული რიბოსომული ცისტრონების აქტივობას და უჯრედში მიმდინარე სინთეზური პროცესების ინტენსივობის დონეს.

ჩვენს მიერ უჯრედზე აქტიურ ბირთვაკის ორგანიზატორთა სიხშირის განსაზღვრისას აღმოჩნდა, რომ ხანდაზმულ ჯანმრთელ ინდივიდებში აქტიურ ბირთვაკის ორგანიზატორთა სიხშირე პრაქტიკულად არ განსხვავდებოდა ახალგაზრდა ინდივიდებისათვის დაფიქსირებული ანალოგიური მაჩვენებლისაგან როგორც ინტაქტურ კულტურებში, ისე ლივაგენ-კობალტის კომბინირებული მოქმედებისას. ლივაგენ-კობალტის მამოდიფიცირებელი ეფექტი გამოვლინდა მხოლოდ ათეროსკლეროზით დაავადებულ ხანდაზმულ ინდივიდებში ($7,3 \pm 0,3$ Ag+NOR/უჯრ.; ინტაქტური - $5,4 \pm 0,3$ Ag+NOR/უჯრ) (სურ. 4.6.2.1). კერძოდ, აღნიშნული ზემოქმედებისას ადგილი ჰქონდა აქტიურ ბირთვაკის ორგანიზატორთა სიხშირის სარწმუნო მატებას. აღნიშნული, ლიტერატურის მონაცემებზე დაყრდნობით, მიუთითებს იმაზე, რომ ლივაგენ-კობალტის ზემოქმედებისას დაავადებულ ხანდაზმულ ინდივიდთა უჯრედებში ადგილი აქვს აკროცენტრულ ქრომოსომათა თანამგზავრული ძაფების (ბირთვაკის ორგანიზატორთა ლოკალიზაციის საიტები) დეკონდენსაციას, ანუ აღნიშნული ზემოქმედებისადმი სპეციფიკურად მგრძობიარე მხოლოდ ათეროსკლეროზით დაავადებულ ხანდაზმულ ინდივიდთა უჯრედები აღმოჩნდა.



სურ.4.6.2.1 აქტიური ბირთვაკის ორგანიზატორების რაოდენობა უჯრედზე.

როგორც ცნობილია, არსებობს დაბერების პროცესის ამხსნელი მრავალი თეორია, თუმცა მათგან ყველაზე უფრო მისაღებად მიჩნეულია გენეტიკური თეორია (Lezhava, 2001) – დაყრდნობილი ეპიგენეტიკურ პროცესებზე, რომელიც დაბერების პროცესის თანმდევი მოვლენების - მუტაციათა დაგროვების, რეპარაციის დარღვევის და გენთა აქტივობის დაკარგვის პირველადი მექანიზმის სახით ქრომატინის მოდიფიკაციას, მის ჰეტეროქრომატინიზაციას განიხილავს.

ჩვენს მიერ შესწავლილი ყველა პეპტიდური ბიორეგულატორი, როგორც აღინიშნა, გამოიყენება გერიატრიულ პრაქტიკაში როგორც დაბერების პროცესის და მასთან ასოცირებული პათოლოგიების შემაფერხებელი. პეპტიდური ბიორეგულატორები ენდოგენური პეპტიდების სინთეზურ ანალოგებს წარმოადგენენ. ლიტერატურაში მათი მოქმედების მექანიზმების ახსნისას გამოდიოდნენ იქედან, რომ დაბერების ერთ-ერთი თეორიის - თავისუფალი რადიკალების თეორიის თანახმად, ორგანიზმის დაბერებისა და ასაკობრივი პათოლოგიების ფორმირების საფუძველს წარმოადგენს თავისუფალი რადიკალებით განპირობებული მოლეკულური დაზიანებების ზრდა და აგრეთვე ორგანიზმის ანტიოქსიდანტური დაცვის სისტემის ფუნქციის მოშლა (Khavinson, 2009). რადგან ცნობილია, რომ ენდოგენური პეპტიდების ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი რეგულატორული ფუნქცია თავისუფალ რადიკალური პროცესების აქტივაციის შეზღუდვაში მდგომარეობს, ამდენად, მათი გეროპროტექტორული მოქმედების მექანიზმი ამ პოზიციებიდან განიხილება. თუმცა დაბერებისას მიმდინარე პროცესები მხოლოდ თავისუფალ რადიკალური თეორიის ჩარჩოებში არ შეიძლება აიხსნას. ნაჩვენებია, რომ დაბერების პროცესში მუტაციათა დაგროვების

მიზეზს წარმოადგენს არა რეპარაციის სისტემის დარღვევა, არამედ ზემოთ ხსენებული ეპიგენეზური პროცესები: კერძოდ, ქრომატინის ჰეტეროქრომატინიზაციის გამო ირღვევა მისი მისაწვდომობა რეპარაციის ფერმენტებისათვის (Lezhava, 1999, 2001, 2006; Konev, 2014). რეპარაციის პროცესის წარმართვისათვის, ისევე როგორც ზოგადად გენთა აქტივაციისათვის, აუცილებელ პირობას ქრომატინის რემოდელირება წარმოადგენს. რეგულატორული პეპტიდების მოქმედების მექანიზმი დღევანდლამდე აიხსნება მათ მიერ პეპტიდური კასკადის არსებობის პოზიციებიდან. თითოეულ პეპტიდს გააჩნია ბიოლოგიური აქტივობის მისთვის დამახასიათებელი სპექტრი, რომელიც განისაზღვრება როგორც მისი უშუალო მოქმედებით, ასევე მისი უნარით, მოახდინოს ენდოგენური რეგულატორების, მათ შორის სხვა რეგულატორული პეპტიდების ინდუცირებაც, რომლებიც თავის მხრივ შეიძლება წარმოადგენდნენ ინდუქტორებს პეპტიდების სხვა ჯგუფისათვის, რის გამოც ხდება რთული კასკადური პროცესის ფორმირება.

როგორც უკვე აღინიშნა, ეპიგენეტიკურ ინფორმაციის მაკოდირებელ ძირითად მექანიზმებს წარმოადგენს დნმ-ს მეთილირება და ქრომატინის დინამიური გარდაქმნები. ქრომატინის გარდაქმნები თავის მხრივ, ხორციელდება სამი ძირითადი ურთიერთდაკავშირებული მექანიზმის მეშვეობით: ჰისტონების კოვალენტური მოდიფიკაციით, ქრომატინის ატფ-დამოკიდებული რემოდელირებით და ქრომატინში ვარიანტული ჰისტონების ჩართვით.

