ავტორის სტილი დაცულია

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი
ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

ქეთევან გოგიძე

ქრომოსომული პარამეტრებისა და GSTT1, GSTM1 გენების პოლიმორფული ვარიანტების განსაზღვრა ფილტვის ტუბერკულოზის რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმების დროს

სადოქტორო პროგრამა „ბიოლოგია“

დისერტაცია

ბიოლოგიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

თეიმურაზ ლეჟავა ,პროფესორი,
ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი
თინათინ ჯოხაძე , ასოცირებული პროფესორი,
ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი

თბილისი 2024

Ivane Javakhishvili Tbilisi State University
Faculty of Exact and Natural Sciences

Ketevan Gogidze

Determination of Chromosome Parameters and Polymorphic Variants of GSTT1,GSTM1 Genes in Resistant and Sensitive Forms of Pulmonary Tuberculosis

PhD Programm ,,Biology“

PhD thesis

To obtain the academic degree of PhD in Biology

Scientific supervisors:

Teimuraz Lezhava, Professor,
Doctor of Biological Sciences
Tinatin Jokhadze, Associated Professor,
Doctor of Biological Sciences.

Tbilisi 2024

ანოტაცია

ფილტვის ტუბერკულოზი (ფტ), როგორც ქრონიკული ინფექციური დაავადება, მისი გლობალური გავრცელებისა და მასთან ასოცირებული მაღალი ლეტალურობის გამო მრავალი მიმართულებით შეისწავლება. ბოლო პერიოდში, ფტ-ს განვითარებაში დაავადებულთა გენოტიპის როლის გამოკვეთის შედეგად განსაკუთრებული აქტუალობა შეიძინა ტუბერკულოზთან დაკავშირებულმა გენეტიკურმა კვლევებმა. მიღებულია, რომ ტუბერკულოზი მემკვიდრული წინასწარგანწყობის დაავადებაა. ამ ტიპის დაავადებებისათვის ზოგადად დამახასიათებელია მუტაციური და ეპიგენეზური პარამეტრების საგრძნობი ცვალებადობა. ერთი მხრივ, ინტერესს იწვევს ამ ცვალებადობის ხასიათის შედარებითი შესწავლა ფტ-ს რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმების დროს, რამაც შეიძლება გარკვეული როლი შეასრულოს მკურნალობის შესაბამისი სტრატეგიის დროულ შერჩევაში. მეორე მხრივ, მემკვიდრული წინასწარგანწყობის დაავადებებისას რეგულატორული ბუნების ოლიგოპეპტიდების მაკორეგირებელი ზემოქმედების გათვალისწინებით, პერსპექტიულად ისახება ოლიგოპეპტიდების მოქმედების შესწავლა ფტ-ს რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმების დროსაც.

ფტ, როგორც მულტიფაქტორული დაავადება დიდი რაოდენობით გენებისა და გარემოს მრავალი ფაქტორის ურთიერთქმედების შედეგად ვითარდება. თუ ადრეულ წლებში ფტ-ს სხვადასხვა კლინიკური ფორმების, კერძოდ, სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმების განვითარება ძირითადად ასოცირებული იყო გამომწვევის-M.Tuberculosis მგრძნობელობასთან ტუბერკულოზის საწინააღმდეგო თერაპიაში გამოყენებული პირველი რიგის მედიკამენტების მიმართ, ბოლო წლების ლიტერატურაში სულ უფრო მეტი ყურადღება ეთმობა თავად ინდივიდის გენეტიკურ კონსტიტუციას. ამ მხრივ, განსაკუთრებულად გამოკვეთილია ქსენობიოტიკების ბიოტრანსფორმაციაში მონაწილე გენების როლი.

ფილტვის ტუბერკულოზის სხვადასხვა ფორმების(სენსიტიური და რეზისტენტული) განვითარებაში ინდივიდის გენომის ეპიგენეზური და მუტაციური ცვალებადობისა და აგრეთვე ფტ-სთან ასოცირებული GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმორფული ვარიანტების მატარებლობის განსაზღვრა მნიშვნელოვან ფაქტორს წარმოადგენს ფტ-ის მკურნალობის სტრატეგიის შემუშავებაში. აღნიშნულიდან გამომდინარე სადისერტაციო შრომის **მიზანს წარმოადგენდა:** გენომური პარამეტრების ეპიგენეზური ცვალებადობის დონის შედარებითი შესწავლა და მათი კორექციის შესაძლებლობის განსაზღვრა რეგულატორული ბუნების ოლიგოპეპტიდების ზემოქმედებით და GSTT1, GSTM1 გენების პოლიმორფული ვარიანტების მატარებლობის განსაზღვრა ფილტვის ტუბერკულოზის სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმების დროს.

წარმოდგენილ ნაშრომში კვლევის მასალად გამოყენებული იყო ტუბერკულოზით პირველადად დაავადებულთა პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტარული კულტურების უჯრედები, საკონტროლოდ გამოიყენებოდა კლინიკურად ჯანმრთელი საშუალო ასაკის ინდივიდების ლიმფოციტარული კულტურები ქრომატინის მამოდიფიცირებელ ფაქტორებად გამოყენებული იყო ოლიგოპეპტიდები: ეპიტალონი და ლივაგენი და ლივაგენ-კობალტის კომბინაცია.

ჩატარებულმა კვლევებმა ცხადყო ქრომატინის ჰეტეროქრომატინიზაციის სპეციფიკური ხასიათი ფტ-ს სენსიტიური ფორმით დაავადებულებში. დაფიქსირდა კონტროლთან შედარებით გაზრდილი ჰეტეროქრომატინიზაცია. ბიორეგულატორის გავლენით ხდებოდა ჰეტეროქრომატინიზაციის საკონტროლო მაჩვენებელთან დაახლოება. საგულისხმოა, რომ ფტ-ს სენსიტიური ფორმის დროს ხდება ტელომერული ჰეტეროქრომატინიზაციის გადანაწილება მედიალურ უბანში.

აკროცენტრულ ქრომატიდებთან მიმართებაში უნდა აღინიშნოს, რომ, ფტ-ს ორივე ფორმის დროს დაფიქსირდა აკროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაციების სიხშირისა და რიბოსომული გენების აქტივობის შემცირებული მაჩვენებელი, რაც მიუთითებს სინთეზური პროცესების დონის დაქვეითებაზე, ბიორეგულატორებით ზემოქმედება გამოიხატა ამ მაჩვენებლების მამოდიფიცირებელ ეფექტში.

რაც შეეხება **GSTT1** და **GSTM1** გენების პოლიმორფული ვარიანტების ანალიზს, როგორც შედეგებიდან ჩანს ორმაგი ნულოვანი(დელეცირებული) გენოტიპი ორივე ფორმით დაავადებულ ინდივიდებში სარწმუნოდ აღემატება ჯანმრთელი ინდივიდების შესაბამის მონაცემს (12,5±2,1 და 11,1±1,7 ფტ-ს დროს; 3±0,1 - კონტროლში), ამავდროულად გამოვლინდა ფტ-ს რეზისტენტული ფორმის დროს დაფიქსირებული **GSTT1** და **GSTM1** გენების ორმაგი ნულოვანი გენოტიპის მაჩვენებლის მატების ტენდენცია სენსიტიური ფორმით დაავადებულთა ანალოგიურ მაჩვენებელთან შედარებით. ფტ-ს დროს **GSTT1** და **GSTM1** გენების პოლიმორფული ვარიანტების კვლევის შედეგები კიდევ ერთხელ ხაზს უსვამს გენოტიპის მნიშვნელობას დაავადების განვითარებაში.

Annotation

Pulmonary tuberculosis (PT), as a chronic infectious disease, is being studied in many directions due to its global distribution and high lethality associated with it. Recently, genetic studies related to tuberculosis have gained special relevance as a result of identification of the role of the genotype of patients in the development of PT. PT is a hereditary predisposition disease. Significant variation of mutational and epigenetic parameters is typical for this kind of diseases in general. On the one hand, it is of interest to compare the nature of this variation in resistant and sensitive forms of PT, which may play a role in the timely selection of an appropriate treatment strategy. On the other hand, in light of the normalization effect of oligopeptides of a regulatory nature shown for hereditary predisposition diseases, it is promising to study these oligopeptides in resistant and sensitive forms of PT.

TB as a multifactorial disease develops as a result of the interaction of a large number of genes and many environmental factors. If in the early years the development of different clinical forms of PT, namely, sensitive and resistant forms, was mainly associated with the sensitivity of the pathogen M.Tuberculosis to the first-line drugs used in anti-tuberculosis therapy, in the literature of recent years, more and more attention is paid to the genetic constitution of the individual. In this regard, the role of genes involved in the biotransformation of xenobiotics is particularly highlighted.

In sensitive and resistant forms of lung tuberculosis determination of epigenetic and mutational variations of individual's genome as well as carrying of polymorphic variants of GSTT1 and GSTM1 genes associated with PT is an important factor in defining PT treatment strategy. Based on this, **the**

aim of the dissertation work was Comparative study of the level of epigenetic variability of genomic parameters and determination of the possibility of their correction by exposure to oligopeptides of a regulatory nature and determination of the carriage of polymorphic variants of GSTT1, GSTM1 genes in sensitive and resistant forms of pulmonary tuberculosis.

As the research material for the presented work, there were used peripheral blood lymphocyte culture cells of persons who have primarily contracted tuberculosis. Lymphocyte cultures of clinically healthy middle-aged individuals were used as control. Oligopeptides Epitalon and Livagen and Livagen-cobalt mixture were used as chromatin modifying factors.

Conducted studies have shown specific nature of chromatin heterochromatinization in individuals with the sensitive form of PT. There was found the increased heterochromatinization compared to control. The influence of bioregulators made heterochromatinization closer to control value. It is important that in the sensitive form of lung PT telomere heterochromatinization is redistributed in the medial region.

In connection with acrocentric chromatids, it should be noted that in both forms of PT the levels of acrocentric chromosome association frequency and ribosomal genes activity were decreased, which shows the decreased levels of the synthesis processes. The influence of bioregulators was expressed in the modifying effect of those levels.

Regarding the analysis of polymorphic variants of GSTT1 and GSTM1 genes, the results show that the double null genotype in individuals with both forms is higher than the corresponding data in healthy individuals (12.5±2.1 and 11.1±1.7 for TB; 3 ±0.1 for control), at the same time, there was found a tendency to increase the rate of double null genotype of GSTT1 and GSTM1 genes observed in the case of PT resistant form compared to the similar rate in patients with sensitive form. The results of the study of polymorphic variants of GSTT1 and GSTM1 genes in PT once again emphasize the importance of genotype in the development of the disease.

შინაარსი

1. შესავალი---------- 7
2. ლიტერატურის მიმოხილვა
2.1.ტუბერკულოზის ეპიდემიოლოგია---------- 10
2.2.ქრომატინის ეპიგენეტიკური ცვალებადობა პათოლოგიებთან
კავშირში---------- 16
2.2.1.ქრომატინის ზოგადი ჰეტეროქრომატინიზაცია---------- 18
2.2.2.შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლები---------- 19
2.2.3აკროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაციების და
რიბოსომული ცისტრონების აქტივობის დონე---------- 20
2.3.ტუბერკულოზის გენეტიკური ასპექტები---------- 22
2.3.1.ტუბერკულოზთან ასოცირებული გენები
(GST გენის GSTT1 და GSTM1ალელები)---------- 25
2.3.2.ქრომოსომათა სტრუქტურულ-რაოდენობრივი დარღვევები
და ფრაგილური საიტები---------- 31
2.4. სინთეზური ოლიგოპეპტიდების ბიოლოგიური როლი---------- 34
3.კვლევის მასალა და მეთოდები
3.1. მასალა---------- 36
3.2. მეთოდები
3.2.1.პერიფერიული სისხლის კულტივირების მეთოდი---------- 36
3.2.2.დიფერენციული სკანირების მიკროკალორიმეტრიული
მეთოდი---------- 37
3.2.3.შვილეულ ქრომატიდთა გაცვლების გამოვლენის მეთოდი---- 37
3.2.4.იზოთერმულ სმარტ-ამპლიფიკაციაზე დაფუძნებული
მეთოდი (Smart.Amp-2)---------- 38
3.2.5.აკროცენტრულ ქრომოსომათა აქტიური
ბირთვაკმაორგანიზებელი უბნების გამოვლენის მეთოდი----- 39
3.2.6.მუტაციების (სტრუქტურული, რაოდენობრივი და ფრაგილური
საიტების) აღრიცხვის მეთოდები---------- 41
4. შედეგები და განსჯა
4.1.ჰეტეროქრომატინიზაციის ხარისხის შეფასება ფტ-ით დაავადებული
პაციენტების ლიმფოციტებში ბიორეგულატორით მოქმედებისას
(დიფერენციული სკანირების მიკროკალორიმეტრიისა და შვილეულ
ქრომატიდთაშორისი გაცვლების აღრიცხვის მეთოდით)---------- 43
4.2. ფტ-ით დაავადებულ პაციენტებში აკროცენტრულ ქრომოსომათა
ასოციაციების სიხშირისა და რიბოსომული ცისტრონების აქტივობის
შეფასება ბიორეგულატორებით ზემოქმედებისას---------- 52
4.3. GSTგენის GSTT1 და GSTM1 ალელების მატარებელთა
ვარიაბელობის განსაზღვრა ფტ-ით დაავადებულ პაციენტებში-------- 68

4.4. ქრომოსომათა სტრუქტურულ-რაოდენობრივი დარღვევები და ფრაგილური საიტების სიხშირე ფტ-ით დაავადებულ პაციენტებში და მათზე ბიორეგულატორების ზემოქმედების განსაზღვრა---------- 72
5. დასკვნები---------- 87
6. გამოყენებული ლიტერატურის სია---------- 89
7. განმარტებები---------- 97
8. დანართი---------- 98

1. შესავალი

ტუბერკულოზი (ლათ. Tuberculum-ხორკლი) ქრონიკული ინფექციური დაავადებაა, რომელსაც იწვევს ძირითადად M. tuberculosis. ტუბერკულოზი ყველაზე ხშირად აზიანებს ფილტვებს, ამდენად, მის ყველაზე გავრცელებულ ფორმას ფილტვის ტუბერკულოზი (ფტ) წარმოადგენს. მეოცე საუკუნემდე იგი პრაქტიკულად განუკურნებელი დაავადება იყო.

ფილტვის ტუბერკულოზთან დაკავშირებული კვლევების აქტუალობა განპირობებულია რამდენიმე ფაქტორით: ფტ-ით ავადობის მაღალი სიხშირით, მისი გავრცელების გლობალური ხასიათით, მასთან დაკავშირებული ლეტალობის მაღალი მაჩვენებლით.

გენეტიკის პოზიციებიდან ტუბერკულოზი მულტიფაქტორულ დაავადებებს მიეკუთვნება. მულტიფაქტორული დაავადებები (მფდ) ინფექციურ დაავადებათა ყველაზე უფრო მრავალრიცხოვანი ჯგუფია, რომელიც ადამიანის მთელი სომატოპათოლოგიის 90%-ზე მეტს შეადგენს და ხასიათდება თანამედროვე პოპულაციებში შრომისუნარიანი მოსახლეობის ავადობის, სიკვდილიანობისა და ინვალიდობის ყველაზე მაღალი სიხშირით. გავრცელებული მფდ-ის თერაპიისადმი ტრადიციული მიდგომები კოლოსალურ ეკონომიკურ ხარჯებთან არის დაკავშირებული და ძალიან მწირ ეფექტს იძლევა. სამკურნალო-პრევენტული ღონისძიებების დაბალი ეფექტურობის პრობლემა დაკავშირებულია მათი ეტიოლოგიური მიმართულების არარსებობასთან, რაც მფდ-ს უდიდესი ნაწილის ფორმირების ძირითადი მექანიზმების არასაკმარისი გაგებით არის განპირობებული (Weiss and Terwilliger, 2000; WHO, 2016 ;Van Tong et al., 2017)

მულტიფაქტორული დაავადებები, და მათ შორის - ტუბერკულოზი, დიდი რაოდენობით გენებისა და გარემოს მრავალი ფაქტორის ურთიერთქმედების შედეგად ვითარდება. როგორც ცნობილია მემკვიდრული წინასწარგანწყობის როლი ტუბერკულოზის შემთხვევაში ძალიან მაღალია: ზოგიერთ ინდივიდს გააჩნია ტუბერკულოზური ინფექციისადმი თანდაყოლილი ეფექტური მდგრადობა, მაშინ როდესაც სხვებში, გამომწვევთან კონტაქტისას, დაავადება ვითარდება. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ, თუ ადრეულ წლებში ფტ-ს სხვადასხვა კლინიკური ფორმების, კერძოდ, სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმების განვითარება ძირითადად ასოცირებული იყო გამომწვევის მგრძნობელობასთან ტუბერკულოზის საწინააღმდეგო თერაპიაში გამოყენებული პირველი რიგის მედიკამენტების მიმართ, ბოლო წლების ლიტერატურაში სულ უფრო დიდი ყურადღება ეთმობა თავად ინდივიდის გენეტიკურ კონსტიტუციას (Martino et al., 2019; Zhdanova et al., 2021; Fatima et al., 2021; Lesnik and Ginda, 2022).

ამჟამად პერსპექტიულად გვესახება კვლევების ორი მიმართულება:

პირველი მიმართულება დაკავშირებულია გენომის ცვალებადობის როლთან, კერძოდ, გენომური პარამეტრების იმ მაჩვენებლების ცვალებადობის გამოვლენასთან, რომლებიც გენომის მოდიფიკაციით არის განპირობებული და შეიძლება სპეციფიკურად ასოცირებული აღმოჩნდეს მოცემული პათოლოგიის განვითარებასთან (Назаренко, 2004). ამ კუთხით მნიშვნელოვანია ისეთი გენომური მაჩვენებლების კვლევები, როგორიც არის ზოგადი ქრომატინის მდგომარეობა, შვილეულქრომატიდთაშორისი გაცვლები, აკროცენტრულ ქრომოსომათა ბირთვაკწარმომქმნელი რაიონები (ბწრ), აკროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაცია, ქრომოსომათა სტრუქტურული და რაოდენობრივი დარღვევები,

ფრაგილური საიტები. ამ მაჩვენებლების რაოდენობრივი მახასიათებელი დამოკიდებულია გენომის მოდიფიკაციურ ცვლილებებზე და, შესაბამისად, ამ მიმართულებით მიღებული მონაცემები გენომის სპეციფიკური ეპიგენეზური ცვალებადობის დეტექტორს წარმოადგენს.

საინტერესოა, რომ როგორც ლიტერატურული წყაროები მოწმობენ, აღინიშნება, პათოლოგიების შემთხვევაში დაფიქსირებული გენომური პარამეტრების ცვალებადობა ექვემდებარება კორექციას ბიორეგულატორების ზემოქმედებისას (Lezhava et al., 2015).

მეორე მიმართულება დაკავშირებულია იმ აქტუალობასთან, რომელსაც იძენს დაავადებათა განვითარებაში „ზოგადი" გენების წვლილის შესწავლის პოზიციებიდან ქსენობიოტიკების მეტაბოლიზმში მონაწილე გენთა სისტემის კვლევა. ამ სისტემის ფერმენტების მიერ ხორციელდება არა მხოლოდ ქიმიური სტრუქტურის მიხედვით მრავალფეროვანი ეგზოგენური მოლეკულების უმრავლესობის, არამედ მრავალრიცხოვანი ენდოგენური ნივთიერებების, მაგ. ანთების მედიატორების მეტაბოლიზმი. ქსენობიოტიკების მეტაბოლიზმის ფერმენტთა სისტემა წარმოადგენს ევოლუციის პროცესში ფორმირებული ორგანიზმის ადაპტაციის მექანიზმს ტოქსიკური ეგზოგენური და ენდოგენური ნაერთების ზემოქმედებისადმი. ვარაუდობენ რომ მეტაბოლიზმში მონაწილე ფერმენტების მიერ სხვადასხვა სუბსტრატების დეგრადაციის განსხვავებული სიჩქარეები შეიძლება საფუძვლად ედოს რიგი დაავადებებისადმი განსხვავებულ მგრძნობელობას (წინასწარგანწყობას) (Vavilin et al., 2002). მათ შორის, ტუბერკულოზის. ცხადია, რომ გენეტიკური სხვაობები, რომლებსაც ადგილი აქვს ქსენობიოტიკების ბიოტრანსფორმაციაში მონაწილე ფერმენტების მაკოდირებელი გენების ექსპრესიასა და აქტივობაში, დიდ როლს ასრულებენ დაავადების განვითარებაში, რაც შესაძლებლობას იძლევა მათი, როგორც მნიშვნელოვანი შემადგენლის განხილვისა ამ დაავადებათა ეტიოლოგიასა და პათოგენეზში (Van Tong et al., 2017), ამ მხრივ საინტერესო შედეგებია მიღებული მფდ, და მათ შორის, ფილტვის ტუბერკულოზის **GSTT1** და **GSTM1** გენების პოლიმორფულ ვარიანტებთან კავშირის შესახებ. ამასთან, აღინიშნება, რომ მიღებული შედეგები სპეციფიკურია ადამიანთა ცალკეული პოპულაციებისათვის (Johnson and Todd, 2000; Cardon and Bell , 2001; Van Tong et al., 2017).