პეპტიდურ ბიორეგულატორებს მათი მოქმედების კასკადური მექანიზმიდან გამომდინარე, დიდი ალბათობით შეუძლიათ ჩაერთონ ქრომატინის ეპიგენეზური გარდაქმნების ნებისმიერ ფორმაში.

შესაბამისად, დაბერებულ სისტემაში, ქრომატინის ერთი და იგივე ფუნქციური პარამეტრის მიხედვით, სხვადასხვა პეპტიდების მოქმედებისას დაფიქსირებული სხვაობის ახსნა შესაძლოა ვეძიოთ სწორედ იმ გარემოებაში, რომ თითოეულ პეპტიდს გააჩნია როგორც ბიოლოგიური აქტივობის მისთვის დამახასიათებელი სპექტრი, ისე ქრომატინში მისთვის სპეციფიკური სამიზნე.

5. დასკვნა

ჩვენს მიერ, ხანდაზმულ ჯანმრთელ და ათეროსკლეროზით დაავადებულ ინდივიდთა ქრომატინის პეპტიდური ბიორეგულატორებით მოდიფიკაციის შესწავლის შედეგად, პირველად იქნა დადგენილი:

1. დაბერების პროცესში შეცვლილი გენომის ფუნქციური მაჩვენებელი - ტოტალური ჰეტეროქრომატინიზაცია, ექვემდებარება პეპტიდური ბიორეგულატორების (Ala-Glu-Asp-Pro, Ala-Glu-Asp-Leu) მოქმედებით გამოწვეულ კორექციას - დეჰეტეროქრომატინიზაციას.
2. პეპტიდურ ბიორეგულატორი ბრონხოგენი (Ala-Glu-Asp-Leu) ხასიათდება ხანდაზმულ ინდივიდთა შეცვლილი გენომის მაკორეგირებელი უნარით: ავლენს პროტექტორულ ეფექტს მუტაციურ პროცესთან მიმართებაში; იწვევს G ჯგუფის ქრომოსომების რიბოსომული გენების ტრანსკრიფციული აქტივობის გაზრდას; ახდენს ცენტრომერული და ტელომერული ჰეტეროქრომატინის სპეციფიკურ დეკონდენსაციას.
3. პეპტიდური ბიორეგულატორი - კორტაგენი (Ala-Glu-Asp-Pro) ხასიათდება მაკორეგირებელი მოქმედებით: ინდუცირებს აკროცენტრულ ქრომოსომების რიბოსომული ცისტრონების აქტივობისა და ასოციაციების სიხშირის სარწმუნო ზრდას; შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლების, და შესაბამისად, სომატური რეკომბინაციის სიხშირის მატებას.
4. ათეროსკლეროზით დაავადებულ ინდივიდთა გენომი, ჰეტეროქრომატინიზაციისა და გენომის არასტაბილურობის (მუტაციების-აბერაციები, ანეუპლოიდია, პოლიპლოიდია) გაზრდილი დონით ხასიათდება.
5. სინთეზურმა პეპტიდურმა ბიორეგულატორმა ლივაგენმა (Lys-Glu-Asp-Ala) გამოავლინა ათეროსკლეროზით დაავადებულ ინდივიდთა გენომის კორექციის უნარი, რაც ათეროსკლეროზის განვითარების შედეგად შეცვლილი გენომური

პარამეტრების ნორმალიზაციაში გამოიხატება და კონდენსირებულ ქრომატინზე მისი მამოდიფიცირებელი მოქმედების მაჩვენებელია.

რეკომენდაცია

ხანდაზმულ ინდივიდებში პეპტიდური ბიორეგულატორების გამოყენებით ჰეტეროქრომატინიზირებული ქრომატინის რემოდელირების შესაძლებლობა სახავს გზებს სიბერის პათოლოგიების პრევენციისა და მკურნალობისათვის.

6. გამოყენებული ლიტერატურა

- Abshire M., Devor D., Diwan B., Shaughnessy J., Waalkes M. In vitro exposure to cadmium in rat L6 myoblasts can result in both enhancement and suppression of malignant progression in vivo. *Carcinogenesis*, 17(6), 1349-56, 1996.
- Adachi H., Tsujimoto M. Endothelial scavenger receptors. *Prog. Lipid Res.*, 45, 379-404, 2006.
- Albanesi t., Polani S., Cozzi R., Porticone P. DNA strands methylation and sister chromatid exchanges in mammalian cell. *Mut. Res.*, 429, 239-248, 1999.
- Amen M., Espinoza H., Cox C., Liang X., et al. Chromatin-associated HMG-17 is a major regulator of homeodomain transcription factor activity modulated by Wnt/beta-catenin signaling. *Nucleic Acids Res.*, 36(2), 462-476, 2008.
- Andressoo J., Hoeijmakers J., Mitchell J. Nucleotide excision repair disorders and the balance between cancer and aging. *Cell Cycle*, 5, 2886-2888, 2006.
- Anisimov V., Arutjunian A., Khavinson V. Effect of and pineal peptide preparation Epithalamin on free-radical processes in human and animals. *Neuroendocrinology Lett.*, 22, 9-18, 2001.
- Anisimov V., Khavinson K., Provinciali M., et al. Inhibitory effect of the peptide epitalon on the development of spontaneous mammary tumors in Her-2/NEU transgenic mice. *Int. J. Cancer*, 101, 7-10, 2002.
- Anisimov V., Khavinson V. Peptide bioregulations of aging: Results and prospects. *Biogerontology*, 11, 139-149, 2010.
- Anisimov V., Khavinson V., Anisimov V. Elucidation of the effect of brain cortex tetrapeptide cortagen on gene expression in mouse heart by microarray. *Neuro Endocrinol. Lett.*, 25(1-2), 87-93, 2004.
- Anisimov V., Khavinson V., Popovich I., et al. Effect of epitalon on biomarkers of aging, life span and spontaneous tumor incidence in female swiss-derived SHR mice. *Biogerontology*, - 4, 93-202, 2003.
- Anisimov V., Khavinson V., Popovich I., Zabezhinski M. Inhibitory effect of peptide Epitalon on colon carcinogenesis induced by 1,2-dimethylhydrazine in rats. *Cancer Lett.*, 183, 1-8, 2002.
- Arita A., Shamy M., Chervona Y., et al. The effect of exposure to carcinogenic metals on histone tail modifications and gene expression in human subjects. *J Trace Elem. Med. Biol.*, 26, 174-178, 2012.
- Arlt MF¹, Casper AM, Glover TW. Common fragile sites. *Cytogenet Genome Res.*, 100(1-4), 92-100, 2003.
- Bagatskaya N., Medzanovskaya E. Some peculiarities of acrocentric chromosomes association in patients with rheumatoid arthritis. *GENETICS*, 14, 971, 71-76, 2011.

- Belicchi-Ferrari M., Bisceglie F., Casoli C., Durot S., et al. Copper(II) and cobalt(III) pyridoxal thiosemicarbazone complexes with nitroprusside as counterion: syntheses, electronic properties, and antileukemic activity. *J Med Chem.*, 48(5), 1671-1675, 2005.
- Bernard P., Maure J., Partridge J., et al. Requirement of heterochromatin for cohesion at centromeres. *Science*, 294, 2539-2542, 2001.
- Biros E., Karan M., Golledge J. Genetic Variation and Atherosclerosis. *Current Genomics*, 9, 29-42, 2008.
- Bloom S., Goodpasture C. An improved technique for selective silver staining of nucleolar organizer regions in human chromosomes. *Hum. Genet.*, 34, 199-206, 1976.
- Brunet A., Sweeney L., Sturgill J., Chua K., et al. Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase. *Science*, 303, 2011-2015, 2004.
- Bukvic N., Gentile M., Susca F., et al. Sex chromosome loss, micronuclei, sister chromatid exchange and aging: a study including 16 centenarians. *Mutat. Res.*, 498, 159-167, 2001.
- Canzio D., Liao M., Naber N., et al. A conformational switch in HP1 releases auto-inhibition to drive heterochromatin assembly. *Nature*, 496, 377-38, 2013.
- Cardellini E., Cinelli S., et al. Differential Scanning calorimetry of chromatin at different levels of condensation. *Mol. Biol. Rep.*, 27, 3, 175-180, 2000.
- Cartwright I., Abmayr S., Fleischmann G., Iowenhaapt K., et al. Chromatin structure and gene activity: the role of nonhistone chromosomal proteins. *Crit. Rev. Biochem.*, 13, 1-86, 1982 a.
- Cartwright I., Elgin S. Analysis of chromatin structure and DM. sequence organization: use of the I, 10-phe-nanthroline cuprous complex. *EAR*, 10, 5835-5852, 1982 b.
- Cavazza B., Brizzolara G., Lazzarini G., et al. Thermodynamics of condensation of nuclear chromatin. A differential scanning calorimetry of the salt dependent structural transitions. *Biochemistry*, 30, 37, 9060-9070, 1991.
- Chaves F., Puig O., Garcia-Sogo M., Real J., Gil J., et al. Seven DNA polymorphisms in the LDL receptor gene: application to the study of familial hypercholesterolemia in Spain. *Clin. Genet.*, 50, 28-35, 1996.
- Chen H., Ke Q., Kluz T., Yan Y., Costa M. Nickel ions increase histone H3 lysine 9 dimethylation and induce transgene silencing. *Mol. Cell Biol.*, 26, 3728-3737, 2006.
- Coffee B., Zhaug F., Ceman S., Warren S., Beiues D. Histone modifications depict an aberrantly heterochromatinized FMR1 gene in fragile x syndrome. *Pum. Med.*, 71(4), 923-932, 2002.
- Costa M., Klein C. Nickel carcinogenesis mutation, epigenetics or selection. *EHP*, 107-109, 1999.
- Стбецкий В., Чеботарев А. и др. Хромосомные аномалии у больного синдромом Вернера в интактной культуре и после воздействия галогеновых аналогов тимидина. *Цитология*, 44 (1), 84-88, 2002.

- Davidson T., Ke Q., Costa M. Selected molecular mechanisms of metal toxicity and carcinogenicity. In *Handbook on the Toxicology of Metals*, Nordberg GF, Fowler BA, Nordberg M, Friberg LT, eds, Elsevier Science, New York, 79–100, 2011.
- de Capoa A., Marlekaj P., et al. Citologic demonstration of differential activity of rRNA gene clusters in different human tissues. *Hum. Genet.*, 69, 3, 212-217, 1985.
- de Capoa A., Menendez F., Poggesi I., Giancotti P., et al. Cytological evidence for 5-azacytidine-induced demethylation of the heterochromatic regions of human chromosomes. *Chromosome Res.*, 4(4), 271-276, 1996.
- de Silva A., Payaoa S., Borsatto B., et al. Quantitative evaluation of the rRNA in Alzheimer's disease. *Mech. Aging Dev.*, 120, 1-3, 57-64, 2000.
- Ellen T., Kluz T., Harder M., Xiong J., Costa M. Heterochromatinization as a potential mechanism of nickel-induced carcinogenesis. *Biochem.*, 48, 4626–4632, 2009.
- Evans H., Bucland R., Pardue M. Location of the genes coding for 18S and 28S ribosomal RNA in the human genome. *Chromosoma*, 48, 405-426, 1974.
- Felsenfeld G., Boyes J., Chung J., Clark D., Studitsky V. Chromatin structure and gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 93(18), 9384-9388, 1996.
- Fitzsimons C., van Bodegraven E., Schouten M., Lardenoije R., et al. Epigenetic regulation of adult neural stem cells: implications for Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 9, 1-25, 2014.
- Fukagawa T., Nogami M., Yoshikawa M., et al. Dicer is essential for formation of the heterochromatin structure in vertebrate cells. *Nat. Cell. Biol.*, 6, 784-91, 2004.
- Fulmeze D., Fasman G. Ionic strength-dependent conformational transitions of chromatin circular dichroism and thermal denaturation studies. *Biopolymers*, 18, 2875-2881, 1979.
- Goldstein J., Brown M. *Familial hypercholesterolemia: The Metabolic Basis of Inherited Disease* 6th ed., McGraw Hill: New York, 1989.
- Grewal S., Elgin S. Heterochromatin: new possibilities for the inheritance of structure. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 12, 2, 178-187, 2002.
- Groth A., Rocha W., Verreault A., Almouzni G. Chromatin challenges during DNA replication and repair. *Cell*, 128, 721-733, 2007.
- Guacci V., Hogan E., Koshland D. Chromosome condensation and sister chromatid pairing in budding yeast. *J. Cell Biol.*, 125, 517-530, 1994.
- Guarente L., Picard F. Calorie restriction--the SIR2 connection. *Cell*, 120, 473-482, 2005.
- Guecheva T., Henriques J., Erdtmann B. Genotoxic effects of copper sulphate in freshwater planarian in vivo, studied with the single-cell gel test (comet assay). *Mutat. Res.*, 497(1-2), 19-27, 2001.
- Haaf T., Schmid M. Experimental condensation inhibition in constitutive and facultative heterochromatin of mammalian chromosomes. *Cytogenet. Cell Genet.*, 91, 113-123, 2009.