ამრიგად, ქსენობიოტიკების მეტაბოლიზმის სისტემის **GSTT1** და **GSTM1** გენების პოლიმორფული ვარიანტების როლის შესწავლა ტუბერკულოზის განვითარებაში აქტუალურია და გულისხმობს მათი კავშირის კვლევას დაავადების მიმდინარეობის კლინიკურ თავისებურებებთან. ურთიერთქმედების იმ მექანიზმებში გარკვევას, რომელსაც ადგილი აქვს მემკვიდრული ინფორმაციის რეალიზაციის პროცესში მთლიანი ორგანიზმის დონეზე.

ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე სადისერტაციო შრომის **მიზანს წარმოადგენდა:**

გენომური პარამეტრების ეპიგენეზური ცვალებადობის დონის შედარებითი შესწავლა და მათი კორექციის შესაძლებლობის განსაზღვრა რეგულატორული ბუნების ოლიგოპეპტიდების ზემოქმედებით და GSTT1, GSTM1 გენების პოლიმორფული ვარიანტების მატარებლობის განსაზღვრა ფილტვის ტუბერკულოზის სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმების დროს.

შრომის მიზნიდან გამომდინარე დასახული იყო შემდეგი **ამოცანები:**

1.ზოგადი ქრომატინის მდგომარეობის შეფასება სკანირებადი მიკროკალორიმეტრიული მეთოდით და შქგ-ს ტესტის გამოყენებით, შვილეულქრომატიდთაშორისი გაცვლებისა და სომატური რეკომბინაციის სიხშირის დადგენა ფტ-თი დაავადებულთა ინტაქტურ ლიმფოციტებში და ბიორეგულატორ-ეპიტალონის ზემოქმედების შედეგად;

2.აკროცენტრულ ქრომატიდთა ასოციაციების და რიბოსომული გენების დიფერენციული აქტივობის შეფასება ფტ-ს სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმების დროს მათზე ბიორეგულატორებით ზემოქმედებისას;

3.ქრომოსომათა სტრუქტურულ-რაოდენობრივი დარღვევების სიხშირისა და ფრაგილური საიტების დონის ცვალებადობის შესწავლა ფტ-ს რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმებით დაავადებულთა ლიმფოციტებში მათზე ბიორეგულატორების ზემოქმედებისას;

4. GST გენის პოლიმორფული **GSTT1** და **GSTM1** გენოტიპების სიხშირეების განსაზღვრა ფტ-ს სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმების დროს.

სადისერტაციო ნაშრომით გათვალისწინებული კვლევები საქართველოში პირველად ჩატარდა.

2. ლიტერატურის მიმოხილვა

2.1. ტუბერკულოზის ეპიდემიოლოგია

დაავადება ტუბერკულოზი უძველესი დროიდან არის ცნობილი, ტუბერკულოზის გამომწვევის M. tuberculosis-ის გვარი 150 000 წლის წინ წარმოიშვა და უკანასკნელი 200 წლის მანძილზე უფრო მეტი სიკვდილის მიზეზი გახდა ვიდრე სხვა ნებისმიერი ინფექციური დაავადებები (Daniel, 2006; Paulson 2013) XX საუკუნის დასაწყისში ევროპაში წარმოებული არქეოლოგიური გათხრებისას აღმოჩენილია ქვის ხანაში გარდაცვლილი ადამიანის ჩონჩხი, რომლის გულმკერდის მალებზე ნანახი იქნა ტუბერკულოზისათვის დამახასიათებელი ცვლილებები. ძვ. წ.აღ-ით დათარიღებული ეგვიპტისა და ანდების მუმიებში ნაპოვნია ჩონჩხის ტიპიური ტუბერკულოზური დეფორმაციები (Nerlich at al, 1997; Donoghue et al., 2004; Palomino et al., 2007). M.bovis-ით გამოწვეული ტუბერკულოზური ანომალიები ჩვ. წ.აღ-მდე 8000 წლით დათარიღებული ჩრდილო ევროპის და აზიის ნამარხებშიც არის ნაპოვნი (Cosivi et al., 1995; Behera, 2010; Tskvitinidze et al., 2012).

ტუბერკულოზი უძველესი დროიდან მოყოლებული დღემდე საზოგადოების ჯანმრთელობის სერიოზულ პრობლემას წარმოადგენს, განსაკუთრებით განვითარებად ქვეყნებში. ტუბერკულოზი მულტიფაქტორულ დაავადებათა (მფდ) რიცხვს მიეკუთვნება. M. tuberculosis ჩხირით ინფიცირების შემთხვევაში დაავადების კლინიკურ განვითარებაზე სხვადასხვა ფაქტორი მოქმედებს, როგორიცაა, ეკონომიკური მდგომარეობა, კვების რაციონი, ჰიგიენური პირობები, ინდივიდის მგრძნობელობა ინფექციისადმი, კოინფექციების არსებობა, ემოციური და ფიზიკური სტრესი, სამედიცინო მომსახურების დონე და ხელმისაწვდომობა, და ა.შ. უნდა აღინიშნოს რომ არის შემთხვევები, როდესაც ადამიანები ინფიცირდებიან, მაგრამ ზემოთ ჩამოთვლილი ფაქტორების არსებობის შემთხვევაშიც კი არ ავადდებიან, ამ მოსაზრებას ისიც ადასტურებს, რომ დაავადება კლინიკური სახით ინფიცირებულთა 10%-ს უვითარდება, ხოლო 90% ინფექციის მატარებლად რჩება მთელი სიცოცხლის მანძილზე. როდესაც ადამიანში განვითარდება აქტიური ფტ, სიმპტომები (როგორიცაა ხველა, სიცხე, ღამის ოფლიანობა, წონის კლება) შეიძლება თვეების განმავლობაში მსუბუქად მიმდინარეობდეს, რის გამოც გვიანდება ექიმთან მიმართვიანობა და ამის შედეგად იზრდება დაავადების გადადების რისკი. აქტიური ფტ -ს მქონე ადამიანს შეუძლია დააავადოს ახლო კონტაქტში მყოფი 5-15 ადამიანი.

ტუბერკულოზით უმეტესად ავადდებიან მოზრდილები თავიანთ პროდუქტიულ ასაკში, ტუბერკულოზის შემთხვევების ნახევარზე მეტი გვხვდება 15-44 წლის ასაკის პირებში. თუმცა ყველა ასაკობრივი ჯგუფი რისკის ჯგუფს წარმოადგენს. აქტიური ფტ-ის განვითარების რისკი დიდია იმ პაციენტებში, რომლებიც დაავადებული არიან სხვა დაავადებებით, რომლებიც აზიანებს იმუნურ სისტემას. არასაკმარისი კვების დროს 3- ჯერ მეტია დაავადების განვითარების რისკი.

მრავალ ქვეყანაში ტუბერკულოზის დიაგნოსტირებისათვის გამოიყენება ნახველის მიკროსკოპია, რითაც ხდება დაავადების გამომწვევი M. tuberculosis აღმოჩენა. ამ მეთოდით წამალ-რეზისტენტული ფორმების აღმოჩენა ვერ ხერხდება. 2010 წლიდან გაფართოვდა ექსპრეს ტესტების გამოყენება, მას შემდეგ რაც WHO-მ რეკომენდაცია გაუწია მის გამოყენებას. ტესტი ერთდროულად ავლენს ტუბერკულოზს და რიფამპიცინისადმი

მდგრადობას, რომელიც არის ტუბერკულოზის მკურნალობაში მთავარი პრეპარატი. დიაგნოზის დასმა ხდება 2 საათის განმავლობაში და WHO-ს მიერ რეკომენდებულია მისი გამოყენება პირველადი დიაგნოსტიკისათვის იმ პირებში, რომელთაც აქვთ ტუბერკულოზისათვის დამახასიათებელი სიმპტომები.

ტუბერკულოზის კლინიკურ განვითარებაში გარემო ფაქტორებთან ერთად არსებით როლს ასრულებს ინდივიდის გენეტიკური კონსტიტუცია, რომელიც განსაზღვრავს დაავადებისადმი სენსიბილობას ან მისდამი ორგანიზმის მდგრადობას. ტუბერკულოზი გამოირჩევა კლინიკური პოლიმორფიზმით, რაც დაავადების სხვადასხვა ფორმით გამოვლინებაში აისახება: ის შეიძლება მიმდინარეობდეს როგორც უსიმპტომოდ, ასევე ფილტვის ფართო დესტრუქციული პროცესებით, სწრაფად ან ქრონიკულად, იყოს როგორც კეროვანი, ასევე ინფილტრაციული (Behera, 2010). ყოველივე ზემოთქმული იმაზე მიგვანიშნებს, რომ ტუბერკულოზის განვითარება მხოლოდ ტუბერკულოზის მიკობაქტერიასა და გარემო ფაქტორების გავლენაზე არ არის დამოკიდებული. ბოლო პერიოდის მეცნიერულ კვლევებში (Remus et al., 2004; Takahashia et al., 2008; Thamaria et al., 2010; Tyagi et al., 2010) მკაფიოდ გამოიკვეთა გენეტიკური ფაქტორების როლი ტუბერკულოზის ეტიოპათოგენეზში. აღინიშნება, რომ ტუბერკულოზის კლინიკურ განვითარებაში გარემო ფაქტორებთან ერთად არსებით როლს ასრულებს ინდივიდის გენოტიპი, რომელიც განსაზღვრავს დაავადებისადმი ორგანიზმის მგრძნობელობას ან მისდამი მდგრადობას. აღწერილია ის გენები, რომლებიც ტუბერკულოზთან არის ასოცირებული და რომელთა დიდი ნაწილი ორგანიზმული იმუნიტეტის კონტროლში მონაწილეობს (Zhang et al., 2005).

ტუბერკულოზის პრევენცია მოიცავს მაღალი რისკის ჯგუფების გამოვლენას, ადრეულ დიაგნოსტიკას და მკურნალობას, ახალშობილთა ვაქცინაციას. მაღალი რისკის ქვეშ შედიან აქტიური ტუბერკულოზით დაავადებულთა ოჯახის წევრები, თანამშრომლები, მეგობრები. მკურნალობა ტარდება რამდენიმე ანტიბიოტიკით ხანგრძლივი დროის განმავლობაში. ანტიბიოტიკებზე რეზისტენტული შტამების რაოდენობა იზრდება, რის გამოც ზოგიერთი ადამიანი ავადდება მულტირეზისტენტული ტუბერკულოზით (MDR-TB). ანტიტუბერკულოზური პრეპარატები გამოიყენება ათწლეულების მანძილზე. ერთი ან რამდენიმე სამკურნალო პრეპარატის მიმართ რეზისტენტული შტამები აღრიცხულია ყველა ქვეყანაში. წამლის მიმართ რეზისტენტობა ხდება მაშინ, როდესაც ანტიტუბერკულოზური პრეპარატები გამოიყენება არასწორად, წამლების დაბალი ხარისხით და თუ პაციენტები ადრე შეწყვეტენ მკურნალობას. MDR-TB არის ტუბერკულოზის ფორმა, რომელიც გამოწვეულია ბაქტერიებით, რომლებიც არ რეაგირებენ იზონიაზიდზე და რიფამპიცინზე - ორ ყველაზე ძლიერ პირველი რიგის ანტიტუბერკულოზურ წამალზე. MDR-TB იკურნება მეორე რიგის წამლების გამოყენებით.

ზოგიერთ შემთხვევაში შეიძლება განვითარდეს უფრო სერიოზული რეზისტენტობა. XDR-TB არის MDR-TB-ის უფრო მძიმე ფორმა, რომელიც გამოწვეულია ბაქტერიით, რომელიც არის რეზისტენტული ნებისმიერი ფტორქინოლინის და მეორე რიგის სამი საინექციო წამლიდან(კაპრეომიცინი, კანამიცინი, ამიკაცინი) ერთ-ერთის მიმართ. რაც ხშირად შეუძლებელს ხდის პაციენტებისათვის მკურნალობის სქემის შერჩევას.

სადღეისოდ ტუბერკულოზის პრობლემა არა მარტო სამედიცინო, არამედ სხვა დარგების (გენეტიკური, იმუნოგენეტიკური, იმუნოლოგიური) მეცნიერული კვლევების

ფოკუსში მოექცა. დაავადების დეტალური გამოკვლევა წარმოებს არა მარტო კონკრეტულად ინფექციური აგენტის შესწავლის მიზნით, არამედ ორგანიზმის გენეტიკური ფაქტორების გათვალისწინებითაც. თანამედროვე კვლევებით ხდება დაავადების წინასწარგანპირობებულობის შესწავლა მოლეკულური დონიდან ეთნიკურ-პოპულაციურ დონემდე. დღის წესრიგში დგას დაავადების პრევენციის და კონტროლის უკეთესი მექანიზმების შემუშავება, ახალი ქიმიოთერაპიული მედიკამენტებისა და სრულყოფილი ვაქცინის შექმნა (Casanova and Abel, 2002). რაც ძალზე მნიშვნელოვანია დაავადებასთან ბრძოლის პროგრამების შესამუშავებლად. ტუბერკულოზის პროფილაქტიკისათვის ყველაზე ფართოდ გავრცელებული ვაქცინა არის Bacille Calmette-Guerin (BCG), რომელიც უკვე 100 წელზე მეტია რაც გამოიყენება, მაგრამ ამ ვაქცინაციის ეფექტურობა შემოიფარგლება პირველადი ტუბერკულოზის პრევენციით ბავშვებში. ამიტომ, გლობალური ჯანდაცვისათვის ტუბერკულოზის წინააღმდეგ უფრო ეფექტური ვაქცინის შექმნა წარმოადგენს გადაუდებელ აუცილებლობას (Jacobs et al., 2016). არსებობს მტკიცებულობა იმისა, რომ სპეციფიკურ ანტისხეულებს შეუძლიათ შეზღუდონ M. Tuberculosis გავრცელება და პოტენციურად ასევე მონაწილეობა მიიღონ ინფექციის პროფილაქტიკაში ლორწოვანის იმუნიტეტის მეშვეობით. სწორედ ანტისხეულებით გამოწვეული იმუნიტეტი შეიძლება გადაიხედოს ტუბერკულოზის საწინააღმდეგო ვაქცინის შექმნის ახალი სტრატეგიების ძიებაში.

ტუბერკულოზის მართვის საქმეში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს დიაგნოსტირების მეთოდების შერჩევა. განვითარებულ ქვეყნებში ამ მიზნით ბაქტერიული კულტურის მეთოდი (ოქროს სტანდარტი) და ეფექტური სადიაგნოსტიკო მოლეკულური ტესტები გამოიყენება. ბოლო დროს ცნობილი გახდა ტუბერკულოზის პირველი სრული გენომის ასოციაციური კვლევის (GWSA) შესახებ. GWSA არის მეთოდი რომელიც ამტკიცებს გენეტიკური მიდგომის მართებულობას ტუბერკულოზის შესწავლაში. არასწორი დიაგნოსტიკა და მკურნალობა მიკობაქტერიის რეზისტენტული შტამების გავრცელების ერთ-ერთ მიზეზად ითვლება.

ტუბერკულოზის მაღალი პრევალენტობის ქვეყნებში ტუბერკულოზით დაავადების რისკი საკმაოდ მაღალია პოზიტიური აივ სტატუსის მქონე პირებში. აღმოსავლეთ ევროპაში სახეზეა ტუბერკულოზის და აივ ინფექცია/შიდსის დამოუკიდებელი ეპიდემიები და ადამიანთა უმეტესობა ტუბერკულოზით ავადდება აივ ინფექციასთან დაკავშირებული იმუნოსუპრესიის გარეშე, ამის მიუხედავად, აივ ინფიცირებულ პირებს შორის ტუბერკულოზით დაავადების რისკი 16-ჯერ უფრო მაღალია აივ უარყოფით პირებთან შედარებით. 2022 წლის მონაცემებით ტუბერკულოზით დაავადებული აივ დადებითი პაციენტების რაოდენობა შეადგენდა 80%-ს, ანალოგიური მაჩვენებელი 2021წ-ს იყო 76%. არასაკმარისი ეპიდკვლევების გამო ტუბერკულოზი/აივ კოინფექციის შესახებ ცოდნა მწირია. აღმოსავლეთ ევროპაში აივ ინფექცია/შიდსის პრევალენტობის დრამატული მატება, ასევე ტუბერკულოზის მაღალი პრევალენტობა მოსალოდნელს ხდის ტუბერკულოზი/აივ კოინფიცირებული პაციენტების რიცხვის დრამატულ ზრდას. სწორი მკურნალობის გარეშე HIV უარყოფითი პაციენტების საშუალოდ 60% და თითქმის ყველა HIV დადებითი პაციენტი იღუპება.

დაავადების კონტროლის ორგანიზაციების ძალისხმევის, ანტიტუბერკულოზური პროგრამების განხორციელების, მკურნალობის კომბინირებული მეთოდების გამოყენების და

მაღალეფექტური მედიკამენტების ხელმისაწვდომობის მიუხედვად, ტუბერკულოზი ჯერ ისევ რჩება გლობალურ საფრთხედ. ტუბერკულოზის ეპიდემიოლოგიურ მდგომარეობას განსაკუთრებით ამწვავებს უკანასკნელ ათწლეულში გაზრდილი მულტირეზისტენტული ტუბერკულოზის (MDR-TB) შემთხვევები.

WHO–ის მიერ ხორციელდება ტუბერკულოზის ეპიდემიოლოგიის შესწავლის, მისი მიმდინარეობის შეფასების, პრევენციული ღონისძიებების დაგეგმვისა და განხორციელების გლობალური კონტროლი.

WHO 2023 წლის მონაცემებით, (WHO, 2023):

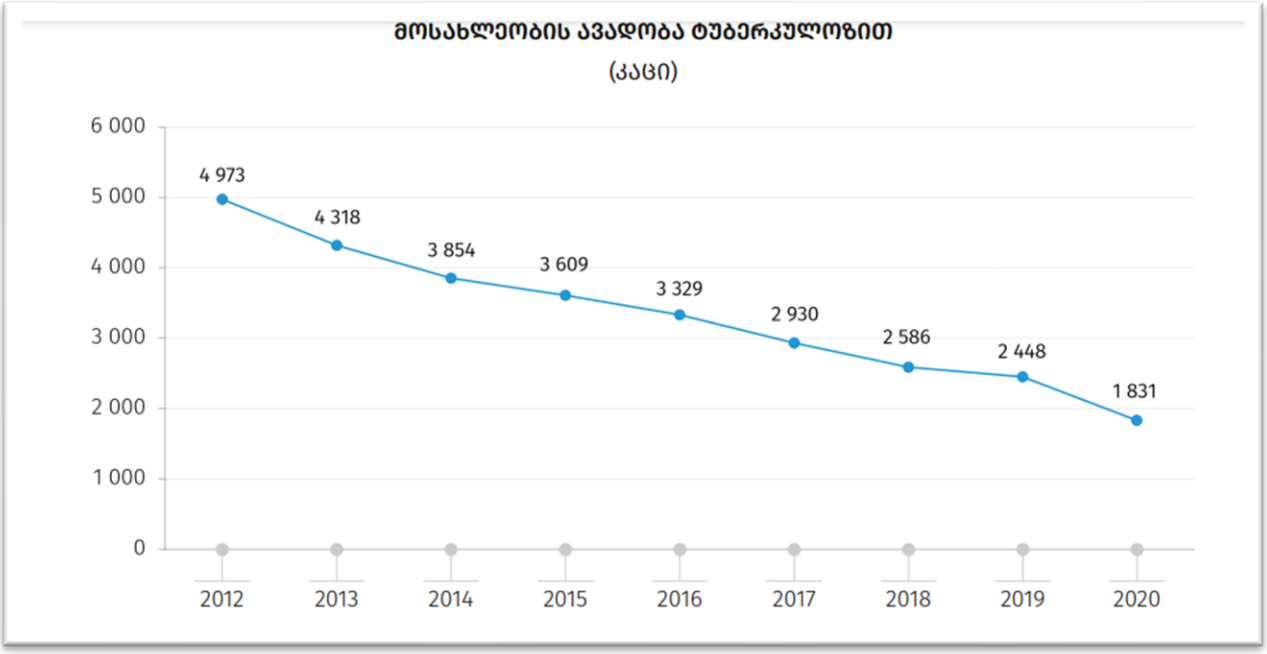
- 2022 წ-ს მსოფლიოში 1,3 მილიონი ადამიანი გარდაიცვალა ტუბერკულოზით (მათ შორის 167000 აივ-დადებითი); მსოფლიოში ტუბერკულოზი მეორე წამყვანი ინფექციაა ლეტალობის მაღალი მაჩვენებლით , COVID-19-ის შემდეგ;
- 2022 წ-ს მსოფლიოში ტუბერკულოზით დაახლოებით 10,6 მილიონი ადამიანი დაავადდა, მათ შორის 5,8 მლნ-მამაკაცი, 3,5 მლნ-ქალი და 1,3 მლნ-ბავშვი. ტუბერკულოზი ყველა ქვეყანაში და ყველა ასაკობრივ ჯგუფშია გავრცელებული. ტუბერკულოზი განკურნებადი დაავადებაა;
- მულტირეზისტენტული ფტ (MDR-TB) რჩება საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის პრობლემად. წამლებისადმი რეზისტენტული ტუბერკულოზით დაავადებული ყოველი 5-დან 2-მა მიიღო მკურნალობა 2022წ-ს;
- ტუბერკულოზის წინააღმდეგ ბრძოლის გლობალურმა ძალისხმევამ 2000 წლიდან 75 მლნ ადამიანის სიცოცხლე გადაარჩინა;
- ყოველწლიურად გლობალური მიზნის მისაღწევად 13 მილიარდი აშშ დოლარია საჭირო ტუბერკულოზის პრევენციის, დიაგნოსტიკის, მკურნალობისა და მოვლისათვის, რომელიც შეთანხმებულია ტუბერკულოზის შესახებ გაეროს მაღალი დონის 2018წლის შეხვედრაზე;
- 2030 წლისათვის ტუბერკულოზის ეპიდემიის დასრულება გაეროს მდგრადი განვითარების მიზნებს შორისაა(SDGs);

<u>ტუბერკულოზი საქართველოში</u>, ისევე როგორც მთელ მსოფლიოში, საზოგადოების ჯანმრთელობის საკმაოდ სერიოზული და საყურადღებო პრობლემაა.