- Haaf T., Sirugo G., Kidd K., Ward D. Chromosomal localization of long trinucleotide repeats in the human genome by fluorescence in situ hybridization. *Nat Genet.*, 12(2), 183-5, 1996.
- Hagelstrom R., Askin K., Williams A. et al. DNA-PKcs and ATM influence generation of ionizing radiation-induced bystander signals. *Oncogene*, 27, 6761–6769, 2008.
- Hancock R., Hughes M. Organization of DNA in the Interphase nucleus. *Biol. Cell*, 44, 201-212, 1982.
- Hawley R., Arbel T. Yeast genetics and the fall of classical view of meiosis. *Cell*, 72, 301–303, 1993.
- Heard E. Recent advances in X-chromosome inactivation. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 16, 247-55, 2004.
- Heath K., Day I., Humphries S. Universal primer quantitative fluorescent multiplex (UPQFM) PCR: a method to detect major and minor rearrangements of the low density lipoprotein receptor gene. *J. Med. Genet.*, 37, 272-280, 2000.
- Hecht F. Antibiotics containing trimethoprim and fragile (X) chromosome. *New Eng. J. Med.*, 308, 285, 1969.
- Heliot L., Mongelard F., et al. Nonrandom distribution of metaphase AgNOR staining patterns on human acricentric chromosomes. *J.Histochem.Cytochem.*, 48,13-20, 2000.
- Helmrich A, Stout-Weider K, Hermann K, Schrock E, Heiden T. Common fragile sites are conserved features of human and mouse chromosomes and relate to large active genes. *Genome Res.*, 16(10), 1222-1230, 2006.
- Henikoff S., Smith M. Histone Variants and Epigenetics. *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, 7(1). pii: a019364. doi: 10.1101/cshperspect.a019364, 2015.
- Hens L., Kirsch-Volders M., et al. Relationship between measured chromosome distribution parameters and Ag-staining of the nucleolus organizer regions. *Hum. Genet.*, 53, 3, 363-370, 1980.
- Herranz M., Esteller M. DNA methylation and histone modifications in patients with cancer. *Method Mol. Biol.*, 361, 25–62, 2007.
- Hoehn H., Au K., Karp L. Somatic stability of variant C-band heterochromatin. *Hum. Genet.*, 35, 163-138, 1977.
- Hoo J., Perslow I. Relation between the SCE points and the DNA replication bands. *Chromosoma*, 71,3,67-74, 1979.
- Horvath A., Ganev V. The mutation APOB-100 R3500Q in Eastern Europe. *Atherosclerosis*, 156(1), 241-242, 2001.
- Hsu T. A possible function of constitutive heterochromatin: The bodyguard hypotheses. *Genetics*, 79,137-150, 1975.
- Huisinga K., Brower-Toland B., Elgin S. The contradictory definitions of heterochromatin: Transcription and silencing. *Chromosoma*, 115, 110-22, 2006.

- Imai S., Armstrong C., Kaeberlein M., Guarente L. Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. *Nature*, 403, 795-800, 2000.
- Imhof A. Histone modifications--marks for gene expression? *Adv. Exp. Med. Biol.*, 544, 169-180, 2003.
- Isackson P., Clow L., Reeck G. Comparison of the salt dissociations of high molecular weight HMG non-histone chromatin proteins from double-stranded DNA and from chromatin. *FEBS Lett.*, 125(1), 30-34, 1981.
- Jack E., Harrison C., et al. The structural basis for c-banding. A scanning electron microscopy study. *Chromosoma*, 91, 5, 363-368, 1985.
- Joens C., Ahmed I., Commings M., Rosenthal I. Association of double NOR variant with Turner syndrome. *Amer. J. Med. Genet.*, 30, 3, 725-732, 1988.
- Jokhadze T., Buadze T., Gaiozishvili M., Kakauridze N., Lezhava T. Genomic instability in atherosclerosis. *Georgian Med. News*, 236, 82-86, 2014.
- Jokhadze T., Lezhava T. Structural mutations of chromosome mutations induced by heavy metal salts during aging in vivo and in vitro. *Genetika*, 30(12), 1630-1632, 1994.
- Jokhadze T.A., Gaiozishvili M., Lezhava T. The effect of heavy metal ions and peptide bioregulators on the expression of chromosome fragile sites in the individuals of different age groups and breast cancer patients. *Georgian Med News*, 162, 11-14, 2008.
- Kaeberlein M., McVey M., Guarente L. The SIR2/3/4 complex and SIR2 alone promote longevity in *Sacharomyces cerevisiae* by two different mechanisms. *Genes Dev.*, 13, 2570-2580, 1999.
- Kanungo M. Alteration in gene expression during senescence. *Proc. Indian Acad. Sci.*, 93, 173-177, 1984.
- Karin M. Interactions of Heavy metal ions with the human genome. *Crisp Data Base National Institutes of Health*, 1997.
- Kato H. Spontaneous and induced sister chromatid exchanges as revealed by the BrDU-labeling method. *Inter. Rev. of Cytol.*, 49, 55-97, 1987.
- Kaufmann W., Wilson S. DNA repair endonuclease activity during synchronous growth of diploid human fibroblasts. *Mutat Res.* 236(1), 107-117, 1990.
- Khavinson V. Peptide regulation of ageing. *St.-Ptb.: Humanistica*, -44, 2009.
- Khavinson V., Gapparov M., Sharanova N., Vasilyev A., Ryzhak G. Study of Biological Activity of Lys-Glu-Asp-Thr-NH₂ Endogenous Tetrapeptide. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 149, 3, 327-329, 2010.
- Khavinson V., Goncharova N., Lapin B. Synthetic tetrapeptide epitagon restores disturbed neuroendocrine regulation in senescent monkeys. *Neuroendocrinology Lett.*, 22, 251-254, 2001.
- Khavinson V., Grigoriev E., Malinin V., Ryzhak G. Peptide substance stimulating regeneration of central nervous system neurons, pharmaceutical composition on its base,