2005 წლიდან საქართველოში ტუბერკულოზი შედარებით უფრო კონტროლირებადი გახდა, რასაც ხელი შეუწყო USAID-ის და WHO-ის მიერ განხორციელებულმა პროგრამებმა (მაგ., DOTS), რომელთა სტრატეგიულმა მუშაობამ მეტ-ნაკლებად გააუმჯობესა ტუბერკულოზთან ბრძოლის ღონისძიებები (Gegia et al., 2011). სადღეისოდ დაავადება მეტ-ნაკლებად ექვემდებარება კონტროლს და ტუბერკულოზის პრევალენტობის მაჩვენებელიც შედარებით დასტაბილურებულია. საპატიმროებში ინფექციის კონტროლის პირობების გაუმჯობესებამ და პატიმართა რიცხვის შემცირებამ მნიშვნელოვნად შეუწყო ხელი ტუბერკულოზის შემთხვევების კლებას.

მოცემულ სტატისტიკურ მონაცემებზე დაყრდნობით, შეიძლება ითქვას, რომ ტუბერკულოზის პრევალენტობა მაქსიმალური სიხშირით 2002-2005 წწ. დაფიქსირდა, ხოლო ახალ შემთხვევათა მატება აღინიშნა 2009-2010 წლებში. 2020 წელს 25,2%-ით შემცირდა მოსახლეობის ავადობა ტუბერკულოზით და 1831 ერთეული შეადგინა, 22,3%-ით შემცირდა

ახალ შემთხვევათა რაოდენობა. ქვემოთ მოცემულ დიაგრამაზე წარმოდგენილია მოსახლეობის ავადობა ტუბერკულოზით 2012-2020 წლებში:



დიაგრამა 1. საქართველოს სტატისტიკის ეროვნული სამსახური 30.07.2021

2012 წელს დაიგეგმა ტუბერკულოზის ეპიდემიოლოგიური კვლევების გაფართოება, ლაბორატორიული დიაგნოსტიკის ხარისხის გაუმჯობესება და დაავადების დროულ გამოვლენასა და მკურნალობის ეფექტურობაზე მიმართული სხვა ღონისძიებები, რომელშიც ჩართულია ტუბერკულოზისა და ფილტვის დაავადებათა ეროვნული ცენტრი და რეგიონული მართვის დაწესებულებები. გარდა ამისა, WHO რეკომენდაციით, საქართველოში 1995 წლიდან მოქმედებს ტუბერკულოზთან ბრძოლის ეროვნული პროგრამა, რომელიც ეფუძნება DOTS (მეთვალყურეობის ქვეშ) სტრატეგიებს. ამ პროგრამის ამოქმედების შემდეგ მდგომარეობა გარკვეულწილად გაუმჯობესდა, მაგრამ სიტუაცია ჯერ კიდევ სერიოზულია.

2016 წლიდან საქართველო აღარ შედის იმ ქვეყნების რიცხვში, სადაც წამლისადმი მრავლობითი რეზისტენტობის მქონე ტუბერკულოზის შემთხვევების მაღალი მაჩვენებელია. თუმცა, წამლისადმი რეზისტენტობის ტვირთი ჯერ კიდევ მაღალია, რაც წარმოადგენს ქვეყანაში ტუბერკულოზის ეფექტური ელიმინაციის მთავარ გამოწვევას. ქვეყანა ამ დაავადებასთან ბრძოლას აგრძელებს.

სახელმწიფო პროგრამის შედეგად საქართველოში ბოლო ათი წლის განმავლობაში ფიქსირდება ტუბერკულოზის ყველა ფორმით ავადობის მაჩვენებლის მნიშვნელოვანი შემცირება-წელიწადში საშუალოდ 6,6%-ით. საქართველომ, ბოლო წლების განმავლობაში, მნიშვნელოვან პროგრესს მიაღწია. 2015 წელთან შედარებით ტუბერკულოზის ინციდენტობა შემცირდა 50%-ით, ქვეყანაში სენსიტიური ტუბერკულოზით დაავადებულთა წარმატებულმა მკურნალობამ 87%-ს მიაღწია, ხოლო რეზისტენტული ტუბერკულოზის

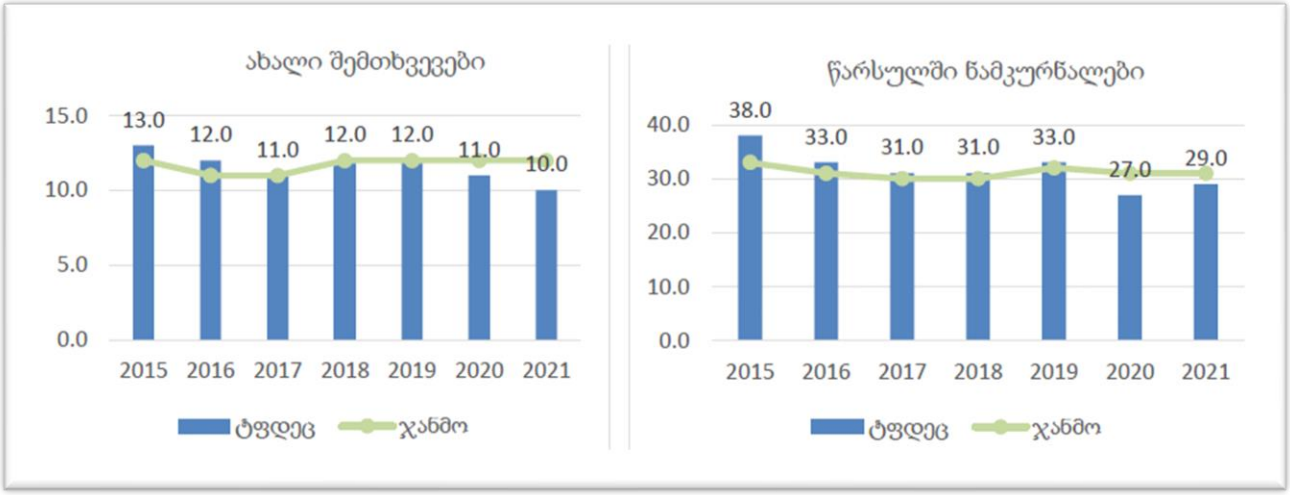
შემთხვევაში-75%-ს. რითაც მიღწეულია ტუბერკულოზის დასრულების გლობალური სტრატეგიის სამიზნეები 2020 წლისთვის.

ტუბერკულოზის ახალი შემთხვევების მაჩვენებელი 65%-ით შემცირდა-112-დან 40-მდე 100000 მოსახლეზე. 2021 წელს ტუბერკულოზი 1646 ადამიანს დაუდგინდა, რაც 10%-ით ნაკლებია წინა წლის ანალოგიურ პერიოდთან შედარებით.

2020-2021 წლებში ექსპერტები ტუბერკულოზის შემთხვევების მნიშვნელოვან შემცირებას კორონავირუსის პანდემიას და კოვიდ-შეზღუდვის გამო ადამიანებს შორის კონტაქტების რაოდენობის შემცირებას უკავშირებენ.

საქართველოში რუტინულად ხელმისაწვდომი გახდა ტუბერკულოზის დიაგნოსტიკისა და მედიკამენტებისადმი M. Tuberculosis შტამის მგრძნობელობის განმსაზღვრელი სწრაფი, მოლეკულურ-გენეტიკური ტესტები, რამაც მნიშვნელოვანი გავლენა იქონია ტუბერკულოზის დიაგნოსტიკის რეკომენდაციებზე.

ტუბერკულოზის საწინააღმდეგო პრეპარატების მიმართ რეზისტენტობა წარმოადგენს ქვეყანაში ტუბერკულოზის ელიმინაციის ძირითად გამოწვევას. WHO -ს შეფასებით, რიფამპიცინ-რეზისტენტული და მულტირეზისტენტული ტუბერკულოზის (MDR/RR-TB) ინციდენტობა 2021 წელს იყო 410 (320-490), რაც წინა წლებთან შედარებით კლების ტენდენციას ასახავს. ასევე, შემცირდა წამლის მიმართ ექსტენციურად რეზისტენტული (XDR-TB) ფორმის მქონე პაციენტების რაოდენობა 62-დან 2015 წელს 38-მდე 2021 წელს WHO XDR-TB განახლებული დეფინიციის მიხედვით (WHO, 2021). ტუბერკულოზის ახალ შემთხვევებში MDR/RR ტუბერკულოზის სავარაუდო წილი 2021 წელს შეადგენდა 12%-ს (11-13), და 31%-ს (28-33) წარსულში ნამკურნალებ შემთხვევებს შორის, რეზისტენტული ტუბერკულოზის ფაქტობრივი გავრცელება ახალ და წარსულში ნამკურნალებ ბაქტერიოლოგიურად დადასტურებულ ფილტვის ტუბერკულოზის შემთხვევებს შორის 2021 წელს იყო 10,2% და 28,5% შესაბამისად, რაც ახლოსაა WHO -ს შეფასებებთან:



დიაგრამა 2. MDR/RR ტუბერკულოზის პრევალენტობა ახალ და წარსულში ნამკურნალებ პაციენტებში, საქართველო 2015-2020(წყარო: WHO, ტუბერკულოზისა და ფილტვის დაავადებათა ეროვნული ცენტრი).

WHO-ს უახლეს რეკომენდაციებზე დაყრდნობით განახლდა ლატენტური ტუბერკულოზური ინფექციის დიაგნოსტიკის და მკურნალობის რეკომენდაციები, რაც საქართველოში ტუბერკულოზის პრევენციას მნიშვნელოვნად გააფართოვებს და ამ მიმართულებით ქვეყანაში ათწლეულების მანძილზე არსებული ნაპრალის შევსების წინაპირობას შექმნის.

MTB ინფექციის დაახლოებით 90% გადადის ლატენტურ TB ინფექციაში (LTBI). MTB შეიძლება იყოს მიძინებულ მდგომარეობაში გრანულომებში ათწლეულების განმავლობაში. (Hui-Qi at al., 2011). ლატენტური ტუბერკულოზური ინფექცია ნიშნავს მდგომარეობას, რომელსაც M. Tuberculosis ანტიგენით სტიმულირებული პერსისტირებადი იმუნური პასუხი განაპირობებს და რომელიც ტუბერკულოზისათვის დამახასიათებელი კლინიკური მანიფესტაციის გარეშე მიმდინარეობს. ტესტი, რომელიც LTBI- ის დიაგნოსტიკის „ოქროს სტანდარტად“ შეიძლება იქნას განხილული, არ არსებობს, შესაბამისად უტყუარი მონაცემი იმის შესახებ თუ როგორია LTBI-ის გლობალური ტვირთი, უცნობია. თუმცა ითვლება, რომ მსოფლიო მოსახლეობის ერთი მესამედი სავარაუდოდ ინფიცირებულია M. tuberculosis-ით. ლატენტური ტუბერკულოზური ინფექციის მქონე პირებს ტუბერკულოზისათვის დამახასიათებელი სიმპტომები, ან ნიშნები არ აქვთ და არც ინფექციურები არიან, თუმცა აქვთ აქტიური ტუბერკულოზის განვითარების და ინფექციურ მდგომარეობაში გადასვლის რისკი. გარკვეულმა კვლევებმა აჩვენა, რომ ინფიცირებულთა საშუალოდ 5-10%-თან მთელი სიცოცხლის, განსაკუთრებით კი საწყისი ინფიცირებიდან პირველი 5 წლის მანძილზე ვითარდება აქტიური ტუბერკულოზი. ინფიცირებიდან აქტიური ტუბერკულოზის განვითარების რისკი რამოდენიმე ფაქტორზეა დამოკიდებული, რომელთაგან ყველაზე მნიშვნელოვანი ინფიცირებული ორგანიზმის იმუნური სტატუსია. LTBI-ის მკურნალობით აქტიური ტუბერკულოზის განვითარების პრევენცია WHO-ს სტრატეგიის „დავასრულოთ ტუბერკულოზი“ საკვანძო კომპონენტია. დღეს არსებული LTBI-ის მკურნალობის ეფექტურობა 60%-დან 90%-მდეა და მისი სარგებელი ბალანსში უნდა იყოს გამოყენებული მედიკამენტებით გამოწვეული გვერდითი მოვლენების განვითარების რისკთან.

ბოლო ათწლეულების განმავლობაში მიღწეული მნიშვნელოვანი პროგრესის მიუხედავად, ქვეყანა კვლავ გამოწვევების წინაშეა ტუბერკულოზის აღმოფხვრის ამბიციური მიზნის მიღწევაში.

2.2. ქრომატინის ეპიგენეტიკური ცვალებადობა პათოლოგიებთან კავშირში

დაავადებათა პათოგენეზის შესწავლისას სულ უფრო ფართოდ იყენებენ გენეტიკის მეთოდებს. დღეისათვის განიხილავენ ორ დონეს, რომლებზეც ტარდება გენეტიკური კვლევები. პირველს (უფრო ტრადიციულს) უწოდებენ სტრუქტურულ გენომიკას. ამ დონეზე არკვევენ თუ რომელი გენი/გენები ან მათი სტრუქტურის დაზიანებები არის ჩართული მოცემული პათოლოგიური პროცესის განვითარებაში. ამ დროს იყენებენ კვლევის როგორც ციტოგენეტიკურ, ისე მოლეკულურ-გენეტიკურ მეთოდებს. მათგან პირველნი მიმართული არიან მოცემული ინდივიდის ქრომოსომათა სტრუქტურაში დაზიანებების ძიებისაკენ, მეორენი - ინდივიდის დნმ-ის სტრუქტურის დაზიანებისა და ამ დაზიანების გამოსწორებისაკენ (რეპარაციისაკენ).

კვლევების მეორე დონეს უწოდებენ ფუნქციურ გენომიკას. ამ დონეზე ადგენენ პათოგენეზში ჩართულ გენებსა და მათ პროდუქტებს. უნდა აღინიშნოს, რომ ბოლო წლებში სულ უფრო იზრდება იმ პუბლიკაციების რიცხვი, რომლებშიც დაავადებათა პათოგენეზის მექანიზმების ანალიზისათვის იყენებენ ფუნქციური გენომიკის მეთოდებს (Kaushik, 2018; Chaitanya, 2019).

როგორც ცნობილია, გენეტიკური აპარატი - გენომი, მემკვიდრული ნიშნების მუდმივობის შენარჩუნების საფუძველია. მასში ინახება მეტაბოლური პროცესების მიმდინარეობის უზრუნველყოფის მემკვიდრული ინფორმაცია. მემკვიდრული აპარატის უდიდეს მნიშვნელობაზე ცალკეული უჯრედის, ცალკეული ინდივიდის ცხოველმყოფელობისა და თაობებში მისი გადაცემის აუცილებლობაზე მიუთითებს ის გარემოება, რომ ბუნებაში არსებობს გენომის მუდმივობისა და მისი სტრუქტურის უცვლელობის შენარჩუნების მრავალი მექანიზმი. ერთი მხრივ, ბუნებაში არ არსებობს რაიმე აბსოლუტურად უცვლელი, მეორე მხრივ, გენეტიკური აპარატის აბსოლუტური უცვლელობა მნიშვნელოვნად შეზღუდავდა ცოცხალი მატერიის ცვალებადობის შესაძლებლობას. ასეთი წინააღმდეგობის დაძლევის საშუალებას გენეტიკური მასალის სტრუქტურაში უეცარი დაზიანებების - მუტაციების გაჩენა წარმოადგენს.

ინფექციური დაავადების თანმდევი ანთებითი პროცესი კონტროლირდება არა მხოლოდ უჯრედის გენეტიკური აპარატით, არამედ თავად შეიძლება წარმოადგენდეს ფაქტორს, რომელიც გავლენას ახდენს მემკვიდრულ აპარატზე (სასქესო ან სომატურ უჯრედებში). ანთების კერაში წარმოქმნილი თავისუფალი რადიკალების ჭარბი რაოდენობა იწვევს დნმ-ს ერთ- და ორძაფიან დაზიანებებს. ასეთი დაზიანების აღმოცენებისთანვე უჯრედებში ჩაერთვება დნმ-ს რეპარაციის მექანიზმები, რომლებიც, თავის მხრივ, **ეპიგენეზურ რეგულაციას** ექვემდებარება.

ეპიგენეტიკის მოლეკულური საფუძველი საკმაოდ რთულია, რადგან იგი არ ეხება დნმ-ს პირველად სტრუქტურას, არამედ ცვლის გარკვეული გენების აქტივობას.

ეპიგენეტიკა წარმოადგენს მნიშვნელოვან დამაკავშირებელ რგოლს გენომში არსებული ინფორმაციისა და გარემოს ფაქტორების, მათ შორის მაინფიცირებელი აგენტების, გავლენისა პათოლოგიური ფენოტიპების ფორმირებაში (Baccarelli et al., 2010). ყველაზე კარგად შესწავლილ ეპიგენეტიკურ მექანიზმს წარმოადგენს დნმ-ის მეთილირება. ცნობილია, რომ გენომის ზოგიერთ ლოკუსს აქვს უნარი შეინარჩუნოს მეთილირების შედარებით სტაბილური დონე დიდი ხნის მანძილზე და მათი მეთილირების სტატუსი კორელირებს მრავალფაქტორიანი პათოლოგიების განვითარებისათვის მნიშვნელოვანი რიგი კლინიკური ნიშნების არსებობასთან (Paul and Beck, 2014). აღნიშნულთან დაკავშირებით არსებობს თვალსაზრისი, რომ ეპიგენეტიკური პოლიმორფიზმი, სტრუქტურულ პოლიმორფიზმთან ერთად, წარმოადგენს კიდევ ერთ მნიშვნელოვან ელემენტს მრავალფაქტორიული დაავადების განვითარების რისკში (Yuen and Robinson, 2011; Abzianidze et al., 2016).

რიგი დაავადებების დროს დნმ-ს რეპარაციის პროცესების დაქვეითება და ამასთან დაკავშირებული მუტაბელურობის დონის ზრდა, აქტუალურს ხდის ამ დაავადებათა დროს ისეთი მაკორეგირებელი ნაერთების გამოყენებისა, რომელთაც უნარი აქვთ გააქტიურონ დნმ-ს რეპარაციის პროცესები ქრომატინზე სპაციფიკური ზემოქმედებით, რაც კიდევ ერთ გზას სახავს დაავადებათა პროფილაქტიკაში .

როგორც უკვე აღინიშნა, ფილტვის ტუბერკულოზი კლასიფიცირდება როგორც (მულტიფაქტორული) დაავადება მემკვიდრული წინასწარგანწყობით. ნაჩვენებია, რომ გენეტიკური ფაქტორები ფტ-ს გამომწვევით პირველადი ინფიცირების შედეგად 50%-ზე მეტ შემთხვევაში განაპირობებენ დაავადების სავარაუდო მემკვიდრულ ხასიათს (Remus, 2004; Hill, 2006; Van Der Ejik et al., 2007; Behera, 2010; Taype et al., 2010). ორგანიზმის გენოტიპი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ფილტვის ტუბერკულოზის განვითარებაში. დღეისათვის მრავალრიცხოვანი კვლევებია ჩატარებული იმ გენეტიკური ფაქტორების გამოსავლენად, რომლებიც პასუხისმგებელნი არიან ფტ-ს გამომწვევისადმი მგრძნობელობის ცვალებადობაზე, მაგრამ არც ერთი კანდიდატი გენი არ აღმოჩნდა ფტ-ს აქტიური გამომწვევისადმი მგრძნობელობასთან დაკავშირებული (Qu, 2011). ამდენად, ისევე როგორც ყველა მემკვიდრული წინასწარგანწყობის პათოლოგიის შემთხვევაში, განსაკუთრებული ყურადღება ეთმობა ისეთი მარკერების ძიებას, რომლებიც ხელს შეუწყობენ პოპულაციაში მაღალი რისკის მქონე ჯგუფების ადრეულ გამოვლენას. მონაცემები ისეთი ინფორმაციული და მნიშვნელოვანი პარამეტრების შესახებ, რომლებიც დაკავშირებულია ფილტვის ტუბერკულოზის დროს ეპიგენეზურ პროცესებთან, პრაქტიკულად არ არსებობს.

2.2.1 ქრომატინის ზოგადი ჰეტეროქრომატინიზაცია

ქრომატინი წარმოდგენილია ორი ფრაქციით - ჰეტერო- და ეუქრომატინით. ჰეტეროქრომატინი, თავის მხრივ, იყოფა კონსტიტუციურ ჰეტეროქრომატინად და ფაკულტატურ ჰეტეროქრომატინად. კონსტიტუციური ჰეტეროქრომატინი შეიცავს ძალიან მცირე რაოდენობით (ერთეულოვან) გენებს და ლოკალიზებულია, ძირითადად, ქრომოსომების ცენტრომეროსთან და ტელომეროსთან მიმდებარე უბნებში. ფაკულტატური ჰეტეროქრომატინი ჩვეულებრივ წარმოდგენილია ქრომოსომათა რაიონებით, რომლებიც შეიცავენ გენებს და ეუქრომატინის ჰეტეროქრომატინიზაციის (კონდენსაციის) გზით გადადის ჰეტეროქრომატინიზირებულ მდგომარეობაში, რაც ხელს უშლის მათ შემადგენლობაში არსებული გენების ტრანსკრიპციას. მაგრამ გარკვეულ პირობებში, გარკვეული ზემოქმედებისას ფაკულტატური ჰეტეროქრომატინი შეიძლება რევერტირდეს ეუქრომატინად რასაც მოჰყვება ინაქტივირებული გენების აქტივაცია (Prokofyeva-Belgovskaya, 1986; Lezhava et al., 2012, 2015). ჰეტეროქრომატინი და ქრომოსომების ჰეტეროქრომატინიზირებული უბნები, როგორც აღინიშნა, მიუწვდომელია რეპარაციის ფერმენტებისათვის, რაც ხელს უწყობს ქრომოსომათა აბერაციების (და, შესაბამისად, გენომის არასტაბილურობის) ზრდას (Lezhava, 2006; Lezhava, Jokhadze et al., 2007, 2022).

მეთილირებით განპირობებული ქრომატინის კომპაქტიზაცია-დეკომპაქტიზაცია ჰეტეროქრომატინიზაცია-დეჰეტეროქრომატინიზაცია გენთა ექსპრესიის იმ ეპიგენეზურ რეგულატორს წარმოადგენს, რომელიც პასუხისმგებელია გენთა გამორთვასა და ჩართვაზე, რადგან ამ პროცესებზეა დამოკიდებული გენთა წვდომადობა ტრანსკრიპციის აპარატისათვის. იგივე სამართლიანია რეპარაციული პროცესების მიმართაც, რომელთა წარმატებული განხორციელება რეპარაციის ფერმენტებისათვის ქრომატინის წვდომაზეა დამოკიდებული (Abzianidze et al., 2016, Kvaratskhelia et al., 2016).

მემკვიდრული წინასწარგანწყობის დაავადებებისათვის დამახასიათებელია გენომური არასტაბილურობის მაღალი დონე, ავტორები ამას ხსნიან ამ პათოლოგიებისათვის

დამახასიათებელი ეპისტატიკური ძვრებით-ქრომატინის სპეციფიკური ცვალებადობით აბერაციათა ფორმირება, ძირითადად ქრომოსომათა ჰეტეროქრომატულ უბნებში ხდება (Lezhava et al., 2022).

2.2.2 შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლები

შვილეულ ქრომატიდთა შორის გაცვლები (შქგ) წარმოადგენენ ერთი ქრომოსომის ორ ქრომატიდას შორის გენეტიკური მასალის იზოლოკუსურ გაცვლებს, რაც ქრომოსომის სტრუქტურის ცვლილებას არ იწვევს და რაც, შესაბამისად, ქრომოსომული ანალიზის ჩვეულებროვი მეთოდით არ ვლინდება. ლიტერატურული მონაცემებით შქგ სპონტანურად მიმდინარეობს, მაგრამ გარეგანი ზემოქმედება მნიშვნელოვნად ცვლის ამ პროცესს. მაგალითად 5-ბრომდეზოქსიურიდინის კონცენტრაციის (5-ბდუ) ზრდასთან ერთად (ეს ნაერთი გამოიყენება შვილეული ქრომატიდების მოსანიშნად) შქგ-ს სიხშირე პროგრესულად იზრდება, როგორც in vitro ისე in vivo (Lazutka, 1990) თუმცა ანალოგის გამოყენება 3-10 მკგ/მლ კონცენტრაციით ნაკლებად ცვლის შქგ-ს სპონტანურ დონეს. გამოვლენილია სახეობათშორისი სხვაობები შქგ-ს სიხშირეებს შორის (Македонов и Евграфов, 1983) რაც როგორც ჩანს დნმ-ს რეპარაციის მექანიზმების 5-ბდუ-სადმი ქრომოსომული მასალის განსხვავებულ მგრძნობელობას უნდა ასახავდეს. გარდა ამისა, შქგ-ს სიხშირე ადამიანის უჯრედებში საგრძნობლად ვარირებს ცალკეულ ინდივიდებს შორის, სქესობრივი სხვაობა კი გავლენას არ ახდენს მის დონეზე (Lazutka, 1990). ლიტერატურული მონაცემებით შქგ-ს სიხშირე პირდაპირ კორელაციაშია ქრომოსომის სიგრძესთან (Latt,1981). ითვლება რომ შქგ-ს დაქვეითება ჰეტეროქრომატინულ უბნებში განპირობებულია ამ უბნების კონდენსირებული მდგომარეობით, რაც დნმ-ს მონაკვეთების გაცვლას ხელს უშლის (Hsu, 1976; Ebert et al., 1993).

შქგ-ს ფენომენი დღეისათვის მრავალი მიმართულებით შეისწავლება. მათ შორის დიდ ინტერესს წარმოადგენს ინდუცირებული შქგ-სა და ქიმიურ ნაერთთა მუტაგენურ და კანცეროგენულ აქტივობას შორის ურთიერთკავშირის გამოკვლევა. მთელ რიგ შრომებში ნაჩვენებია რომ შქგ-ს სიხშირე იზრდება მუტაგენთა უკვე ისეთი კონცენტრაციების დროს, რომლებიც პრაქტიკულად ქრომოსომათა სტრუქტურული მუტაციების ინდუცირებას არ ახდენს (Latt,1981; Македонов и Евграфов, 1983; Lazutka, 1990). ამ მონაცემების საფუძველზე ავტორები მიიჩნევენ, რომ შქგ-ს ინდუქცია დნმ-ს მოლეკულის დაზიანების უფრო მგრძნობიარე ინდიკატორს წარმოადგენს, ვიდრე ქრომოსომათა აბერაციები. ამდენად შქგ-ს ციტოგენეტიკური ანალიზი წარმატებით შეიძლება იქნას გამოყენებული პოტენციური მუტაგენებისა და კანცეროგენების სკრინინგისათვის. გარდა აღნიშნულისა, შქგ ფართოდ გამოიყენება გენომის ფუნქციური დახასიათებისას პათოლოგიების შემთხვევაში როგორც მგრძნობიარე ტესტი დაავადებულთა უჯრედებში ჰომეოსტატიკური ძვრების გამოსავლენად (Lezhava, 1999; Rogava et al., 2005).

მნიშვნელოვან არგუმენტს იმ მოსაზრების სასარგებლოდ, რომ შქგ მიმდინარეობს დნმ-ში პირველადი დაზიანებების ინდუქციისა და ბდუ-ს ზემოქმედების გარეშე, წარმოადგენს ის ფაქტი, რომ ბლუმის სინდრომით დაავადებულთა უჯრედებს, რომლებიც ბდუ-ს მიმართ მაღალ მგრძნობელობას არ ავლენენ, გააჩნიათ შქგ-ს მაღალი სპონტანური დონე. დღეისათვის მიღებულია, რომ შქგ წარმოიქმნებიან სპონტანურად, თუმცა გარეგანი ფაქტორები გავლენას ახდენენ ამ პროცესზე (Kato, 1977; Latt, 1981).

დადგენილია, რომ შვილეულ ქრომატიდთაშორის გაცვლები (შქგ) უჯრედებში მიმდინარე სომატური რეკომბინაციის გამოვლენაა. თუმცა არსებობს, აგრეთვე, თვალსაზრისი, რომ შქგ წარმოადგენენ ქრომოსომათა სტრუქტურული ცვლილებების ერთ-ერთ ტიპს. ქრომოსომათა სტრუქტურული ცვლილებების ყველა სხვა ტიპი გაერთიანებულია ქრომოსომული აბერაციების სახელწოდების ქვეშ და მიეკუთვნება ქრომოსომულ მუტაციებს. შქგ-სა და ქრომოსომული აბერაციების მექანიზმების შედარება, მკაცრი გაგებით, სავსებით გამართლებული არ არის, იმდენად, რამდენადაც აბერაციები თვის მხრივ, იყოფა რამდენიმე ტიპად, რომლებიც ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან წარმოშობის მექანიზმებით და სხვადასხვა მუტაგენებით ინდუციბელობით. შქგ-ს ფორმირება გაცილებით უფრო მეტად განსხვავდება სხვადასხვა ტიპის აბერაციებისაგან, ვიდრე ამ აბერაციებისა – ერთმანეთისაგან.

სხვაობა შქგ-სა და ქრომოსომული აბერაციების მექანიზმებს შორის ვლინდება იმაშიც, რომ გაცვლების ინდუქციისათვის კრიტიკულ ფაზად ითვლება S -ფაზის დასაწყისი, მაშინ, როდესაც აბერაციების მაქსიმალური რაოდენობა მიიღება უჯრედების დასხივებისას უჯრედული ციკლის უფრო გვიანდელ სტადიებზე - S -ფაზის ბოლოს და G2 ფაზაში. ამაზევე მიუთითებს მრავალრიცხოვანი ექსპერიმენტები მოდიფიკატორების გამოყენებით, მაგრამ უნდა აღინიშნოს, რომ მონაცემები შქგ-ს დონის მოდიფიკაციასთან დაკავშირებით წინააღმდეგობრივია ერთი და იგივე მოდიფიკატორის გამოყენების შემთხვევაშიც (მაგ. კოფეინისთვის) და მნიშვნელოვნად არის დამოკიდებული როგორც შქგ-ს ინდუქტორზე, ისე მოდიფიკატორით ზემოქმედების ფაზაზე (Shafer, 1982; Andriadze and Pleskach, 1987).

არსებობს შქგ-ს ფორმირების, სულ ცოტა – ორი მექანიზმი. ერთ-ერთი მათგანი მუშაობს იმ შემთხვევაში, როდესაც ხდება დნმ-ში ერთძაფიანი წყვეტების ინდუქცია. ეს პროცესი მიმდინარეობს უშუალოდ დნმ-ს სინთეზის დროს. მუტაგენით ერთძაფიანი წყვეტის ინდუქციისას და ქრომოსომის რეპლიკაციის ჩანგალში ნაპრალის (სიცარიელის) წარმოქმნის შედეგად იქმნება პირობები ჰეტეროდუპლექსური მოლეკულების წარმოქმნისა და შემდგომი რეკომბინაციისათვის. პირიმიდინის დიმერების შემთხვევაში შეიძლება მუშაობდეს შქგ-ს ფორმირების სხვა მექანიზმი. ქრომოსომების დნმ-ში რეპლიკაციის ციკლის გავლის შემდეგ ახლადსინთეზირებული დნმ თავის სტრუქტურაში შეიცავს ნაპრალებს, რომლებიც წარმოადგენენ სუბსტრატს პოსტრეპლიკაციური რეპარაციისათვის (Lambert et al., 1976; Wolff, 1982).

ქრომატიდთაშორისი გაცვლების ტესტი მგრძნობიარე ინდიკატორია იმ უჯრედებში ჰომეოსტაზური ცვლილებებისა, რომლებიც სხვადასხვა პათოლოგიების დროს შეინიშნება (Andriadze and Pleskach, 1987; Rogava et al., 2005).

2.2.3 აროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაციების და რიბოსომული ცისტრონების აქტივობის დონე

კლასიკური შრომები ციტოგენეტიკაში ადასტურებენ, რომ ადამიანის აროცენტრული ქრომოსომების მოკლე მხრები წარმოდგენილია ჰეტეროქრომატული უბნებით (Ньюсбаум, 2010) და შედგებიან სამი მონაკვეთისაგან: 1) უშუალოდ ცენტრომეროსთან მიმდებარე მოკლე მონაკვეთით; 2) მოკლე მხრის .მეორადი ჭიმის ძაფით (თანამგზავრული ძაფით); 3) მცირე კომპაქტური სხეულაკით-თანამგზავრით, რომელიც მოკლე მხრის ტელომეროს

შეიცავს. აკროცენტრული ქრომოსომების ასოციაციები განპირობებულია თანამგზავრული ძაფების მიზიდულობით, რომლებიც ბირთვაკის ფორმირებაში იღებენ მონაწილეობას. ქრომოსომების აღნიშნული ჰეტეროქრომატული უბნების ჰომოლოგია უზრუნველყოფს მათ კონიუგაციას. რომელიც განსაზღვრავს და ასტიმულირებს აკროცენტრიკების ასოციაციებს.

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 დაკავშირებულია კონდენსაციის ცვლილებასთან და თანმიმდევრულად, ქრომოსომების ფუნქციონირებასთან, გენეტიკურ გარემოსთან დამოკიდებულებით (Prokofyeva-Belgovskaya, 1986).

In situ ჰიბრიდიზაციის დახმარებით დადგენილ იქნა რომ ადამიანის ათივე აკროცენტრული ქრომოსომის მოკლე მხარი შეიცავს გენებს, რომლებიც ლოკალიზებულია მეორად ჭიმებში – თანამგზავრის ძაფებში – „Stalk" (Heliot et al., 2000) და აკოდირებენ 18s და 28s რიბოსომული რნმ–ების სინთეზს (Evans et al., 1974; de Silva et al., 2000).

რიბოსომული ცისტრონების ტრანსკრიპცია ხორციელდება ენდოგენური დნმ-დამოკიდებული რნმ-პოლიმერაზა I-ით (Matsui and Sandberg, 1985). წარმოიქმნება რნმ-პოლიმერაზა-I-ის კომპლექსები რ-რნმ-ის გენებთან. იმუნოფლუორესცენციის 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.

კვლევებით დადგენილ იქნა, რომ მეტაფაზური ქრომოსომების ვერცხლით შეღებვა (Ag–ბენდირება) დამახასიათებელია მხოლოდ იმ ბირთვაკის ორგანიზატორთათვის, რომლებიც ინტენსიურად ფუნქციონირებდნენ წინამდებარე ინტერფაზასა და პროფაზაში და მათი შეღებვის ინტენსივობა დამოკიდებულია მათი ფუნქციური აქტივობის ხარისხზე (Lezhava et al., 1972; Lezhava, 1999; Heliot et al., 2000; Stitou et al., 2000). ეს დაკვირვებები საფუძველს იძლევა დავუშვათ, 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 ქრომატიდები. ქრომატიდების 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 ქრომატიდები, რომელთაც გააჩნიათ წინამორბედ ინტერფაზაში აქტიურად ფუნქციონირებადი NOR-ები (Verma et al., 1983). ლეჟავამ და სხვ. (Lezhava et al., 2008) 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, 2001).

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 ქრომატიდების 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, 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.

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

ნაჩვენებია, რომ არსებობს კავშირი აკროცენტრული ქრომატიდების თანამგზავრულ ასოციაციათა სიხშირის ცვალებადობასა და რიგ პათოლოგიათა შორის. ლიტერატურაში აღინიშნება, აგრეთვე ასოციაციათა ტიპების ცვალებადობა ძუძუს კიბოს დროს, რაც ამ დაავადებისათვის სპეციფიკურ მახასიათებლად არის მიჩნეული (Lezhava et al.,2023).

2.3 ტუბერკულოზის გენეტიკური ასპექტები

ადამიანის ფართოდ გავრცელებულ დაავადებათა გენეტიკა სამეცნიერო კვლევების აქტიურად განვითარებად მიმართულებას წარმოადგენს. თუმცა ამ დაავადებების წარმოშობაში და განვითარებაში მონაწილე კონკრეტული გენების შესახებ მონაცემთა დაგროვების ტემპი მნიშვნელოვნად ჩამორჩება დღეისათვის ცნობილი მონოგენური დაავადებების გენეტიკაში არსებულ ცოდნას (მონაცემებს). კიდევ უფრო ნაკლები მიღწევები აღინიშნება ინფექციური დაავადებებისადმი მიდრეკილების გენეტიკური საფუძვლების შესწავლის მიმართულებით. ამ უკანასკნელ შემთხვევაში სჭარბობენ კვლევები, რომლებიც შეეხება დაავადებათა გამომწვევების გენეტიკური მახასიათებლების, მათი გენომების როლის დადგენას კონკრეტული ინფექციისადმი ადამიანის მგრძნობელობის (მდგრადობის) და დაავადების კლინიკური პოლიმორფიზმის ფორმირებაში.

ტუბერკულოზის გამომწვევი ბაქტერიით ინფიცირებისას დაავადების კლინიკურ განვითარებაზე ორგანიზმის გენოტიპის მნიშვნელობა სადღეისოდ ეჭვს აღარ იწვევს (Remus,

2004; Hill, 2006; Van Der Ejik et al., 2007; Behera, 2010; Taype et al., 2010). უკანასკნელი ორი ათწლეულის მანძილზე განხორციელებული კვლევებით დადასტურებულია, რომ ტუბერკულოზის მიმართ არსებობს ორგანიზმის გენეტიკური წინასწარგანპირობებულობა. ჩატარებული კვლევები ძირითადად ტუბერკულოზის ფილტვის ფორმას ეხება, რადგან ტუბერკულოზური დაავადებების 95% მასზე მოდის და ფილტვგარე ფორმებთან შედარებით სრულყოფილადაა შესწავლილი.

ტუბერკულოზთან ასოცირებული გენების თითქმის 90% მონაწილეობს ორგანიზმის იმუნურ პასუხში, რომლებიც ინფექციური აგენტების მიმართ დამცველობით იმუნურ პასუხს ატარებენ და მათ პოლიმორფიზმს შეუძლია შეცვალოს იმუნიტეტი და გამოიწვიოს ტუბერკულოზის მიმართ გენეტიკური წინასწარგანწყობა (Aravindan, 2019). სწორედ ამიტომ, მეცნიერული კვლევების მთავარი ფოკუსიც, მათი გენეტიკური ლოკუსების შესწავლისა და დაავადებასთან ასოციაციის გამოვლენის მიმართულებით წარიმართა. აღნიშნული გენების გამოვლენა ინფიცირებამდე ან ინფიცირების შემდეგ დაავადების პროგნოზირების და პრევენციის საკმაოდ დიდ პერსპექტივას წარმოადგენს.

ძირითადი ცოდნის ხარვეზები, მაგ, იმის შესახებ რატომ რჩება ინფიცირებული ადამიანების უმრავლესობა ჯანმრთელი, ან რატომ არის, რომ დაავადების განვითარებისას შეიძლება დაზიანდეს სხვადასხვა ორგანოები, აბრკოლებს პრევენციისა და მკურნალობის ახალი მეთოდების შემუშავებას.

ტყუპების გამოკვლევის განმეორებითმა ანალიზმა აჩვენა დამაჯერებელი გენეტიკური წინასწარგანწყობა ტუბერკულოზისადმი (Comstock,1978). ექსპერიმენტულ მოდელებში არის აშკარა მტკიცებულება გენეტიკური ზემოქმედებისა, რომელიც მოქმედებს თანდაყოლილი იმუნური პასუხის დონეზე, დასკვნები ნაწილობრივ დამტკიცებულია ადამიანებზე ჩატარებული კვლევებით. პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის დახმარებით და ერთნუკლეოტიდური პოლიმორფიზმის (SNP) გაცნობიერებამ ადამიანის გენომში ხელი შეუწყო მთელ რიგ გამოკვლევებს კანდიდატების ასოციაციებისა. ამ პოლიმორფიზმებიდან ხშირად არის აღწერილი ასოციაცია HLA OR15-სა და ფილტვების დაავადებებს შორის, ასევე ცნობილია კავშირი ადამიანის SLC11A1 (ადრე NRAMP) გენის პოლიმორფიზმსა და ტუბერკულოზს შორის ზოგიერთ პოპულაციაში. კავშირი γ-ინტერფერონის პოლიმორფიზმსა და დაავადებას შორის ნაჩვენები იქნა რამდენიმე პოპულაციაში. შემდგომი ცოდნა იმუნური დაცვისა მიღებული იქნა DC-SIGN, MCP-1, SP100 და NOD2 გამოკვლევების შედეგად.

გენომის მასშტაბურმა სკანირებამ დაავადებული ძმების და დების წყვილებში გამოავლინა ზომიერი კავშირი ტუბერკულოზსა და ქრომოსომების განსხვავებულ რეგიონებს შორის. მაგ. აფრიკაში ტუბერკულოზთან კავშირი დაფიქსირდა15q,Xq და 20q13 ქრომოსომათა უბნებთან (Cooke at al.,2008; Stein at al., 2008), ხოლო ბრაზილიაში -17q11.2 ქრომოსომის უბანთან (Bellamy at al., 2000; Jamieson at al., 2004). საერთო ჯამში ტუბერკულოზისადმი გენეტიკური წინასწარგანწყობის მკაფიო ძირითადი ლოკუსის არარსებობა მეტყველებს იმაზე რომ, ტუბერკულოზისადმი მგრძნობელობის გენეტიკური კომპონენტების უმრავლესობა გაფანტულია მრავალ ლოკუსში (Wilkinson, 2012).