- and the method of its application. European patent ER 2 024 388 B1 (international publication number WO 2007/139431 (06.12.2007. Gazette 2007/49), 2007.
- Khavinson V., Izmailov D., et al. Effect of epythalon on the lifespan avcrease in *Drosophila melanogaster*. *Mech. Ageing Dev.*, 120, 141-149, 2000.
- Khavinson V., Lezhava T., et al. Peptide epythalon reactivates chromatin at seline age. 2003.
- Khavinson V., Lezhava T., Malinin V. Effects of short peptides on lymphocyte chromatin in senile subjects. *Bull. Exp. Biol. Med.* 137(1), 78-81, 2004.
- Khavinson V., Lezhava T., Monaselidze J., et al. Effect of Livagen Peptide of chromosome activation in lymphocyte from old people. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 134, 389-392, 2002.
- Khavinson V., Malinin V. *Gerontological Aspects of Genome Peptide Regulation*. Karger AG, Basel, Switzerland, -104, 2005.
- Khavinson V., Morozov V., Malinin V., Grigoriev E. Tetrapeptide stimulating the functional activity of neurons, pharmacological agent based thereon and method of use thereof. US Patent № 7,189,701 B1, 2007.
- Khavinson V., Ribakova Y., Kulebiakin K., Vladychenskaya E., Kozina L., Arutjunyan A., Boldyrev A. Pinealon Increases Cell Viability by Suppression of Free Radical Levels and Activating Proliferative Processes. *Rejuvenation Research*, 14(5), 535-41, 2011.
- Khavinson V., Ryzhak G., Grigoriev E., Ryadnova I. Peptide substance restoring myocardium function. EP Patent № 1 758 923 B1, 2008.
- Khavinson V., Ryzhak G., Grigoriev E., Ryadnova I. Peptide substance restoring function of respiratory organs. EP Patent № 1 758 922 B1, 2008.
- Khavinson V., Kuznik B., Ryzhak G. Peptide bioregulators: the new class of geroprotectors. Message 2. Clinical studies results. *Adv. Gerontol.*, 26(1), 20-37, 2013.
- Khavinson V., Lin'kova N., Polyakova V., Durnova A., Nichik T., Kvetnoi I. Peptides regulate expression of signaling molecules in kidney cell cultures during in vitro aging. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 157(2), 261-4, 2014.
- Khavinson V., Lin'kova N., Tarnovskaya S., Umnov R., Elashkina E., Durnova A. Short peptides stimulate serotonin expression in cells of brain cortex. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 157(1), 77-80, 2014.
- Khavinson V., Tendler S., Vanyushin B., Kasyanenko N., et al. Peptide Regulation of Gene Expression and Protein Synthesis in Bronchial Epithelium. *Lung.*, [Epub ahead of print], 2014.
- Kimura H., Cook P. Kinetics of core histones in living human cells: little exchange of H3 and H4 and some rapid exchange of H2B. *J. Cell Biol.*, 153(7), 1341-53, 2001.
- Konev, 2014. <http://biod.pnpi.spb.ru/~konev/chromatin.html>, 1-34, 2014.
- Kornberg R., Lorch Y. Chromatin structure and transcription. *Annu. Rev. Cell Biol.*, 8, 563-587, 1992.
- Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell*, 128, 693-705, 2007.

- Kuznik B., Lin'kova N., Tarnovskaia S., Khavinson V. Cytokines and regulatory peptides: age-related changes, atherosclerosis and thrombotic diseases. *Adv. Gerontol.*, 26(1), 38-51, 2013.
- Lachner M., O'Carroll D., Rea S., et al. Methylation of histone H3 lysine 9 creates a binding site for HP1 proteins. *Nature*, 410, 116-120, 2001.
- Leonard A., Lauwerys R. Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of cobalt metal and cobalt compounds. *Mutat. Res. Rev. Genet. Toxicol.*, 239, 1, 17-27, 1990.
- Lezhava T. Chromosome and aging: genetic conception of aging. *Biogerontology*, 2(4), 253-60, 2001.
- Lezhava T. Chromosomes in very senile age: 80 years and over. M.: Nauka, -256, 1999.
- Lezhava T. Heterochromatinization as a key factor in aging. *Mech. Aging and Dev.*, 28, 2-3, 279-288, 1984.
- Lezhava T. Human chromosomes and aging. From 80 to 114 years. Nova Biomedical, ISBN 1-60021-043-0, New York, USA, 2006.
- Lezhava T., Bablshvili N. Reactivation of Heterochromatin induced by sodium hydrophosphate et the old age. *Proc. Georg. Acad. Sci., Biol. Ser. B*, 1, 1-5, 2003.
- Lezhava T., Dvalishvili N. Cytogenetic and biochemical studies on the nucleolus organizer regions of chromosomes in vivo and in vitro aging. *Age*, 15, 41-43, 1992.
- Lezhava T., Khmaladze E. Characteristics of Cis- and Transorientation chromatid types of association in human extreme old age. *Proc. Japan. Acad. Sci.*, 64, 131-134, 1988b.
- Lezhava T., Monaselidze J., Jokhadze T., Gaiozishvili M. Epigenetic Regulation of "Aged" Heterochromatin by Peptide Bioregulator Cortagen. *Int. J. Pept. Res. Ther.*, 21, 157-163, 2015.
- Lezhava T., Monaselidze J., Chanchalashvili Z., et al. Study on condensed euchromatin level in extreme old age by differential scanning calorimetry. *Bull. Acad. Sci. Georgia*, 19, 334-337, 1993.
- Lezhava T., Jokhadze T. Activation of pericentromeric and telomeric heterochromatin in cultured lymphocytes from old individuals. *Ann N Y Acad Sci.*, 1100, 387-399, 2007.
- Lezhava T., Monaselidze J., Jokhadze T., Gorgoshidze M., Kiladze M., Gaiozishvili M. Remodeling of heterochromatin induced by heavy metals in extreme old age. *Age (Dordr)*, 33(3), 433-438, 2011.
- Lezhava T. Heterochromatinization--1 of the chief factors in aging. *Tsitol Genet.*, 14(3), 71-76, 1980.
- Lezhava T., Chitashvili R., Khmaladze E. Use of the mathematical "satellite model" for determining the frequency of associations of acrocentric chromosomes depending on human age. *Int J Biomed Comput*, 3(3), 181-99, 1972.