არაერთმა კვლევამ დააფიქსირა HLA II კლასის პოლიმორფიზმის კავშირი ტუბერკულოზის მგრძნობელობასთან. ერთ-ერთი არის დელგადოს და სხვების მიერ ჩატარებული კვლევები (Delgado et al., 2002).

ანტიტუბერკულოზურ იმუნურ პასუხში მთავარი ალვეოლებში განვითარებული ფაგოციტური პასუხია, სადაც არსებით როლს ალვეოლური მაკროფაგები ასრულებენ (Kaufmann, 2001; Akahoshi et al., 2003; Zhang et al., 2005; Hawn et al., 2006). ამ პროცესებში ჩართულია, ასევე TLR, რომელიც წარმოადგენს მემბრანულ სასიგნალო რეცეპტორებს და განაპირობებს თანდაყოლილი იმუნიტეტის აქტივაციას მიკრობული ინფექციის მიმართ, მიკრობული კომპონენტების სპეციფიკური მოლეკულების ამოცნობის გზით (Takeda and Akira, 2004). TLR გენებს შორის, TLR7 და TLR8 ძლიერად ექსპრესირდება ფილტვებში და TLR7 ასევე არის ლეიკოციტებში და მაკროფაგებში, რაც მიუთითებს მათ პათოგენურ როლზე ფილტვის ინფექციაში (Chuang and Ulevitch, 2000). ცნობილია, რომ TLR7 და TLR8 ამოიცნობენ ერთჯაჭვიან რნმ-ს. TLR (TLR1, 2, 4 და 6) შეიცნობს სხვადასხვა პათოგენებთან ასოცირებულ მოლეკულებს (ადაპტური MyD88 ცილა) და ასტიმულირებს თანდაყოლილი იმუნიტეტის განვითარებას, ციტოკინების პროდუცირებას და ადაპტური იმუნიტეტის პროცესს. მათ აქვთ უნარი, იმოქმედონ ტოლინტერლეიკინ-1-ის რეცეპტორის ადაპტურ ცილასთან (TIRAP ლოკალიზებულია ციტოპლაზმაში TLR2 და TLR4 ცილების სახით) და მოახდინონ მაკროფაგებისა და დენდრიტული უჯრედების აქტივაცია (Tyagi et al., 2010). აღნიშნული ადაპტური ცილის მაკოდირებელი გენის პოლიმორფული ვარიაციები განსაზღვრავენ ორგანიზმის განსხვავებულ მიდრეკილებას ინფექციური დაავადებების მიმართ. მაგალითად, ვიეტნამის პოპულაციაში ამ გენის TIRAPC558T*T პოლიმორფული ვარიაცია ასოცირდება ტუბერკულოზურ მენინგიტთან (Hawn et al., 2006),ხოლო კოლუმბიის პოპულაციაში იგივე პოლიმორფული ვარიაცია (TIRAPC558T*T) ასოცირდება ფილტვის ტუბერკულოზის მიმართ ორგანიზმის მდგრადობასთან (Castiblanco et al., 2008).

TNF-ის მაკოდირებელი გენების, რომელიც მთავარ როლს თამაშობს ტუბერკულოზის დროს გრანულომის წარმოქმნაში და მაკროფაგების აქტივაციაში, ლოკუსი განთავსებულია MHCკლასის III რეგიონში. TNFa ასოცირდება ექსტენსიურ ტუბერკულოზთან (Hong-min FAN et. al., 2010). თუ გენომში HLA-A1, -B17, -B21 და -DR7 TNF-308*A ერთად იქნება, კომპლექსი განაპირობებს ტუბერკულოზის მიმართ ორგანიზმის მდგრადობას და მიკობაქტერიის ინჰიბირებას (Selvaraj et al., 2001).

რიგი მეცნიერების აზრით, ტუბერკულოზის წინასწარგანპირობებულობას განსაზღვრავს გამა-ინტერფერონის (IFN-γ) მაკოდირებელი ლოკუსები, რომელთა პროდუქტები ჩართულია მიკობაქტერიის მიმართ განვითარებულ უჯრედულ იმუნურ პასუხში (Hill, 2006; Taype et al., 2010). გამა-ინტერფერონი არის ინტერფერონების ოჯახის წევრი, რომელიც გადამწყვეტ როლს თამაშობს იმუნური სისტემის მიერ ისეთი პათოგენების წინააღმდეგ ბრძოლაში, როგორიცაა M.Tuberculosis,ამ ციტოკინის მიმართ, მისი აღმოჩენის დღიდან, არ კლებულობს ინტერესი, რადგან მაკროფაგი, IFN-γ-ს სამიზნე უჯრედი, მნიშვნელოვან როლს თამაშობს იმუნურ სისტემაში (Leal at al., 2001).

მეცნიერთა ყურადღება მიიპყრო ინტერლეიკინების მაკოდირებელი გენების პოლიმორფიზმსა და ტუბერკულოზს შორის ასოციაციურმა კავშირმა. აღნიშნული ლოკუსები მაღალი ვარიაბელობით ხასიათდება და, ხშირად, სპეციფიკურია სხვადასხვა ეთნიკური პოპულაციისთვის. ცნობილია, რომ IL-12B გავრცელებული ვარიაციები დაკავშირებული იყო ტუბერკულოზისადმი მგრძნობელობასთან (Sahiratmadja et al., 2007). IL-12BR1 გენი აკოდირებს IL-12 რეცეპტორს. იგი მაროკოს (Remus, 2004) და იაპონიის (Akahoshi, 2003) პოპულაციაში ასოცირდება ფილტვის ტუბერკულოზთან და აღნიშნული

ლოკუსის მატარებელ პირებში დაავადებისადმი მგრძნობელობა გაზრდილია, მაგრამ გენის IL-12BR1ვარიაცია, რომელიც გამოწვეულია ერთნუკლეოტიდიანი ცვლილებით, იაპონურ პოპულაციაში არ ასოცირდება დაავადებასთან.

რადგანაც, მაკროფაგები ტუბერკულოზური პათოლოგიისას ყველაზე მეტად ჩართული უჯრედებია დაცვის პირველი ხაზის შექმნაში, მეცნიერთა განსაკუთრებული ყურადღება SLC11A1 გენმა მიიქცია.

გენი SLC11A1 თავდაპირველად BCG გენად იწოდებოდა (Skamene, 1994). იგი ტუბერკულოზის მიკობაქტერიით ინფიცირებული მასპინძელი ორგანიზმის გენეტიკურ სტრუქტურაში, დაავადების მიმართ მგრძნობელობის შესწავლის მიზნით აპრობირებული პირველი გენი იყო. იგი ნაპოვნი იქნა ანომალურად სენსიბილური ხაზის BCG Salmonella და Leishamnia ინფექციის მქონე თაგვებში, სადაც ბაქტერიული ინფექციებისადმი მდგრადობას განაპირობებდა. SLC11A1 გენი აკოდირებს მაკროფაგების მემბრანაში განვლად ტრანსმემბრანულ ცილას, რომლის ფუნქციას ორვალენტიანი კათიონების (Zn^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{2+} და Mn^{2+}. როგორც პრო- და ეუკარიოტული კატალაზებისა და ზეჟანგების კოფაქტორები) მემბრანული ტრანსპორტი და ფაგოლიზოსომენში იონური სტატუსის შენარჩუნება წარმოადგენს, რაც თავის მხრივ, იწვევს მაკროფაგების აქტივაციას. მასპინძლის ანტიმიკრობული რადიკალების გენერალიზებას და მიკობაქტერიის წინააღმდეგ დამცავი ფერმენტების გამომუშავებას (Remus et al., 2004).

გამოვლენილი იქნა ასოციაციური კაშირი ტუბერკულოზის მოსალოდნელობასა და SLC11A1 გენეტიკურ ვარიაციებს შორისაც ადამიანთა პოპულაციებში (Takahashia et al., 2008). ამჟამად ცნობილია SLC11A1 გენის ოთხი ვარიაცია (Bellamy, 1998), რომლებიც ყველაზე ხშირად გვხვდება ტუბერკულოზური ინფექციებისადმი წინასწრაგანპირობებულობის თუ მდგრადობის შესწავლის მიზნით განხორციელებულ კვლევებში. SLC11A1 გენი და მისი პოლიმორფული ვარიაციები ყველაზე მეტად შესწავლილი გენეტიკური ფაქტორია ტუბერკულოზის შემთხვევაში მსოფლიოს სხვადასხვა ეთნიკურ პოპულაციებში (Liu et al., 1995; Zhang et.al., 2005; Li et al., 2006).

ტუბერკულოზისადმი ორგანიზმის მდგრადობის განმაპირობებელი გენეტიკური ფაქტორების და მათი მოქმედების მექანიზმების გამოვლენა, დიდ ინტერესს იწვევს. ამ ფაქტორების გარკვევით შესაძლებელი გახდება ტუბერკულოზის პრევენცია ბუნებრივ მდგრადობაზე პასუხისმგებელი მექანიზმების სტიმულირებით.

2.3.1 ტუბერკულოზთან ასოცირებული გენები (GST გენის GSTT1 და GSTM1 ალელები)

როგორც უკვე აღინიშნა, ტუბერკულოზი, როგორც ინფექციური მულტიფაქტორული დაავადება ვითარდება მრავალი გენისა და გარემოს ფაქტორების ურთიერთქმედების შედეგად. ტუბერკულოზის განვითარებასთან ასოცირებული გენებიდან განსაკუთრებით გამოყოფენ ქსენობიოტიკების ტრანსფორმაციაში მონაწილე ფერმენტების მაკოდირებელ გენებს, რომლებიც სხვა გენების მსგავსად ხასიათდებიან ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობათა მნიშვნელოვანი პოლიმორფიზმით. ამ გენთა პროდუქტები განაპირობებენ როგორც ეგზოგენური, ისე ენდოგენური ნივთიერებების მეტაბოლიზმს.

სხვადასხვა დაავადებათა განვითარებაში „ზოგადი“ გენების წვლილის შესწავლის პოზიციებიდან განსაკუთრებულ აქტუალობას იძენს ქსენობიოტიკების მეტაბოლიზმში მონაწილე გენთა სისტემის კვლევა, იმდენად, რამდენადაც ამ სისტემის ფერმენტების მიერ ხორციელდება არა მხოლოდ ქიმიური სტრუქტურის მიხედვით მრავალფეროვანი ეგზოგენური მოლეკულების უმრავლესობის, არამედ მრავალრიცხოვანი ენდოგენური ნივთიერებების, მაგ. ანთების მედიატორების მეტაბოლიზმიც, რომელთა მარკერსაც C-რეაქტიული ცილა წარმოადგენს (Алыменко и др 2022). ქსენობიოტიკების მეტაბოლიზმის ფერმენტთა სისტემა წარმოადგენს ევოლუციის პროცესში ფორმირებული ორგანიზმის ადაპტაციის მექანიზმს ტოქსიკური ეგზოგენური და ენდოგენური ნაერთების ზემოქმედებისადმი. ვარაუდობენ რომ მეტაბოლიზმში მონაწილე ფერმენტების მიერ სხვადასხვა სუბსტრატების დეგრადაციის განსხვავებული სიჩქარეები შეიძლება საფუძვლად ედოს რიგი დაავადებებისადმი განსხვავებულ მგრძნობელობას (წინასწარგანწყობას) (Vavilin et al., 2002). ცხადია, რომ გენეტიკური სხვაობები, რომლებსაც ადგილი აქვს ქსენობიოტიკების ბიოტრანსფორმაციაში მონაწილე ფერმენტების მაკოდირებელი გენების ექსპრესიასა და აქტივობაში, გადამწყვეტ ფაქტორებს წარმოადგენენ დაავადების განვითარებაში, რაც შესაძლებლობას იძლევა მათი, როგორც მნიშვნელოვანი შემადგენლის განხილვისა ამ დაავადებათა ეტიოლოგიასა და პათოგენეზში.

ამრიგად, მეტაბოლიზმის სისტემის გენების პოლიმორფული ვარიანტების როლის შესწავლა ტუბერკულოზის განვითარებაში აქტუალურია და გულისხმობს მათი კავშირის კვლევას დაავადების მიმდინარეობის კლინიკურ თავისებურებებთან. ურთიერთქმედების იმ მექანიზმებში გარკვევას, რომელსაც ადგილი აქვს მემკვიდრული ინფორმაციის რეალიზაციის პროცესში მთლიანი ორგანიზმის დონეზე.

ქსენობიოტიკების ბიოტრანსფორმაციის ფერმენტების (ქბფ) გენები, ისევე, როგორც ადამიანის ყველა გენი, ხასიათდება დნმ-ს ნუკლეოტიდურ თანამიმდევრობათა მნიშვნელოვანი პოლიმორფიზმით, რაც ქსენობიოტიკების გაუვნებლობაში ენზიმების აქტივობის ინდივიდთაშორის განსხვავებულობას განაპირობებს.

ცნობილია, რომ ბრონქო-ფილტვურ დაავადებათა უმრავლესობა ამა თუ იმ ხარისხით დაკავშირებულია ჟანგვითი სტრესის განვითარებასთან. ეფექტურ დაცვას ჰაერთან ერთად ჩასუნთქული გარემოს სხვადასხვა ტოქსიკანტებისაგან ემსახურება ქსენობიოტიკების ბიოტრანსფორმაციის სისტემა დაცვით მექანიზმებთან ერთობლივი შეთანხმებული ფუნქციონირების გზით.

ქსენობიოტიკების დეტოქსიკაციის პროცესში გამოყოფენ 3 ფაზას. I-ფაზა ციტოქრომების P-450 ოჯახის ფერმენტების მეშვეობით ხორციელდება. ეს ფერმენტები ახდენენ ქსენობიოტიკების მეტაბოლიზმს ხანმოკლე სიცოცხლისუნარიანი შუალედური ელექტროფილური მეტაბოლიტის წარმოქმნით. მათ აქვთ ტოქსიკური თვისებები. II-ფაზა არის I ფაზის მეტაბოლიტების ნეიტრალიზაცია. II ფაზის მეტაბოლიტების დეტოქსიკაციურ პროცესებს ახორციელებენ ეპოქსიჰიდროლაზები, გლუტათიონ-ტრანსფერაზები, გლუკოროლინტრანსფერაზები, აცეტილტრანსფერაზები და სხვ., რომლებიც I-ფაზის მეტაბოლიზმის ტოქსიკურ შუალედურ პროდუქტებს გარდაქმნიან წყალში ხსნად, პოლარულ არატოქსიკურ შენაერთებად, რომლებიც შემდეგ გამოიყოფა ორგანიზმიდან. III-ფაზა ორგანიზმიდან დეტოქსიკაციის პროდუქტების გამოყოფაა, რომელიც უზრუნველყოფილია P -გლიკოპროტეინით (Баранов, 2000).

აღწერილია ყველა ამ ფერმენტის იზოფორმები, რომლებიც განსხვავდებიან ფერმენტული აქტივობით (გაზრდილია, დაქვეითებული ან დაკარგული), რაც დაკავშირებულია მათი მაკოდირებელი გენების პოლიმორფიზმთან და განსაზღვრავს რიგი სამკურნალო პრეპარატების ჰეპატოტოქსიკურობას.

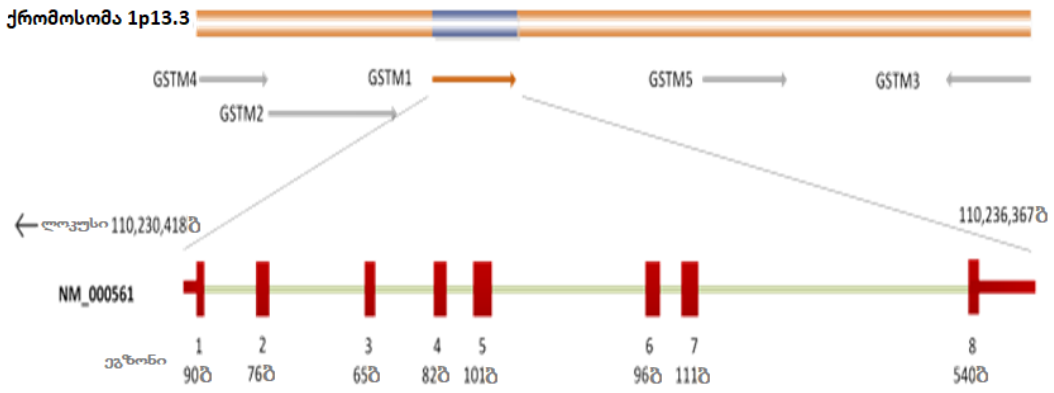
გლუტათიონ-S-ტრანსფერაზა. ქსენობიოტიკების დეტოქსიკაციის ერთ-ერთი ეფექტი დაკავშირებულია, ციტოქრომების მოქმედების შედეგად წარმოქმნილი ჰიდროფილური პროდუქტების ნეიტრალიზაციასთან. მნიშვნელოვან როლს ამ პროცესში ასრულებენ გლუტათიონ-S ტრანსფერაზები, რომლებიც ელექტროფილური ქსენობიოტიკების (მათ შორის სამკურნალწამლო პრეპარატების), დიდი ოდენობის მეტაბოლიზირებას ახდენენ მათი კონიუგაციის გზით. მიკროსომალური GST ტრანსფერაზების აქტივობა მჭიდროდაა დაკავშირებული p-450 ციტოქრომების სისტემასთან. ღვიძლში GST გენების ექსპრესია განსაკუთრებით მაღალია. ადამიანებს, რომელთაც მუტანტური ალელებით კოდირებული GST-ს ფუნქციურად ნაკლებად აქტიური იზოფორმები გააჩნიათ, უფრო ხშირად უვითარდებათ ღვიძლის დაზიანებები ქსენობიოტიკების ზემოქმედების შემდეგ (Баранов, 2000; Кравченко, 2004).

გლუტათიონ S-ტრანსფერაზები -ეს ფერმენტთა ოჯახია, რომელიც მონაწილეობს როგორც ელექტროფილური ქსენობიოტიკების უმრავლესობის მეტაბოლიზმში გლუტათიონთან კონიუგაციის გზით. ისე რიგი ენდოგენური სუბსტრატების (ჰორმონების, ლიპიდების, პროსტაგლანდინების) მეტაბოლიზმში. ქსენობიოტიკების მეტაბოლიზმის გენთა მრავალრიცხოვანმა გამოკვლევებმა დაადასტურა მათი კავშირი სხვადასხვა დაავადებებთან - გულ-სისხლძარღვთა დაავადებების, ფილტვების ატოპიური არასპეციფიკური დაავადებების, მათ შორის ტუბერკულოზის ჩათვლით.

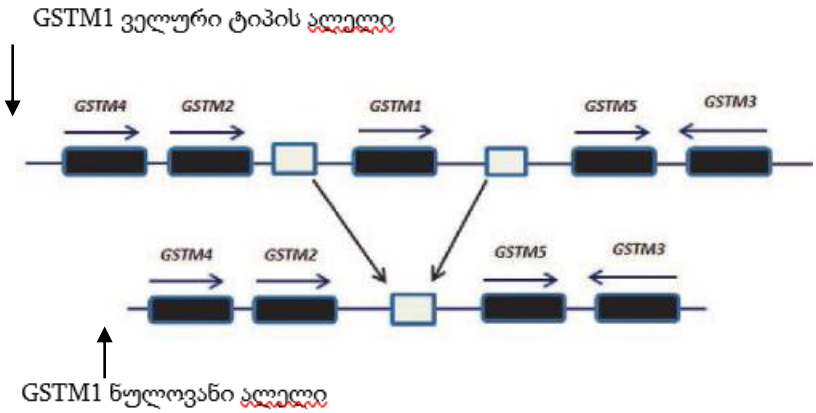
გლუტათიონის მონაწილეობით განპირობებული დეტოქსიკაცია უშუალო მონაწილეობას იღებს ორგანიზმის დაცვაში ოქსიდაციური სტრესისგან, რაც მიზანშეწონილს ხდის გლუტათიონ S-ტრანსფერაზების გენების პოლიმორფიზმის შესწავლას სხვადასხვა პათოლოგიური მდგომარეობის, მათ შორის ტუბერკულოზის დროსაც მგრძნობელობაში (Zemlyakova and Koldibekova, 2012; Danielle et al., 2012).

ძუძუმწოვრებში ცნობილია GST -ის 6 ქვეკლასი: α; μ; κ ; π; θ; δ, რომელთაც მსგავსი ამინომჟავური შემადგენლობა აქვთ (Баранов, 2000). ადამიანში არის μ ქვეკლასის 5 იზოფერმენტი, რომლებიც კოდირებულია GSTM გენით და წარმოიქმნებიან რნმ-ტრანსკრიპტის ალტერნატიული სპლაისინგის შედეგად.

ადამიანში ცნობილია 5 GSTM გენი, რომლებიც კოდირებულია 1p13.3 ქრომოსომის 100 კბ გენის კლასტერით, განლაგებულია შემდეგი თანმიმდევრობით: 5'-GSTM4-GSTM2-GSTM1-GSTM5-GSTM3-3', და ხასიათდება მაღალი პოლიმორფულობით (Pearson et al., 1993).



სურ.2.3.1.1 წარმოდგენილია GSTM გენი, რომელიც შედგება 8 ეგზონისაგან (წითელი) და 7 ინტრონისაგან (მწვანე).



სურ.2.3.1.2 GSTM1 გენის ველური და ნულოვანი ალელი

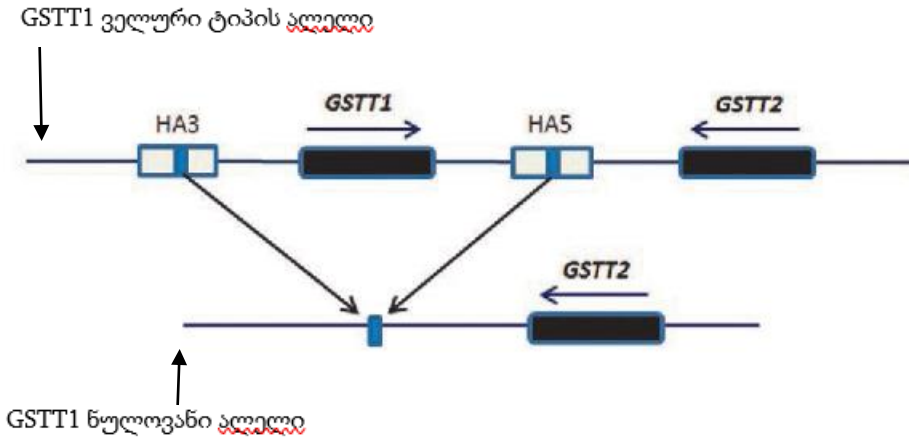
GSTM1 და GSTM2 გენების მაკოდირებელი თანმიმდევრობები ავლენენ 99%-იან მსგავსებას (Vorachek et al., 1991). ის ფაქტი, რომ GSTM1 და GSTM2 გენები ფიზიკურად არიან დაკავშირებული ერთმანეთთან, მიანიშნებს, რომ ხშირი დელეციები GSTM1 გენში გამოწვეულია არათანაბარი კროსინგოვერით (Pearson et al., 1993). ამასთან, HeLa-ს უჯრედებში, დადასტურებულია GSTM2-ის ექსპრესიის მომატება, მაშინ, როდესაც ადგილი აქვს GSTM1 გენის აქტივობის დაკარგვას, რაც კომპენსირებულია სწორედ GSTM2-ის ექსპრესიის მატებით (Bhattacharjee et al., 2013).

ზოგიერთი ავტორი (Mclellan et al., 1997) მიუთითებს, რომ რესტრიქციული კარტირების მონაცემებით, GSTM2 და GSTM5 გენებს შორის GST mu კლასტერის ორი ტანდემური GSTM1 გენია განლაგებული. GSTM1 გენი შეიცავს 4 განსხვავებულ ალელს, რომელიც განისაზღვრება როგორც GSTM1-0, GSTM1-A, GSTM1-B და GSTM1 1X2 (Wu et al., 2012). GSTM1-0 (GSTM1 ნულოვანი ალელი წარმოიქმნა რეკომბინაციის გზით, ევოლუციის პროცესში, 20 კბ სეგმენტის დელეციის შედეგად და მოთავსებულია 2 მაღალი ჰომოლოგიის მქონე რეგიონს შორის, რომლებიც ფლანკირებს ამ ლოკუსს (Xu et al., 1998). GSTM1 -ის დელეციის პოლიმორფიზმი ვარირებს ეთნიკურ ჯგუფებში 18%-დან 66%-მდე (საშუალო არის 50%), აზიელების გამოკლებით, რომელთათვისაც აღნიშნული მაჩვენებელი ვარირებს

38%-დან 58%-მდე (Wu et al., 2012). GSTM1-A და GSTM1-B ერთმანეთისაგან განსხვავდება ერთი ფუძით, მე-7 ეგზონში (Seidegard et al., 1988), კონკრეტულად, 534 პოზიციაში C (ციტოზინი) ჩანაცვლებულია G-თი (გუანინი) და იწვევს ამინომჟავა ლიზინის ასპარაგინით ჩანაცვლებას პოლიპეპტიდის 172-ე პოზიციაში (Widerstern et al., 1991). ცვლილება იწვევს მონოდიმერის (GSTM1 A -1A , GSTM1 B -1B) ან ჰეტეროდიმერის (GSTM1 A -1B) წარმოქმნას. ამასთანავე, in vitro კვლევებმა დაადასტურა მათი ერთნაირი აქტივობა (Widersten et al., 1991).

ზოგიერთი ავტორის მონაცემებით, GSTM1 ლოკუსს აქვს 3 ალელური ფორმა, რომელთაგან GSTM1*A და GSTM1*B კოდირებენ ფერმენტული აქტივობით განსხვავებულ ცილებს. GSTM1-თან მიმდებარედ ორ ჰომოლოგიურ თანმიმდევრობას შორის მომხდარი არათანაბარი კროსინგოვერის შედეგად წარმოიქმნება 10 000 ნუკლეოტიდურ წყვილზე შემცველი დელეცია (ნულოვანი ალელი) (Баранов, 2000). ამ მუტაციის დროს ფერმენტის სინთეზი არ ხდება. არსებობს კავშირი GSTM1-ის ნულოვან ალელსა და ღვიძლის ციროზსა და კიბოს განვითარებას შორის, ალკოჰოლის ჭარბად მოხმარებასა, ზოგიერთი სამკურნალო პრეპარატის მიღებასა და ან კანცეროგენების გავლენის დროს (Баранов, 2000). GSTM1 გენის დელეცია ფართოდაა გავრცელებული სხვადასხვა პოპულაციებში - 35-50% ევროპული წარმოშობის პირები ჰეტეროზიგოტულები არიან GSTM1 -ის დელეციის მიხედვით (Кравченко, 2004, Hernández et al., 2017). GSTM1 -ის ნულოვანი ალელების სიხშირე რუსეთის მოსახლეობაში შეადგენს - 40-47% (Корытина, 2003).

GST *θ*(*თეტა*) კლასის მაკოდირებელი GSTT1 ლოკალიზებულია 22-ე ქრომოსომის 22q11 ლოკუსში. მისი პოლიმორფიზმი განპირობებულია ორი ალელის - ფუნქციურად აქტიური და არააქტიურის (ნულოვანი) არსებობით. GSTT1 -ის გენის სრული ან ნაწილობრივი დელეცია იწვევს ფერმენტული აქტივობის დაქვეითებას ან არარსებობას (Баранов, 2000, Hernández et al., 2017). ნულოვანი გენის მქონე ინდივიდები ხასიათდებიან წინასწარგანწყობით ღვიძლის სიმსივნისადმი ტოქსიკური ნივთიერებების ზეგავლენის ქვეშ (Баранов, 2000). GSTT1 -ის გენის დელეციის გავრცელების ხარისხი განსხვავებულია სხვადასხვა ეთნო ჯგუფებში. ევროპელების 20%-ზე მეტი ჰომოზიგოტურები არიან GSTT1 -ის გენის ნაწილობრივი დელეციის მიხედვით (Корытина, 2003).



სურ.2.3.1.3 GSTT1 ველური და ნულოვანი ტიპის ალელი

გლუტათიონ S–ტრანსფერაზა (GST) ასრულებს სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვან როლს მრავალი ხელოვნურად წარმოებული ნაერთის, მათ შორის წამლების (ანტისიმსივნური პრეპარატების ჩათვლით) II ფაზის ბიოტრანსფორმაციასა და დეტოქსიკაციაში. ადამიანის ციტოზოლის GST-ები არიან პოლიმორფულები და ახასიათებთ ეთნო-დამოკიდებულება, დაკავშირებული სხვადასხვა სახის დაავადებასთან.

GSTM1 და GSTT1 გენების მიხედვით ორმაგი ნულოვანი ვარიანტი მიიღება 1(p13.3) და 22(q11.2) ქრომოსომებში, 16 და 52 კბ მონაკვეთების დელეციებით, შესაბამისად, და დაკავშირებულია ღვიძლის მედიკამენტოზური დაზიანების, სიმსივნის სხვადასხვა ფორმების, კარდიოვასკულარული დავადებების და სხვა დაავადებათა განვითარების მომატებულ რისკთან (Magno et al., 2009; Rafiee et al., 2010; Okada et al., 2010; Wang et al., 2010; Nafissi et al., 2011).

GSTM1 და GSTT1 გენების ნულოვანი ვარიანტების სიხშირეთა ანალიზმა გამოავლინა განსხვავებული სურათი აზიელ, აფრიკელ და ევროპულ მოსახლეობაში. დადგინდა მნიშვნელოვანი პოპულაციათაშორისი განსხვავება GSTM1 და GSTT1 გენების პოლიმორფიზმის მიხედვით. GSTT1 გენის ნულოვანი ვარიანტის სიხშირე ევროპელებში ვარირებდა 14 % –დან 28.3%–მდე (Nafissi et al., 2011; Fromenty et al., 2005; Huang et al., 2003; Hussain et al., 2003; Ingelman-Sundberg, 2005).

აფრიკელებში GSTM1 და GSTT1 ნულოვანი გენოტიპების სიხშირე შეადგენდა 27.8% და 46.8%; სამხრეთ ინდოელთა პოპულაციაში 22.4% და 17.6%, ხოლო ჩინელების პოპულაციაში 52.0% და 38,7%, შესაბამისად (Piacentini et al., 2011;Vettriselvi et al., 2006; Liu et al., 2009).

ევროპულ პოპულაციაში აღნიშნული გენების სიხშირე სხვადასხვა ავტორის მონაცემებით სხვადასხვაა (იხ. ცხრილი2.3.1.1), თუმცა განსხვავდება აზიური პოპულაციისაგან.

ცხრ. 2.3.1.1 GSTT1 და GSTM1ნულოვანი გენოტიპების სიხშირე ზოგიერთ ევროპულ პოპულაციაში

პოპულაცია	GSTT1 ნულოვანი		GSTM1 ნულოვანი		ლიტერატურული წყაროები
	რაოდენობა	სიხშირე	რაოდენობა	სიხშირე	
იტალია	521	0,357	464	0,169	Present Study
იტალია	810	0,494	553	0,163	Garte et al.(2001)
იტალია	211	0,510	76	0,190	Taioli et al.(2001)
დანია	537	0,536	358	0,129	Garte et al.(2001)
ფინეთი	482	0,469	385	0,130	Garte et al.(2001)
საფრანგეთი	1184	0,534	512	0,168	Garte et al.(2001)
გერმანია	734	0,516	487	0,195	Garte et al.(2001)
საბერძნეთი	165	0,388	165	0,188	Stavropoulou et al.(2007)
ჰოლანდია	419	0,504	419	0,229	Garte et al.(2001)
პოლონეთი	233	0,476	233	0,163	Kargas et al.(2003)
სლოვაკეთი	332	0,512	322	0,180	Garte et al.(2001)
სლოვენია	102	0,520	102	0,255	Garte et al.(2001)
ესპანეთი	312	0,497	312	0,205	Garte et al.(2001)
შვედეთი	544	0,559	423	0,130	Garte et al.(2001)
თურქეთი	133	0,519	133	0,173	Ada et al.(2004)
თურქეთი	121	0,550	121	0,818	Unal et al.(2007)

GSTT1 და GSTM1 ნულოვანი გენოტიპების ფართო პოპულაციური ვარიაბელობა მრავალი ფაქტორის ურთიერთქმედების შედეგია, როგორიცაა: თითოეული პოპულაციის განვითარების განსხვავებული ისტორია, ცხოვრების წესით განპირობებული გადარჩევა, ტოქსინებისადმი განსხვავებული მგრძნობელობა და განწყობა გარკვეული დაავადებების მიმართ. GSTT1 და GSTM1 გენებისათვის ნაჩვენებია როგორც პოპულაციათაშორისი, ასევე შიდაპოპულაციური პოლიმორფიზმი.

კვლევები GST–ს ვარიანტების გავრცელების მიხედვით, გაზრდის ინფორმაციას პოპულაციებში გარკვეულ დაავადებათა გავრცელების შესახებ (Piacentini et al., 2011).

2.3.2 ქრომოსომათა სტრუქტურულ-რაოდენობრივი დარღვევები და ფრაგილური საიტები

ქრომოსომები, როგორც ცნობილია, შედგებიან დნმ-სა და ცილების თანამიმდევრობებისაგან, რომლებიც განაპირობებენ მათ შეფუთვას ქრომოსომაში. ამდენად, როდესაც საქმე ეხება ქრომოსომულ არასტაბილურობას, ამ მოვლენაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ეპიგენეზური ცვლილებებიც.

ქრომოსომული არასტაბილურობის ფონზე უჯრედებსა და ორგანიზმში განვითარებული ჰომეოსტატიკური ძვრები, როგორც წესი, პათოლოგიების განვითარების მიზეზს წარმოადგენენ. მეორე მხრივ, პათოლოგიები, მათი გამომწვევი მაინფიცირებელი აგენტები და თანმდევი ანთებითი პროცესები, ქრომოსომული არასტაბილურობის განვითარების ერთ-ერთი გზაა. სპონტანური ქრომოსომული აბერაციები ფორმირდება იმავე აგენტების გავლენით, რომელთა ზემოქმედებაც იწვევს ქრომოსომათა ინდუცირებულ მუტაციებს, მათ შორისაა როგორც გარემომცველ გარემოში არსებული აგენტები(ქიმიური, რადიაციული, ვირუსული), ასევე აგენტები რომლებიც წარმოიქმნება მეტაბოლიზმის შედეგად.

უკანასკნელ ათწლეულებში წარმოდგენილია ამომწურავი ინფორმაცია იმასთან დაკავშირებით, რომ ქრომოსომული არასტაბილურობა (ქრომოსომათა რაოდენობრივ-სტრუქტურული დარღვევები) წარმოადგენს მემკვიდრული წინასწარგანწყობის დაავადებების მოლეკულურ-უჯრედულ მექანიზმს (Jokhadze et al., 2005; Lezhava et al., 2015; Ворсанова и др 2018).

ქრომოსომული არასტაბილურობის მაღალი დონე დაფიქსირებულია პათოლოგიათა იმ ჯგუფისათვის, რომლებიც ქრომოსომული დაავადებების სახელწოდებითაა ცნობილი, და, აგრეთვე, დაავადებებისათვის რეპარაციის სისტემის დარღვევებით - დაუნის სინდრომი, ბლუმის სინდრომი, ვერნერის სინდრომი,კოკეინის სინდრომი, ატაქსია-ტელეანგიექტაზია, ფანკონის სინდრომი, პიგმენტური ქსეროდერმა და ა.შ. (Arora et al., 2014; Natale and Raquer, 2017).

ქრომოსომული ანომალიები დამახასიათებელია სიმსივნეების უდიდესი უმრავლესობისათვის (Holland et al., 2009; Fan Kou et al., 2020). გარკვეული ტიპის ლეიკოზისათვის(ქრონიკული მიელოიდური ლეიკემია) სპეციფიკური მარკერის სახით გამოვლენილია ე.წ. ფილადელფიური ქრომოსომა, რომელიც სადიაგნოსტო ტესტს წარმოადგენს (Jabbour et al., 2018). ქრომოსომათა სტრუქტურულ-რაოდენობრივი დარღვევების მაღალი დონეა დაფიქსირებული სხვა პათოლოგიების შემთხვევებშიც, რომელთა დიდი ნაწილი მემკვიდრული წინასწარგანწყობით ხასიათდება. ეს შეეხება,

ნერვულ-დეგენერაციული ჯგუფის დაავადებებს, გულ-სისხლძარღვთა დაავადებებს, ართრიტებს, ჩიყვის ზოგიერთ ფორმას (Astolfi et al., 2010).

<u>ქრომოსომათა ფრაგილური საიტები</u>

გენომის არასტაბილურობის მნიშვნელოვან მახასიათებელს წარმოადგენს ქრომოსომათა ე.წ. „ფრაგილური საიტები“, „მსხვრევადი უბნები“. ეს ქრომოსომების ის უბნებია, რომლებიც ხასიათდება მაღალი მიდრეკილებით გაწყვეტებისადმი, გვიან რეპლიცირებს, და რომლებშიც ლოკალიზებულია მიკროსატელიტური გამეორებადობები (Kadotani and Watanabe, 1999).

როგორც ცნობილია, ეუკარიოტების და მათ შორის, ადამიანის გენომშიც ნუკლეოტიდთა გარკვეული თანამიმდევრობები რამდენიმე ასლის - განმეორებადობების - სახით შეიძლება არსებობდეს. განასხვავებენ ტანდემურ (ერთმანეთის მიყოლებით განლაგებულ) და მთელ გენომში დისპერგირებულ განმეორებადობებს. ტანდემურად გამეორებად თანმიმდევრობებში ზომების მიხედვით გამოყოფენ მიკრო- (8-10-მდე ნ.წ.) და მინისატელიტურ (10-100 ნ.წ.) გამეორებადობებს.

ტანდემური ტრინუკლეოდიტური გამეორებადობების საფუძველზე ხდება ე.წ. “დინამიური მუტაციების” წარმოქმნა, რომლებისთვისაც ნიშანდობლივია ამ გამეორებადობათა ასლების რაოდენობის ზრდა როგორც გენის რეგულატორულ, ისე ტრანსლირებად ნაწილებში (Calin et al. 2004).

ფრაგილური საიტები ქრომოსომებზე ვლინდება: ცვალებადი სიგრძის მქონე შეუღებავი 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, ისინი ჩართულია რეკომბინაციის მოვლენაშიც. 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 (Egeli et al.,2002).

ფრაგილური საიტები იყოფა ორ ჯგუფად: იშვიათი (~2%) და ზოგადი, რომლებიც ნანახია ყველა ადამიანში. ყველაზე კარგად შესწავლილი “იშვიათი” ფრაგილური საიტია F FRAX, რომელიც გვხვდება ფრაგილურ X სინდრომიან ინდივიდებში, იგი გამოვლენილ იქნა მოლეკულურ-გენეტიკური მეთოდით. სინდრომის 95% გამოწვეულია FMR-1 გენში მუტაციით, რომლის მიზეზს წარმოადგენს ექსპანსია არასტაბილური 3 ნუკლეოტიდის განმეორებადობისა CGG არატრანსკრიბირებად FMR-1 გენის უბანში (Coffee et al., 2002).

ზოგადი ფრაგილური საიტების მდებარეობა ქრომოსომებში, მათ შორის გეპების და ბზარების, ხილული რომ გახდეს უჯრედმა უნდა გაიაროს რეპლიკაციური სტრესი (Austin et al., 1992; Helmrich at 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. პირველ ეტაპზე წარმოიქმნება გენის ალელი, რომელიც ტრინუკლეოტიდური განმეორებადობების ნორმასთან შედარებით უფრო მეტ რაოდენობას შეიცავს, მაგრამ ეს ჯერ კიდევ არ არის

საკმარისი დაავადების განვითარებისათვის. ასეთ მდგომარეობას წინამუტაციურს უწოდებენ. მისი შემცველი ალელი არასტაბილური ხდება, რაც რიგ შემთხვევაში იწვევს სრული მუტაციის ჩამოყალიბებას – განმეორებადობათა გაზრდას დაავადების განვითარებისათვის აუცილებელ კრიტიკულ დონემდე. ასეთი ტიპის მუტაციათა მექანიზმები ბოლომდე ნათელი არ არის. ვარაუდობენ, რომ ისინი შეიძლება წარმოადგენდნენ დნმ-პოლიმერაზას ფუნქციის დარღვევის შედეგს. ფრაგილური საიტების ექსპანსიით არის განპირობებული მთელი რიგი ნეიროდეგენერაციული და ნეიროკუნთოვანი მემკვიდრული დაავადებები.

მეორე მხრივ, აღმოჩნდა, რომ ის უχრედული და ორგანიზმული ჰომეოსტატიკური ძვრები, რომლებიც ასოცირებულია მთელ რიგ პათოლოგიებთან, ასახვას პოვებს ქრომოსომათა ფრაგილური უბნების გამოვლენის სიხშირის ცვალებადობაშიც (Dadunashvili and Jokhadze, 2003; Jokhadze et al., 2005).

ფრაგილური საიტების მიმართ ინტერესი მნიშვნელოვნად გაიზარდა მას შემდეგ, რაც გამოვლინდა მათი კავშირი ზოგიერთი ლოკალიზაციის ავთვისებიან სიმსივნესთან (Egeli et al., 2002; Smith et al., 2007).

არსებობს ფრაგილური სატების ექსპრესიის მექანიზმების რამდენიმე სავარაუდო ახსნა. მიიჩნევენ, რომ ფრაგილური საიტების ერთ-ერთი ფორმის - გეპების გამოვლენა განპირობებულია დნმ-ის დესპირალიზაციით. პროცესში ჩართულია თავად დნმ, ჰისტონები, არაჰისტონური ცილები და ორვალენტიანი იონები. აღინიშნება აგრეთვე, რომ გეპები დასაშვებია მოიცავდეს დნმ-ში კოდირებულ ინფორმაციას. შემთხვევითი (სპორადული) ქრომატიდული გეპები შესაძლოა გამოიწვიოს G2 ფაზაში მიმდინარე პროცესებმა.