- Lezhava T., Khavison V., Monaselidze J., Jokhadze T., et al. Bioregulator Vilon-induced reactivation of chromatin in cultured lymphocytes from old people. *Biogerontology*, 5(2):73-79, 2004.
- Lezhava T., Tsigroshvili Z., Dvalishvili N., Jokhadze T. Mathematical model for satellite associations of human acrocentric chromosomes. *Georgian Med News*, (164), 90-9, 2008.
- Li B., Carey M., Workman J. The role of chromatin during transcription. *Cell*, 128, 707-719, 2007.
- Li E., Zhang Y. DNA methylation in mammals. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* doi:10.1101/cshperspect.a019133, 2014
- Li Q., Ke Q., Costa M. Alterations of histone modifications by cobalt compounds. *Carcinogenesis* 30, 1243–1251, 2009.
- Lombard D., Chua K., Mostoslavsky R., Franco S., Gostissa M., Alt F. DNA repair, genome stability, and aging. *Cell*, 120, 497-512, 2005.
- Luger K., Mader A., Richmond R., Sargent D., Richmond T. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature*, 389, 251-260, 1997.
- Lundgren M., Chow C., Sabbattini P., et al. Transcription factor dosage affects changes in higher order chromatin structure association of a heterochromatic gene. *Cell*, 103, 5, 733-743, 2000.
- Luo J., Nikolaev A., Imai S., Chen D., Su F., Shiloh A., Guarente L., Gu W. Negative control of p53 by Sir2 alpha promotes cell survival under stress. *Cell*, 107, 137-148, 2001.
- Lusis A., Fogelman A., Fonarow G. Genetic Basis of Atherosclerosis: Part I New Genes and Pathways *Circulation*, 110, 1868-1873, 2004.
- Lusser A., Kolle D., Loidl P. Histone acetylation: lessons from the plant kingdom. *Trends Plant. Sci.*, 6, 2, 59-65, 2001.
- Matsui S., Fuke M., Chai L., Sandberg A., Ellassouli S. N-band proteins of nucleolar organizers: chromosomal mapping, subnucleolar localization and rDNA binding. *Chromosome*, 93,231-242, 1986.
- Matsui S., Sandberg A. Intranuclear compartmentalization of DNA-dependent RNA polymerases: association of RNA polymerase I with nuclear organizing chromosomes. *Chromosome*, 92, 1, 1-6, 1985.
- McDowell T., Gibbons R., Sutherland H., et al. Localization of a putative transcriptional regulator (ATRX) at pericentromeric heterochromatin and the short arms of acrocentric chromosome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 96, 24, 13983-13988, 1999.
- Mello M., Kubrusly F., Randi M., Rodrigues V., Ferraz Filho A. Effect of heavy metals on chromatin supraorganization, nuclear phenotypes, and survival of *Triatoma infestans*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 74(3), 209-218, 1995.
- Misteli T., Soutoglou E. The emerging role of nuclear architecture in DNA repair and genome maintenance. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 10, 243-254, 2009.

- Monaselidze J., Chanchalashvili Z., Mgeladze G., et al. Thermal properties of intact nucleoproteids. *J. Pol. Sci.*, 69, 17-20, 1981.
- Monaselidze J., Chanchalashvili Z., Madzhagaladze G. Cooperative nature of the denaturation process in tissues and cell nuclei. *Biofizika*, 23(1), 167-8, 1978.
- Narayan A., Tsien F., Sawyer I., Ehrlich M. Heterochromatin decondensation and DNA hypomethylation in cultured cells patients with ICF, a unique recombination – prone genetic disease. *Tulane Health Res.*, 2, 12-16, 1998.
- Narita M., Nunez S., Heard E., et al. Rb-mediated heterochromatin formation and silencing of E2F target genes during cellular senescence. *Cell*, 113, 703-16, 2003.
- Nielsen S., Schneider R., Bauer U., et al. Rb targets histone H3 methylation and HP1 to promoters. *Nature*, 412, 561-565, 2001.
- Nonaka N., Kitajima T., Yokobayashi S., et al. Recruitment of cohesin to heterochromatic regions by Swi6/HP1 in fission yeast. *Nat. Cell Biol.*, 4, 89-93, 2002.
- Nowosielska H., Pawlas N. Heavy metals in the cell nucleus - role in pathogenesis. *Acta Biochim. Pol.*, 62(1), 7-13, 2015.
- O'Halloran Th. Transitions metals in control of gene expression. *Science*, 261, 715-725, 1993.
- Obata Y., Furusawa Y., Hase K. Epigenetic modifications of the immune system in health and disease. *Immunology and Cell Biology*, 93, 226-232, 2015.
- Obuse C., Iwasaki O., Kiyomitsu T., et al. A conserved Mis12 centromere complex is linked to heterochromatic HP1 and outer kinetochore protein Zwint-1. *Nat. Cell Biol.*, 6, 1135-1141, 2004.
- Odenheimer J., Kreth G., Heermann D. Dynamic simulation of active/inactive chromatin domains. *J Biol Phys.*, 31(3-4), 351-363, 2005.
- Okuda K., Bardeguet A., Gardner G., et al. Telomere length in the newborn. *Pediatr. Res.*, 52(3), 377-381, 2002.
- Olins A., Olins D. Spheroid chromatin units (v bodies). *Science*, 251(4122), 330-332, 1974.
- Olson M., Dundr M., Szebenin A. The nucleolus: an old factory with unexpected capabilities. *Trends Cell Biol.*, 10, 5, 189-196, 2000.
- Orey E. Satellite association and variations in the nucleolar construction of normal and variant human G chromosome. *Humangenetik*, 22, 299-309, 1974.
- Ott G., Haaf T., Schmid M. Inhibition of condensation in human chromosomes induced by the thymidine analogue 5-iododeoxyuridine. *Chromosome Res.*, 6, 495-499, 1998.
- Painter R. Effect of caffeine on DNA synthesis in irradiated and unirradiated mammalian cells. *J Mol Biol.*, 5, 143(3), 289-301, 1980.
- Patil S., Lubs M. Classification of 9h regions in human chromosomes 1, 9, 16 by C-banding. *Hum. Genet.*, 38, 1, 35-38, 1977.