ხაზგასმულია მეთილირების და აცეტილირების როლი გენის ტრანსკრიპციის პროცესში, რაც, თავის მხრივ, ჩართულია ფრაგილური საიტების ექსპრესიაში. დნმ-ის ინჰიბიტორის დეზოქსიციტიდინის მოქმედების შედეგად FMR1 გენში დნმ-ის მეთილირება აღარ ხდება და აქტივირდება გენის ტრანსკრიპცია. დნმ-ის მეთილირება უკვე დიდიხანია ასოცირდება გენის ტრანსკრიპციის რეპრესიასთან. დნმ-ის მეთილირება შეიძლება პირდაპირ იყოს დაკავშირებული გენის გაჩუმებასთან, რომელშიც მონაწილეობენ ტრანსკრიპციის ინჰიბიტორები (Coffee et al., 2002).

ფრაგილური საიტების ექსპრესიის სიხშირე შესაძლოა შეიცვალოს კულტურის არის შემადგენლობის ცვლილებით, მაშინაც კი თუ დამატებული აქვს კოლხიცინი. ამ საიტების ექსპრესიაზე შეიძლება პირდაპირ გავლენას ახდენდეს გვიანდელ G2 ან ადრეულ პროფაზაში ქრომატიდების სპირალიზაცია.

ფრაგილურ საიტებს ეძახიან აგრეთვე მუტაგენეზის ცხელ წერტილებს (hot spots). ზოგადი ფრაგილური საიტების რეპლიკაციის შესწავლით აღმოჩნდა რომ მათი რეპლიკაცია ხდება გვიან. გვიანი ან შენელებული რეპლიკაცია ხელს უწყობს ფრაგილური საიტების არასტაბილურობას და არარეპლიცირებული დნმ-ის ჩართვას G2 ფაზაში.

არის მოსაზრება, რომ ფრაგილური საიტები შეიძლება იყოს ერთძაფიანი, რომლის მიზეზია მეტაფაზური ქრომოსომების არარეპლიცირებული რეგიონების არსებობა და რეპლიკაციური ჩანგლის შესუსტება, მათ შესაძლოა საწყისი მისცენ წყვილ ძაფიან წყვეტებს (DSB3) და შემდგომში დელეციების სახით გამოვლინდებიან ზოგიერთ ქრომოსომაში.

აღნიშნული მიზეზების გამო ითვლება, რომ ქრომოსომათა ფრაგილური საიტები თანხვდება შვილეულ ქრომატიდთაშორის გაცვლების წერტილებს (Smith et al., 2007).

2.4 სინთეზური ოლიგოპეპტიდების ბიოლოგიური როლი

რეგულატორული პეპტიდები ახალი თაობის, მაღალთერაპიული აქტივობის მქონე სამკურნალო პრეპარატებია. თანამედროვე მედიცინაში ბიომარეგულირებელი თერაპია ინტენსიურად განვითარებადი ახალი მიმართულებაა. იგი ითვალისწინებს ჰომეოსტაზის მამოძრავებელი მოლეკულური და უჯრედული მექანიზმების კვლევას. პეპტიდური ბიორეგულატორული თერაპია განიხილება როგორც ჰომეოსტატიური მიმართულება მედიცინაში.

პეპტიდთა კომპლექსები გამოყოფილია პრაქტიკულად ყველა უჯრედიდან, ქსოვილიდან და ორგანიზმის ბიოლოგიური სითხეებიდან. უკანასკნელ ხანებში შემუშავებულია პეპტიდური ბიორეგულატორების ქიმიური სინთეზის ტექნოლოგია, რაც გულისხმობს მაღალმოლეკულური ცილების და სხვა მოლეკულების სრულ დეგრადაციას, რის შედეგად შენარჩუნებულია მხოლოდ დაბალმოლეკულური პეპტიდები, რომელთა მასა არ აღემატება 10კდ-ს. მრავალიერარქიული პრინციპის მიუხედავად ჰომეოსტაზის რეგულაციის ყველა მექანიზმი პრინციპულად ერთიდაიგივე მიზანს ემსახურება – კოორდინირებას უწევს უჯრედში ცილის ბიოსინთეზს გენთა ექსპრესიაზე ზემოქმედების გზით. ჰომეოსტაზის პეპტიდური რეგულაციის უნიკალური თავისებურებაა პოლიპეპტიდების პროცესინგი – პეპტიდაზების აქტივაციის გზით, საჭირო დროსა და ადგილას საჭირო რაოდენობით პეპტიდური მოკლე ფრაგმენტების წარმოქმნა, რომელთაც გაცილებით მაღალი აქტივობა გააჩნიათ, ვიდრე საწყის ნაერთს.

ცნობილია, რომ ორგანიზმის სხვადასხვა უჯრედისა და ქსოვილის შემადგენელი პეპტიდური ბიორეგულატორები მიიღებიან ცილათა ორგანული პროტეოლიზის გზით და გააჩნიათ ბიოლოგიური ზემოქმედების ფართო სპექტრი. ისინი კოორდინირებას უწევენ ორგანიზმის განვითარების პროცესს და მრავალუჯრედიანი სისტემების ფუნქციონირებას. პეპტიდური ბიორეგულატორები ორგანიზმში ზრდიან რეგულატორული მესენჯერების სეკრეციას და არეგულირებენ ცილის სინთეზის პროცესს (Khavinson et al., 2014, 2022).

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 და სეკრეციის და მათი სამიზნე-უჯრედების მგრძნობელობის დაქვეითება, რის საფუძველია პეპტიდებთან დაკავშირებული ენდოკრინული, პარაკრინული და აუტოკრინული მექანიზმების დარღვევა (Khavinson et al., 2014, 2022).

უჯრედების მიერ ენდოგენური პეპტიდების გამოყენება შეიძლება განხილულ იქნეს უჯრედული პოპულაციების თვითრეგულაციის, უჯრედული ჰომეოსტაზის ერთ-ერთ საშუალებად. ცნობილია, რომ პეპტიდური რეგულატორები უშუალოდ მონაწილეობენ გენთა ექსპრესიის და ცილათა ბიოსინთეზის ქსოვილსპეციფიურ რეგულაციაში. პეპტიდური რეგულაციის შედეგად უჯრედებში იკლებს ისეთი პათოლოგიური ცვლილებების დონე,

როგორებიცაა დნმ-ის დაზიანება, მუტაცია, ავთვისებიანი ტრანსფორმაცია და სხვ. იზრდება რეპარაციული პროცესების აქტივობა, რაც მიმართულია უჯრედული ჰომეოსტაზის შენარჩუნებისაკენ (Khavinson et al., 2002, 2022).

ბიორეგულატორული პეპტიდების მოქმედების შესწავლამ დაადგინა, რომ ისინი ახორციელებენ გენთა ექსპრესიის და ცილის ბიოსინთეზის შიდაუჯრედულ რეგულაციას, ჰომეოსტაზის დარღვევის შემთხვევაში კი ააქტიურებენ უჯრედის ანტიოქსიდანტურ სისტემებს და მაკრომოლეკულების რეპარაციას.ზოგიერთი ბიორეგულატორული პეპტიდი (ეპიტალამინი, ეპიტალონი) ხასიათდება გამოხატული ანტიოქსიდანტური აქტივობით. აღნიშნული ეფექტი შესწავლილია დროზოფილაზე და სხვა ექსპერიმენტულ ცხოველებზე. პეპტიდურ ბიორეგულატორებს უნარი აქვთ 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 (Khavinson et al., 2002, 2014, 2022).

შესწავლილ იქნა სინთეზური პეპტიდების ლივაგენისა და ეპიტალონის ზემოქმედება რიბოსომული გენების აქტივობაზე, ჰეტეროქრომატინის დენატურაციის პარამეტრებზე, სტრუქტურული C–ჰეტეროქრომატინის პოლიმორფიზმზე და ფაკულტატური ჰეტეროქრომატინის ვარიაბელობაზე ხანდაზმული ინდივიდების ლიმფოციტებში. საკვლევი ბიორეგულატორული პეპტიდები იწვევდნენ გენების აქტივაციას, პერიცენტრული სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის დეკონდენსაციას, რეპრესირებულ გენთა გამოთავისუფლებას ქრომოსომათა ეუქრომატული უბნების ასაკთან დაკავშირებული კონდენსაციისაგან. გამოკვლევათა შედეგები მიუთითებს, რომ ლივაგენი განაპირობებს ქრომატინის აქტივაციას ჰეტეროქრომატინისა და ქრომოსომათა ჰეტეროქრომატინიზებული რაიონების მოდიფიკაციის გზით (Khavinson et al., 2002, 2003).

ეპიტალონი ხანდაზმული ადამიანებისაგან მიღებულ PHA-სტიმულირებულ უჯრედებში იწვევს ქრომატინის ორგანიზაციის უმაღლესი დონის და აგრეთვე 10ნმ-იანი ფილამენტის დეკონდენსაციას (Khavinson et. al. 2003).

ვარაუდობენ, რომ უჯრედის გენეტიკური აქტივობის მოდულაცია ოლიგოპეპტიდებით განპირობებულია მათი საიტ-სპეციფიური დაკავშირებით დნმ-ის პრომოტორთან. გარდა ამისა პეპტიდები რეგულირებას უწევენ პოსტტრანსკრიფციულ პროცესებს.

3. კვლევის მასალა და მეთოდები

3.1 კვლევის მასალად გამოყენებული იყო ტუბერკულოზით პირველადად დაავადებულთა (სენსიტიური (40) და მულტირეზისტენტული (30)) პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტარული კულტურების უჯრედები, საკონტროლოდ გამოიყენებოდა კლინიკურად ჯანმრთელი საშუალო ასაკის ინდივიდების (50) ლიმფოციტარული კულტურები. მასალა მოწოდებულია ტუბერკულოზისა და ფილტვის დაავადებათა ეროვნული ცენტრის მიერ.

3.2 გამოყენებული მეთოდები

3.2.1 პერიფერიული სისხლის კულტივირების მეთოდი

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.

კულტივირება მიმდინარეობდა სტანდარტული მცირედმოდიფიცირებული მეთოდით, ანტიბიოტიკების დამატების გარეშე (Lezhava, 2001). საკვებ არედ გამოყენებული იყო RPMI 1640, მიტოგენად - Sigma-ს ფირმის ფიტოჰემაგლუტინინი. შესწავლილ იქნა ორივე ჯგუფის საკვლევ ინდივიდთა როგორც ინტაქტური, ისე ეპიტალონით და ლივაგენით დამუშავებული. კულტივირების ხანგრძლივობა ყველა შემთხვევაში 72 საათს შეადგენდა. ეპიტალონი ან ლივაგენი ერთჯერადი სამკურნალო დოზის შესაბამისი (არამუტაგენური) კონცენტრაციით კულტურებს ემატებოდა ინკუბაციის 24-ე საათზე, კობალტი-48-ე საათზე. კულტურების კოლხიცინიზაცია, ჰიპოტონური დამუშავება და ფიქსაცია ხდებოდა სტანდარტული მეთოდით. შეღებილ ქრომოსომულ სლაიდებზე ხდებოდა ქრომოსომათა სტრუქტურული და რაოდენობრივი დარღვევების ანალიზი, მიღებული შედეგები ექვემდებარებოდა სტატისტიკურ დამუშავებას.

<u>ტესტირებული ბიორეგულატორები</u>

პეპტიდური ბიორეგულატორი, **ეპიტალონი** ტეტრაპეპტიდია (Ala-Glu-Asp-Glu) - ეპიფიზის კომპლექსური პრეპარატის ამინომჟავური ანალიზის საფუძველზე შექმნილია სანკტ-პეტერბურგის ბიორეგულაციისა და გერონტოლოგიის ინსტიტუტში, აძლიერებს ორგანიზმის მდგრადობას სტრესული ზემოქმედებისადმი და ხელს უწყობს სიცოცხლის საშუალო ხანგრძლივობის ზრდას. ნაჩვენებია, რომ მის პროტექტორულ მოქმედებას საფუძვლად უდევს ქრომატინზე მისი მამოდიფიცირებელი მოქმედება (Khavinson, 2009).

ლივაგენი ტეტრაპეპტიდია (Lys-Glu-Asp-Ala) - ღვიძლის კომპლექსური პრეპარატის ამინომჟავური ანალიზის საფუძველზე ქიმიური სინთეზის გზით არის შექმნილი სანქტ-

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).

ლივაგენი+$CoCl_2$-ლივაგენისა და $CoCl_2$-ის კომბინაცია. რიგი პათოლოგიების დროს ამ ნაერთების თანმიმდევრული კომბინაციური ზემოქმედებისას დაფიქსირებულია გენომური არასტაბილურობის მაღალი მაკორეგირებელი ეფექტი.

ეპიტალონი და ლივაგენი ლიმფოციტურ კულტურებს ემატებოდა ერთჯერადი თერაპიული დოზის შესაბამისი კონცენტრაციით; რაც შეეხება $CoCl_2$-ს, ცდებში გამოყენებული იყო მისი 10^{-4} მოლარობის ხსნარი.

3.2.2 დიფერენციული სკანირების მიკროკალორიმეტრული მეთოდი

ქრომატინის კონდენსაციის ხარისხის შესწავლას ვახდენდით დიფერენციული სკანირების კალორიმეტრის გამოყენებით (Monaselidze et al., 1978). რომელიც საშუალებას გვაძლევს შევისწავლოთ როგორც ცილებისა და ნუკლეინის მჟავების განზავებული ხსნარების, ასევე უჯრედებისა და ქსოვილების სითბური თვისებები.

დიფერენციული სკანირების კალორიმეტრის მგრძნობელობა შეადგენს 10^{-7} კალ/წმ, ტემპერატურული ინტერვალი – 20–150^{0}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 $\pm 1^0$.

ქრომატინის კონდენსაციის გრაფიკული გამოსახვა ხდებოდა სითბოს შთანთქმის მრუდებით. დიფერენციული სკანირების მიკროკალორიმეტრული მეთოდის საფუძველს წარმოადგენს ის ფაქტი, რომ ქრომატინის განსხვავებული ფრაქციები ხასიათდებიან განსხვავებული თერმოსტაბილობით.

3.2.3 შვილეულ ქრომატიდთა გაცვლების გამოვლენის მეთოდი

შვილეულ ქრომატიდთა შორის გაცვლების აღრიცხვა ხდება იმ უჯრედებში, რომლებმაც რეპლიკაციის ორი ციკლი გაიარეს კულტურაში თიმინის ანალოგის – 5 ბრომდეზოქსიურიდინის (5-ბდუ) თანაობისას. შვილეულ ქრომატიდთა დიფერენციალური შეღებვისთვის ვსარგებლობდით Антощина, Порядкова (1978) მცირედ მოდიფიცირებული მეთოდით. კულტურებს დადგმისას ემატებოდა (5-ბდუ) საბოლოო კონცენტრაციით 7.7 მკგ/მლ. ლიმფოციტების კულტივირება ხდებოდა სტანდარტული მეთოდით. მიღებული ქრომოსომული სლაიდები სხივდებოდა 2 X SSC ხსნარში QDPT-375 ნათურით 25-27 წუთის განმავლობაში, შემდეგ ირეცხებოდა და იღებებოდა აზურ-ეოზინის 5-%-იანი საღებავით 3 წუთის განმავლობაში.

3.2.4 იზოთერმულ სმარტ-ამპლიფიკაციაზე დაფუძნებული მეთოდი (SmartAmp-2)

SNP(ერთნუკლეოტიდიანი პოლიმორფიზმი) გენოტიპირება ხორციელდებოდა ხელსაწყო Ese-Quant Tube Scanner-ის საშუალებით, რომელიც წარმოადგენს ახალი თაობის, იზოთერმულ PCR-ზე დაფუძნებულ ტექნოლოგიას, არის მარტივად გამოსაყენებელი ლუმინესცენტური სისტემა. იგი უაღრესად მგრძნობიარეა, ძლიერი და ეფექტურია, ამავდროულად სწრაფიც. ფლუორესცენციის დეტექტორი დაფუძნებულია თანამედროვე მიკროსისტემურ ტექნოლოგიებზე. სმარტ ამპლიფიკაციის პროცესი (SMAP) წარმოადგენს დნმ-ამპლიფიკაციაზე დაფუძნებულ მეთოდს, რომელიც საკმაოდ მოსახერხებელია ერთნუკლეოტიდიანი პოლიმორფიზმის (SNP) და მუტაციების სწრაფად დადგენისათვის. აღნიშნული მეთოდი აქამდე არსებულ მეთოდებთან შედარებით გამოირჩევა მთელი რიგი უპირატესობით. კერძოდ:

1. რეაქცია იზოთერმულია, ანუ PCR-ისგან განსხვავებით არ საჭიროებს ტემპერატურის რეჟიმის ცვლას და ერთ ტემპერატურაზე მიმდინარეობს.

2. შედეგების დადგენა შეიძლება პირდაპირ, სულ რამდენიმე მიკროლიტრი სისხლის ნიმუშიდან, დნმ-ის ყოველგვარი გასუფთავებისა და გამოყოფის გარეშე.

სურ.3.2.4.1 სმარტ ამპლიფიკაციის (SMAP) ჩასატარებელი ნიმუშები

როგორც აღვნიშნეთ, ამ მეთოდის დახმარებით მუტაციის აღმოჩენა შესაძლებელია საკვლევი მასალის 30 წუთიანი ინკუბაციის შედეგად, იზოთერმულ პირობებში. რეაქცია მიმდინარეობს 25მკლ. სარეაქციო სინჯარებში (PCR-ის სინჯარები), რომელსაც ემატება 10 მკლ. მოცულობის ოთხი სხვადასხვა პრაიმერის ნაკრები, რომელიც აინიცირებს ალელ-სპეციფიკურ ამპლიფიკაციას, სინჯარაში ემატება ასევე Bst დნმ-პოლიმერაზა და თავისუფალი ნუკლეოტიდების ნაკრები, რომელიც მონაწილეობას იღებს ახალი ჯაჭვების სინთეზში. გარდა აღნიშნულისა, არეში საჭირო და აუცილებელ კომპონენტებს წარმოადგენენ: DMSO (დიმეთილ სულფოქსიდი), ტრის-HCl (pH=8), KCl, $(NH_4)2SO_4$, $MgSO_4$, Tween[20] და SYBR Green - მწვანე ფერის საღებავი (ეს ყველაფერი ერთად არის რეაქციის ბუფერი, რომელიც ქმნის ხელსაყრელ ქიმიურ გარემოს დნმ-პოლიმერაზას ოპტიმალური აქტივობისა და სტაბილურობისთვის). ჩამოთვლილი კომპონენტები ერევა წინასწარ მომზადებულ საკვლევ ნიმუშში, რომელიც შეიცავს 1 წილ კაპილარულ სისხლს და 2 წილ 5%-იანი NaOH-ის ხსნარს. ხდება ნიმუშთა დამუშავება 98^0C ტემპერატურაზე 3 წუთის განმავლობაში. ბოლო ეტაპზე ნიმუში გრილდება ყინულზე და 2 მკლ მოცულობით გადაიტანება PCR ტუბებში, რომელიც თავსდება აპარატის სპეციფიკურ ბოქსში და 60 წუთის განმავლობაში მიმდინარეობს სმარტ-ამპლიფიკაციის რეაქცია.

კვლევაში გამოიყენებოდა შემდეგი პრაიმერები:

GSTM1 ველური ტიპის ალელის პრაიმერების ნაკრები:

GSTM1 TP	5'-GACAACCATATGAATTCTGGATTGTAGC-3'
GSTM1 FP	5'-ACCTTCTACCCTCAGAAGGTGACATTTTGGAGAACCAGAC-3'
GSTM1 BP	5'-CAGCTGGGCATGATCTG-3'
GSTM1 OP1	5'-GTTTTGTGGGTGGCAGGTGG-3'
GSTM1 OP2	5'-CCCAAATCCAAACTCTGTCA-3'

GSTT1 ველური ტიპის ალელის პრაიმერების ნაკრები:

GSTT1 TP	5'-TTTGCACACACACTAGTTGCTGAAGTCCTGCT-3'
GSTT1 FP	5'-ACCTTCTGTACCCTCAGAAGGTGCAGCATCTGATTTGGGGAC-3'
GSTT1 BP	5'-GCCATAGCCCGGTGT-3'
GSTT1 OP1	5'-CAGGTGAACCCACTAGGCAG-3'
GSTT1 OP2	5'-TGGATGGTTGTGAGGGCAGG-3'

რეაქციის ხარისხის კონტროლისათვის გამოიყენებოდა ეპიდერმული ზრდის ფაქტორის რეცეპტორის SmartAmp-2 კიტი, რომლის პრაიმერებიც იყო შემდეგი

TP - 5'-CACCGCAGCATGTTCCGCACCCAGCAGTTTG-3'

FP – 5'-CACCTTCACCCTCAGAAGGTGACCTGGCAGCCAGGAACG-3'

BP – 5'-ACAGATTTTGGGCT-3'

OP1 - 5'-GACCGTCGCTTGGTGCAC-3'

OP2 - 5'-CCTCCTTCTGCATGGTAT-3'

გენოტიპირება

როგორც საყოველთაოდ არის მიღებული, ჩვენს კვლევაშიც, GSTM1 დელეცირებული გენი ნახსენებია როგორც GSTM1 ნულოვანი ალელი ან GSTM1(-), ჰეტეროზიგოტი GSTM1(+/-) და ჰომოზიგოტი ველური ტიპის GSTM1(+/+) ორივე შემთხვევაში აღნიშნულია როგორც GSTM1(+).