- Pendina A., Kuznetsova T., Loginova Iu., Baranov V. The methylation peculiarities of pericentromeric heterochromatin of chromosomes 1,9 and 16 in human embryo. *Tsitologiya*, 43(8), 772-776, 2001.
- Peters A., O'Carroll D., Scherthan H., et al. Loss of the Suv39h histone methyltransferases impairs mammalian heterochromatin and genome stability. *Cell*, 107, 323-337, 2001.
- Pidoux A., Allshire R. The role of heterochromatin in centromere function. *Biol. Sci.*, 360, 569-579, 2005.
- Pikalova L., Legeza V., Gorbunov V. The experimental evaluation of influence of exogenous melatonin on the genetic damage induced by radiation exposure. *Radiats Biol Radioecol.*, 53(5), 500-505, 2013.
- Probst A., Dunleavy E., Almouzni G. Epigenetic inheritance during the cell cycle. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 10, 192-206, 2009.
- Qin Q., Qin S., Wang L., Lei W. Immune responses and ultrastructural changes of hemocytes in freshwater crab *Sinopotamon henanense* exposed to elevated cadmium. *Aquatic Toxicology* 107, 140-146, 2012.
- Richards R., Sutherland G. Dynamic mutations: a new class of mutations causing human disease. *Cell*, 4, 70(5), 709-712, 1992.
- Rogina B., Helfand S. Sir2 mediates longevity in the fly through a pathway related to calorie restriction. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 101, 15998-16003, 2004.
- Salazar L., Cavalli S., Hirata M., Diament J., et al. Polymorphisms of the low-density lipoprotein receptor gene in Brazilian individuals with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 33, 1301-1304, 2000.
- Samani N., Burton P., Mangino M., Ball S., et al. A genome wide linkage study of 1,933 families affected by premature coronary artery disease: The British Heart Foundation (BHF) Family Heart Study. *Am. J. Hum. Genet.*, 77, 1011-1020, 2005.
- Sharma A. Metal clastogenesis in relation to diseases and ageing. *Symp. Human Genet., Bombay*, 115-117, 1989.
- Sharma A., Talukder G. Effects of metals on chromosomes of higher organisms. *Environ Mutagen.*, 9(2), 191-226, 1987.
- Sie M., Uitterlinden A., Bos M., et al. TGF-beta 1 polymorphisms and risk of myocardial infarction and stroke: the Rotterdam Study. *Stroke*, 37, 2667-2671, 2006.
- Sinclair D., Guarente L. Extrachromosomal rDNA circles--a cause of aging in yeast. *Cell*, 91, 1033-1042, 1997.
- Sary H. Composition and classification of human atherosclerotic lesions. *Virchows Arch A Pathol. Anat. Histopathol.*, 421, 277-290, 1992.

- Stitou S., Diaz de la Guardia R., Jimenes R., et al. Inactive ribosomal cistrons are spread throughout the B chromosomes of *Rattus rattus* (Rodentia, Muridae). Implications for their origin and evolution. *Chromosome Res.*, 8, 4, 305-311, 2000.
- Sumner A. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp. Cell Res.*, 75, 304-306, 1972.
- Sutherland GR. Rare fragile sites. *Cytogenet Genome Res.*, 100(1-4), 77-84, 2003.
- Sutherland J., Peng W., Zhang Q., Costa M. The histone deacetylase inhibitor trichostatin A reduces nickel-induced gene silencing in yeast and mammalian cells. *Mutat Res.*, 8, 479(1-2), 225-33, 2001.
- Taverna S., Li H., Ruthenburg A., Allis C., Patel D. How chromatin-binding modules interpret histone modifications: lessons from professional pocket pickers. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 14, 11, 1025-1040, 2007.
- Tawn E., Whitehouse C. Frequencies of chromosome aberrations in a control population determined by G banding. *Mutat. Res.*, 490, 171-177, 2001.
- Tissenbaum H., Guarente L. Increased dosage of a sir-2 gene extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 410, 227-230, 2001.
- Touchette N., Cole D. Differential Scanning Calorimetry of nuclei reveals the loss of structural features in chromatin by brief nuclease treatment. *Natl. Acad. Sci. USA*, 82, 2648-2646, 1985.
- Trere D. Ag-NOR staining and quantification. *Micron.*, 31, 127-131, 2000.
- Tsankova N., Renthal W., Kumar A., Nestler E. Epigenetic regulation in psychiatric disorders. *Nature Reviews Neuroscience*, 8, 355-367, 2007.
- Tse C., Sera T., Wolffe A., Hansen J. Disruption of higher-order folding by core histone acetylation dramatically enhances transcription of nucleosomal arrays by RNA polymerase III. *Mol. Cell Biol.*, 18, 4629-4638, 1998.
- Turner B. Histone acetylation and an epigenetic code. *Bioessays*, 22, 9, 836-845, 2000.
- Vaquero A. The conserved role of sirtuins in chromatin regulation. *Int. J. De Biol.*, 59, 303-322, 2009.
- Vaquero A., Loyola A., Reinberg D. The Constantly Changing Face of Chromatin. *Sci. Aging Knowl. Environ.*, 14, 4, 2003.
- Verma R., Rodriguez I. Structural organization of ribosomal cistrons in human nuclear organizing chromosomes. *Cytobios.*, 44, 175, 25-28, 1985.
- Verma R., Shah I., Dosic H. Frequencies of chromosome and chromatid types of associations of nucleolar human chromosomes demonstrated by the N-banding technique. *Cytobios.*, 36, 25-29, 1983.
- Vorobtsova I., Semonov A., Timofeyeva N., et al. Abnormalities in human populations exposed to low-dose ionizing radiation. *Mech. Aging Dev.*, 122, 13, 1373-1382, 2001.

- Wang H. Clastogenicity of chromium contaminated soil samples evaluated by Vicia root-micronuclear assay. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 426, 2, 147-149, 1999.
- Weber J., Wong C. Mutation of human short tandem repeats. *Hum Mol Genet.*, 2(8), 1123-1128, 1993.
- Westerheide S., Anckar J., Stevens S., Sistonen L., Morimoto R. Stress-inducible regulation of heat shock factor 1 by the deacetylase SIRT1. *Science*, 323, 1063-1066, 2009.
- Wolffe A. *Chromatin: Structure and Function*. Academic Press, San Diego, CA, 1998.
- Yasseen A., Musavi T. Cytogenetics Study in severaly mental retarded patients. *Saudi med.*, 22, 5, 444-449, 2001.
- Yasseen A., Musavi T. Metaphase acrocentric associations in mentally retarded patients. *Neurosciences*, 6 (4), 233-237, 2001.
- Zhang R., Poustovoitov M., Ye X., et al. Formation of Macro H2A-containing senescence-associated heterochromatin foci and senescence driven by ASF1a and HIRA. *Dev. Cell*, 8, 19-30, 2005.
- Васильева И., Чекова В., Львова Г., Чопикашвили Л. Стимуляция репарации ДНК у рабочих, контактирующих с хлористим кадмием, витаминами, ипользуемыми в качестве антимуагенов. *ДАН СССР* 318, 2, 441-445, 1991.
- Виноградова И., Букалев А., Забежинский М., Семенченко А., Хавинсон В., Анисимов В. Геропротекторный эффект пептида ALA-GLU-ASP-GLY у самцов крыс, содержащихся при разных режимах освещения. *Бюл. экспер. биол.*, 145, 4, 455-460, 2008.
- Грабовская И., Мамаева С., Мамаев Н. Изучение способности к серебрению и асоциациям акроцентрических хромосом нормальных и лейкозных клеток человека. *Цитология*, 28, 6, 350-359, 1986.
- Двалишвили Н. Характеристика хромосом человека при длительном культивировании лимфоцитов (стрение клеток *in vitro*.) Авторефер. дис. канд. биол. Наук., Тбилиси, 1989.
- Девидзе М. Исследование мутагенного действия ионизирующего излучения и тяжелых металлов в клетках костного мозга белых мышей в условиях гипоксии и гипероксии. Автореф. Канд. Дис. Москва, 1983.
- Иванова М., Сазонова М., Орехов А., Собенин И. Генетические детерминанты атеросклероза, локализованные в первой хромосоме человека. *Актуальные проблемы современной науки*, 2012.
- Ильинских Н. Уровень хромосомных нарушений при некоторых заболеваниях, сопровождающихся развитием аутоимунных просессов. *Клин. Медицина*, 5, 44-47, 1980.
- Кузник Б., Морозов В., Хавинсон В. Цитомедины: 25-летний опыт экспериментальных и клинических исследований. СПб.: Наука. -310, 1998.
- Лазутка Ю. Сестринские хроматидные обмены в клетках высших эукариот. *Цитология*, 32, 10, 977-984, 1990.

- Лобов И., Подгорная О. Роль белков ядерного матрикса в формировании гетерохроматина. Цитология, 41, 7, 562-573, 1999.
- Львова Г., Чопикашвили Л., Васильева И., Засухина Г. Защитное действие аскорбиновой кислоты в клетках людей контактирующей с хлоридом кобальта. Генетика, 26, 7, 1316-1319, 1990.
- Македонов Г., Евграфов О. Молекулярные механизмы образования Сестринских хроматидных обменов и структурных мутаций хромосом В кн.: Мутагенез и репарация в системе вирус-клеика. М. Наука, 1989.
- Мамаев Н., Мамаева С., Ушакова Е., Результаты изучения активности ядришковых организаторов клеток костного мозга больных множественной миеломой. Цитология и генетика, 91-97, 1986.
- Морозов В., Хавинсон В. Пептидные биорегуляторы (25-летний опыт экспериментального и клинического изучения). СПб.: Наука. –74, 1996.
- Морозов В., Хавинсон В., Манилин В. Пептидные тимомиметики - СПб.: Наука, -158, 2000.
- Поворознюк В., Хавинсон В., Макогончук А., Рыжак Г., Ереслов Е., Гопкалова И. Изучение влияния пептидных регуляторов на структурно-функциональное состояние костной ткани крыс при старении. Успехи геронтологии, 20, 2, 134–137, 2007.
- Прокофьева-Бельговская А. Гетерохроматические районы хромосом: старение и функции. М.: Наука, -431, 1986.
- Стабровская Н. Функциональная активность рибосомальных генов при детских аллергиях: автореф. дисс.... канд. биол. наук., Москва, -180, 2010.
- Трубникова Е.В. Эпидемиология, цитогенетические эффекты и фенотипические особенности у больных со злокачественными лимфомами: дисс....канд. биол. наук., Курск, – 173, 2006.
- Хавинсон В. Влияние тетрапептида на биосинтез инсулина у крыс с аллоксановым диабетом. Бюл. эксп. биол., 140, 10, 453–456, 2005.
- Хавинсон В., Анисимов В. Пептидные биорегуляторы и старение. СПб.: Наука. –223, 2003.
- Хавинсон В., Анисимов С., Малинин В., Анисимов В. Пептидная регуляция генома и старение. М.: РАМН –208, 2005.
- Хавинсон В., Морозов В. Пептиды эпифиза и тимуса в регуляции старения. СПб.: Фолиант, -159, 2001.
- Храмцов А., Иванов В., Трубникова Е., и др. Многомерный анализ функциональной активности рибосомальных генов при хронической обструктивной болезни легких, Фундаментальные исследования, 5, 369–373, 2012.

7. განმარტებები

- Apo-B - აპოლიპოპროტეინი-B
- BrdU - ბრომდეზოქსიურიდინი
- CD36 - მაკროფაგის ზედაპირზე არსებული რეცეპტორი
- DDR - დნმ-ს დარღვევაზე პასუხისმგებელი ცილები
- ERC - დნმ-ს ექსტრაქრომოსომული რგოლები
- FISH - ფლუორესცენტული ინ სიტუ ჰიბრიდიზაცია
- FMR1 X - გენი, რომლის მუტაციაც იწვევს ფრაგილური X სინდრომის 95%-ს
- FRAX – ფრაგილური საიტი X ქრომოსომაზე
- fudR - ფლუოროდეზოქსიურიდინი
- GFP - ჰისტონებთან შერწყმული პროტეინი
- gpt - გლუტამინ-პირუვატ ტრანსამინაზას (ალანინ ამინოტრანსამინაზას) მაკოდირებელი გენი
- H3K9Me – H3 ჰისტონის ამინოდაბოლოებაში არსებული მეთილირებული ლიზინი
- HMG - მაღალი მოქმედების მქონე არაჰისტონური ცილების ჯგუფი (HMG1, HMG2, HMG14, HMG17)
- HMR - ლოკუსი, რომელშიც მოთავსებულია „გაჩუმებული“ MAT (საფუარის სპორაციის შესახებ ინფორმაციის მატარებელი) ალელი
- HP1 - ჰეტეროქრომატინული ცილა 1
- HSF1, FOXO - ტრანსკრიფციის აქტივატორთა ოჯახი
- I-CAM - უჯრედშიდა ადჰეზიური მოლეკულა
- NADH – ნიკოტინამინ ადენინ დინუკლეოტიდის აღდგენილი ფორმა
- P-34 კინაზები - საფუარში უჯრედული ციკლის რეგულატორი
- PCSK9 - პროტეაზას გენი
- PTM - პოსტ ტრანსლაციური მოდიფიკაცია
- Sir1 - ჰისტონდეაცეტილაზა (ჭიებსა და ბუხებში)
- Sir2 – ჰისტონდეაცეტილაზა (საფუარში)
- SIRT1 - გენი, რომელიც აკოდირებს ნად-დამოკიდებულ პროტეინ დეაცეტილაზას - sirtuin-1-ს
- V-CAM - სისხლძარღვოვანი ადჰეზიური მოლეკულა
- XPC, ERCC6, ERCC8, ERCC1/XPF - ნუკლეოტიდების ექსციზიური რეპარაციის კომპონენტები