GSTT1 გენის შემთხვევაშიც გამოყენებული გვაქვს იგივე აღნიშვნები.

3.2.5 აკროცენტრულ ქრომოსომათა აქტიური ბირთვაკმაორგანიზებელი უბნების გამოვლენის მეთოდი

ციტოგენეტიკური ანალიზისათვის გამოყენებული მეთოდებიდან G-ბენდირება ყველაზე ხშირად გამოყენებული და მისაღები მეთოდია. ტექნიკა პირველად შეიმუშავა დოქტორმა მარინა სიბრაიტმა, 1971 წელს (Seabright, 1971) ეს მეთოდი ხელსაყრელია ინდივიდუალური ქრომოსომების იდენტიფიკაციის მიზნით. ქრომოსომასთან ასოცირებული ცილების დაშლის მიზნით, თავდაპირველად ქრომოსომული პრეპარატები მუშავდება ტრიფსინით, შემდეგ კი იფარება გიმზის საღებავებით. შედეგად, თითოეული ქრომოსომული წყვილი ღია და მუქ ზოლებად იღებება, რომლებსაც G-ბენდებს უწოდებენ. (ჰეტეროქრომატული უბნები, რომლებიც მდიდარია ადენინით და თიმინით და შედარებით ღარიბია გენებით, იღებება მუქად, ხოლო ნაკლებად კონდენსირებული ქრომატინი

(ეუქრომატინი) რომელიც როგორც წესი მდიდარია გუანინით და ციტოზინით და ტრანსკრიფციულად მეტად აქტიურია, ნაკლებად იღებს გიმზას საღებავს და ნათელ უბნებად გამოიყურება G-ბენდირებისას. აღსანიშნავია, რომ ამ მეთოდის საშუალებით შესაძლებელია ინდივიდუალური ქრომოსომების ამოცნობა და ასევე სხვადასხვა გენეტიკური დაავადებების დადგენა (ძირითადად ქრომოსომული ანომალიები). G-ბენდირებით შეღებილი ქრომოსომების კარიოტიპირება (იდენტიფიცირება) ხდებოდა IKAROS-ის კარიოტიპირების (MetaSystems) სისტემის საშუალებით, რომელიც წარმოადგენს თანამედროვე მეთოდს ქრომოსომათა იდენტიფიცირებისა და ანალიზისათვის.

უჯრედებში ქრომოსომების აქტიური ბირთვაკმაორგანიზებელი უბნების გამოსავლენად და აქტივობის შეფასებისათვის, მათ შორის აკროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაციების სიხშირის, გამოვიყენებდით დავერცხლის მეთოდს. შეფასებას ვახდენდით არგენტოფილური სეგმენტების რაოდენობისა და ზომების მიხედვით. უჯრედის ეს მეტად ზუსტი და მგრძნობიარე 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, 37^0C–ზე. მოვერცხლილი სეგმენტების ზომა ფასდებოდა 3 ბალიანი სისტემით: 0 – სეგმენტების არარსებობა, 1 – მცირე ზომის სეგმენტები (ქრომატინის სისქეზე პატარა), 2 – დიდი ზომის (ქრომატიდის სისქის ტოლი ან მასზე დიდი).

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

ა ბ

სურ. 3.2.5.1 IKAROS-ის კარიოტიპირების სისტემა. ა-მიკროსკოპი; ბ-ქრომოსომათა იდენტიფიცირების ეკრანი.

3.2.6 მუტაციების (სტრუქტურული, რაოდენობრივი და ფრაგილური საიტების) აღრიცხვის მეთოდი

ქრომოსომების სტრუქტურული (აბერაციები, ფრაგილური საიტები) და რაოდენობრივი (ანეუპლოიდია, პოლიპლოიდია) მუტაციების შეფასება ხდებოდა ციტოგენეტიკური ნომენკლატურის საერთაშორისო სისტემის (ISCM, 1999) მიხედვით. ვაანალიზებდით დამაკმაყოფილებელი განბნევის მქონე მეტაფაზებს IKAROS-ის კარიოტიპირების (MetaSystems) სისტემის საშუალებით, აღვრიცხავდით ერთეულ და წყვილ ფრაგმენტებს, ტრანსლოკაციებს, ცენტრომერის ნაადრევ დაცილებას, გეპებს და ფრაგილურ საიტებს.

მიღებული შედეგები ექვემდებარებოდა სტატისტიკურ დამუშავებას

აბერაციების შემცველ უჯრედთა პროცენტისათვის სტანდარტული შეცდომის გამოთვლა ხდებოდა ფორმულით:

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

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

ერთ უჯრედზე აბერაციების შემთხვევაში სტანდარტული შეცდომა გამოითვლებოდა ფორმულით:

$$\pm\frac{\sqrt{n}}{N}$$

სადაც n აბერაციების რაოდენობაა, N-გაანალიზებულ უჯრედთა რაოდენობა.

შქგ-ს სიხშირის შეფასების მიზნით აღირიცხებოდა ცალკეულ ქრომოსომულ ჯგუფებში ტელომერული და ინტერკალარული გაცვლები, ეს უკანასკნელი აღირიცხებოდა როგორც ორი გაცვლა. შედეგების ურთიერთ შედარებას ვახდენდით ერთ მეტაფაზაზე შქგ-ს საშუალო მაჩვენებლის (M) მიხედვით.

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

სადაც n - აღრიცხული შქგ-ს რაოდენობაა; N გაანალიზებული მეტაფაზათა საერთო რაოდენობა.

სტანდარტული ცდომილება გამოითვლებოდა ფორმულით :

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

ბირთვაკმაორგანიზებელ უბნებში ლოკალიზებული რიბოსომული ცისტრონების ტრანსკრიფციულ აქტივობა ფასდებოდა რამდენიმე კრიტერიუმით: 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:

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

სადაც, PD და PG Ag^+ - პოზიტიური აკროცენტრული ქრომოსომების შეხვედრის ალბათობის მაჩვენებელია. მათი გამოთვლა ხდებოდა ფორმულით:

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

სადაც, m - Ag^+ - პოზიტიური ქრომოსომებია შესაბამის ჯგუფში. N- გაანალიზებული უჯრედების რაოდენობა.

აკროცენტრულ ქრომოსომათა სხვადასხვა ტიპის ასოციაციების (13:13; 13:14; 13:15; 13: 21; 13: 22; 14: 14; 14: 15; 14: 21; 14 : 22; 15: 15; 15: 21; 15: 22; 21: 21; 21: 22; 22: 22) ფორმირების პროცესში ინდივიდთა თითოეული ჯგუფისათვის ცალკეული ქრომატიდების აქტივობის განსაზღვრის მიზნით, გარკვეული ქრომოსომის სხვა ქრომოსომებთან ასოციაციებში გაერთიანების ზოგადი (ჯამური) რაოდენობის აღრიცხვა და შემდეგ ამ ქრომოსომის წილის გამოთვლა ასოციაციათა თითოეული ტიპისათვის ხდებოდა შემდეგი ფორმულით:

$\mu n = Sn|N$,

სადაც μn თითოეული ქრომოსომის ასოციაციაში შესვლის ინტენსივობას წარმოადგენს, Sn –ასოციაციის შესული თითოეული ქრომოსომის (ნომერს) რაოდენო ბას, N – შესასწავლ ჯგუფში ქრომოსომათა საერთო რაოდენობას, n – შესწავლილ აკროცენტრულ ქრომოსომას.

ორ სიმრავლეს ვადარებდით სტიუდენტის (t) კრიტერიუმით:

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

4. კვლევის შედეგები და განსჯა

4.1 ჰეტეროქრომატინიზაციის ხარისხის შეფასება ფტ-თი დაავადებული პაციენტების ლიმფოციტებში ბიორეგულატორის მოქმედებისას (დიფერენციული სკანირების მიკროკალორიმეტრიისა და შვილეულ ქრომატიდთა შორის გაცვლების აღრიცხვის მეთოდით)

ეპიგენეტიკური პროცესები მოიცავს: ნუკლეოსომების რემოდელირებას, ჰეტეროქრომატინიზაციას, დნმ-ისა და ქრომატინის მეთილირებას და ამ გზით გენების გამორთვას (ინაქტივაციას) (Lusser et al., 2001; Grewal et al., 2002; Imhof et al., 2003; Taverna et al., 2007; Chiacchiera et al., 2013). ჯანმრთელ ადამიანებში ჰეტეროქრომატინის ყველაზე მაღალი დონე ვლინდება ქრომოსომების მხრების ცენტრომერულ და ტელომერულ უბნებში, მედიალური უბნების ჰეტეროქრომატინი კი უფრო დაბალია. რიგ შემთხვევაში ეუქრომატინი ჰეტეროქრომატინთან ერთად განიცდის კონდენსაციას, რომელიც განაპირობებს ამ უბნებში ლოკალიზებული გენების ინაქტივაციას (გაჩუმებას) და რომელიც იწოდება ჰეტეროქრომატინიზაციად. ქრომატინის ამგვარი მოდიფიკაცია შექცევადი პროცესია და ქმნის ქრომატინზე მიზანმიმართული ზემოქმედების პერსპექტივას თერაპიაში მისი შემდგომი გამოყენების მიზნით (Lazutka, 1990; Lezhava, 2006).

კიდევ ერთი მექანიზმი, რომელიც აკავშირებს ეპიგენეტიკურ რეგულაციას ფტ-ს განვითარებასთან შესაძლებელია განპირობებული იყოს ქრომატინის რემოდელირების კომპლექსების - ჰეტერო- დეჰეტეროქრომატინიზაციის გამოყენებით. ამ შემთხვევაში ქრომატინის რემოდელირება ხორციელდება ნუკლეოსომების ფიზიკური გადაადგილებისა ან მათ დარღვევაში ჰისტონ-დნმ-ოვანი კონტაქტების ცვლილების გზით. ალბათობა იმისა, რომ ეპიგენეტიკურ მარკერებს შეუძლიათ უზრუნველყონ ახალი შესაძლებლობა ლატენტურ ინფექციასა და აქტიურ ფტ-ს შორის სხვაობის გამოვლენისა, ძალიან მაღალია, რაც, შესაძლოა საფუძვლად დაედოს ინფექციის ფარული ფორმის პროგრესირებას, გადასვლას ფტ-ს აქტიურ ფორმაში (Moller et al., 2010). არსებითად მნიშვნელოვნად წარმოგვიდგება ამ ეპიგენეტიკური მარკერების ცვალებადობის შედარებითი შესწავლა ფილტვის ტუბერკულოზით დაავადებულთა უჯრედებში მათზე მაკორეგირებელი აგენტებით (ეპიტალონის, ლივაგენისა და ლივაგენ-კობალტის კომბინაციის) ზემოქმედებამდე და ზემოქმედების შემდეგ, როგორც ცნობილია ეს აგენტები ხელს უწყობენ ფაკულტატური ჰეტეროქრომატინის სტრუქტურულ და ფუნქციონალურ აღდგენას (Khavinson et al. 2003, 2014; Lezhava et al., 2015). ასევე დასაშვებია, რომ სომატური მუტაციები და ეპიგენეტიკური ეფექტები მნიშვნელოვან გავლენას ახდენდნენ ფტ-ს კლინიკურ მიმდინარეობაზე, განსაკუთრებით დაავადების გვიან გამოვლენის შემთხვევებში.

ქრომოსომათა სტრუქტურული დარღვევებისა და ფრაგილური საიტების ჩატარებული კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ ფტ-ს დროს ადგილი უნდა ჰქონდეს ქრომატინის მოდიფიკაციურ ცვალებადობის, რაც გენომურ არასტაბილურობაში აისახა.

ფტ-თი დაავადებულთა ლიმფოციტებში ზოგადი ქრომატინის მდგომარეობის შესამოწმებლად გამოვიყენეთ ქრომატინის ლღობის თავისებურებათა განსაზღვრის დიფერენციული სკანირების მიკროკალორიმეტრიული მეთოდი. მეთოდის მგრძნობელობა შეადგენდა 0,1μw და გამზომი უჯრედის მოცულობა 0,2 მლ-ს.

ფტ-ს საკვლევ ფორმად გამოვიყენეთ სენსიტიური, როგორც უფრო მგრძნობიარე მამოდიფიცირებელი აგენტების მოქმედებისადმი, საკვლევ ბიორეგულატორად გამოვიყენეთ ეპიტალონი, რომელმაც უფრო მაღალი მამოდიფიცირებელი ეფექტი გამოავლინა ცდებში.

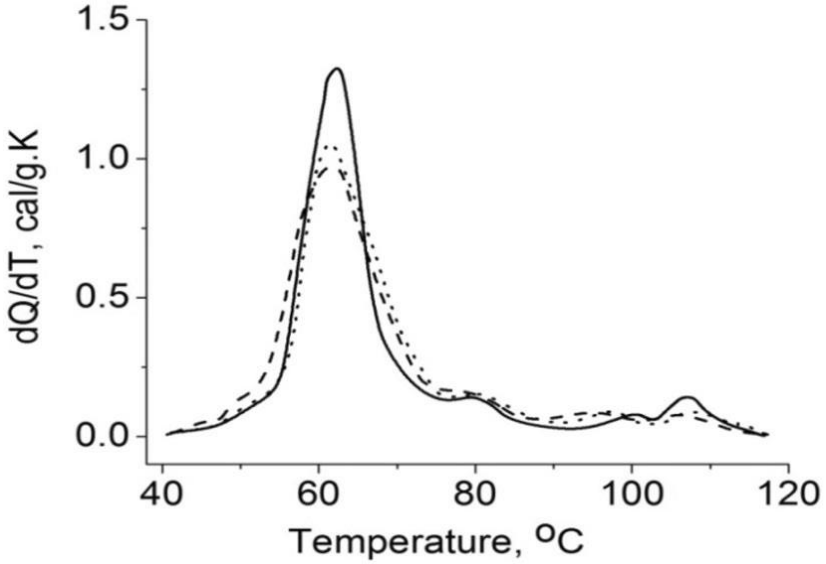
ჩატარებულია კულტურალური ლიმფოციტების სუსპენზიის ლღობის დინამიკის შესწავლა 3 ჯგუფში: ჯანმრთელი ინდივიდების ლიმფოციტების სუსპენზიაში, ფტ-თი დაავადებულთა ინტაქტური ლიმფოციტებისა და ფტ-თი დაავადებული ინდივიდების ლიმფოციტების ეპიტალონით დამუშავებულ სუსპენზიებში.

როგორც სურ.4.1.1-ზე წარმოდგენილი თბოშთანთქმის მრუდებიდან ჩანს, ფტ-თი დაავადებულთა კულტურალური ლიმფოციტების ინტაქტური სუსპენზია ლღვებოდა ტემპერატურის ფართო ინტერვალში: 40-118^{0}C. ნაჩვენებია, რომ ქრომატინის ლღობა ხდება 95-118^{0}C ტემპერატურულ ინტერვალში. ფტ-თი დაავადებულთა ჯგუფში მაღალტემპერატურული დომენის ინტენსივობა (Tm = 106 ± 1^{0}C) - Cp - = dQ / dTcal / gK შეადგენდა 0,12 და მცირდებოდა, დაახლოებით 25%-ით ჯანმრთელ ინდივიდებთან შედარებით. დაკარგული სითბო დაემატა დაბალტემპერატურულ დომენს (Tm = 95 ± 1^{0}C)

ლიტერატურული მონაცემების თანახმად (Cardellini et al., 2000; Monaselidze et al., 2006) მაღალტემპერატურული ქრომატინული დომენი ასახავს ჰეტეროქრომატინის (30 ნმ-იანი ფიბრილა) ლღობას, დაბალტემპერატურული ზონა კი აქტიურ ტრანსკრიპირებად ქრომატინის ლღობას. ამრიგად, თბოშთანთქმის პიკის ინტენსივობის შემცირება (106±1°C ტემპარატურაზე) (ქრომატინის მაღალტემპერატურული დომენი) და თბოშთანთქმის დაბალტემპერატურული პიკის ზრდა მისი ერთდროული შემცირებით 3^{0}C, რასაც ადგილი აქვს პირველადი ფტ-ს შემთხვევაში (წყვეტილი ხაზი) ნორმასთან შედარებით, გვიჩვენებს, რომ კონდენსირებული ჰეტეროქრომატინის ნაწილი დეკონდენსირდება იმ ავადმყოფთა კულტურალურ ლიმფოციტებში, რომლებიც ეპიტალონის ზემოქმედებას დაექვემდებარნენ და ლღვება აქტიურ ქრომატინთან ერთად.

უნდა აღინიშნოს, აგრეთვე, რომ ფტ-თი დაავადებულთა ლიმფოციტების ეპიტალონით დამუშავება იწვევს სითბოს შთანთქმის დაბალტემპერატურული პიკების თანდათანობით გადაადგილებას ჯანმრთელი ნორმისაკენ (ჯანმრთელ ინდივიდთა მრუდებისაკენ), რაც ნიშნავს, რომ ტრანსკრიპციულად აქტიური ქრომატინის კონფიგურაცია თანდათანობით უახლოვდება ნორმას.

ამრიგად, შეიძლება დავასკვნათ, რომ: 1. ფტ-თი პირველადად დაავადებულებში შეინიშნება სითბოს გადანაწილება ქრომატინის კონდენსაციისა და დეკონდენსაციის პიკებს შორის, რასაც ადგილი არა აქვს ჯანმრთელ ინდივიდთა ქრომატინის ლღობის დროს; 2. ეპიტალონი იწვევს ფტ-თი დაავადებულთა ქრომატინის თბოშთანთქმის პიკების თანდათანობით გადაადგილებას ჯანმრთელი ინდივიდების ქრომატინის პიკებისაკენ.



სურ.4.1.1 ლიმფოციტების სითბოს შთანთქმის მიკროკალორიმეტრიული მრუდები (24 სთ კულტურა): ჯანმრთელი პირები (უწყვეტი მრუდი), პაციენტები აქტიური პირველადი ფტ (წყვეტილი მრუდი) და პაციენტი ეპიტალონის დამატების შემდეგ (წერტილიანი მრუდი)

შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლებისა და სომატური რეკომბინაციის სიხშირის შეფასება ფტ-თი დაავადებულთა ინტაქტურ ლიმფოციტებში და ქრომატინზე ბიორეგულატორებით ხელოვნური ზემოქმედების პირობებში.

ფტ-ს დროს ადგილი აქვს ქრომატინის მოდიფიკაციას, რომელიც რიგ შემთხვევებში ექვემდებარება კორექციას ბიორეგულატორების ზემოქმედებით. ფტ-ს რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმების შედარებითი შესწავლის ფონზე ინტერესს იწვევს გენომში ქრომატინის მოდიფიკაციის ლოკუსების განსაზღვრა, რის შესაძლებლობასაც შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლების ტესტი იძლევა, ტესტი მნიშვნელოვანია იმ თვალსაზრისითაც, რომ მისი გამოყენებით შესაძლებელია უჯრედებში მიმდინარე სომატური რეკომბინაციის დონის შეფასებაც.

როგორც უკვე აღინიშნა, შქგ წარმოადგენს ერთი ქრომოსომის შვილეულ ქრომატიდებს შორის იზოლოკუსურ გაცვლებს, რასაც თან სდევს დუპლექსური სტრუქტურის აუცილებელი აღდგენა. როგორც ცნობილია, შქგ-ს ფორმირება დაკავშირებულია უჯრედებში მიმდინარე ისეთ კარდინალურ პროცესებთან, როგორიცაა რეპლიკაცია, რეპარაცია და რეკომბინაცია (Prokofyeva-Belgovskaya,1986). შქგ გენომის მახასიათებელ ერთ-ერთ მნიშვნელოვან პარამეტრს წარმოადგენს, რომელიც მგრძნობიარედ და სპეციფიკურად რეაგირებს ორგანიზმზე განსხვავებული ბუნების გარემოს ფაქტორთა ზეგავლენაზე, გარდა ამისა, მისი მაჩვენებელი მნიშვნელოვან ცვალებადობას ავლენს სხვადასხვა პათოლოგიების შემთხვევაში. აქედან გამომდინარე შქგ-ს ტესტი გამოყენებას ჰპოვებს: ორგანიზმზე გარემოს ფაქტორთა დამაზიანებელი მოქმედების დეტექციისა და შეფასებისას (თუმცა მისი გაიგივება ქრომოსომულ აბერაციებთან მიუღებელია, მათი ფორმირების ბუნების განსხვავებულობის გამო); ეს ტესტი გამოიყენება დაავადებების შემთხვევაში, რადგან შქგ-ს მაჩვენებელი შესაძლოა ამა თუ იმ პათოლოგიისათვის ერთ-ერთ სპეციფიკურ მარკერს

წარმოადგენდეს. შქგ-ს სიხშირე უშუალოდ ასახავს უჯრედებში მიმდინარე სომატური რეკომბინაციის დონეს და მისი ცვალებადობის შეფასების შესაძლებლობას იძლევა. შქგ-ს ტესტი მნიშვნელოვანია იმ თვალსაზრისითაც, რომ იძლევა გენომის ელემენტებზე-ქრომოსომებზე ქრომატინის მოდიფიკაციური ცვლილებების ლოკალიზაციის განსაზღვრის შესაძლებლობას.

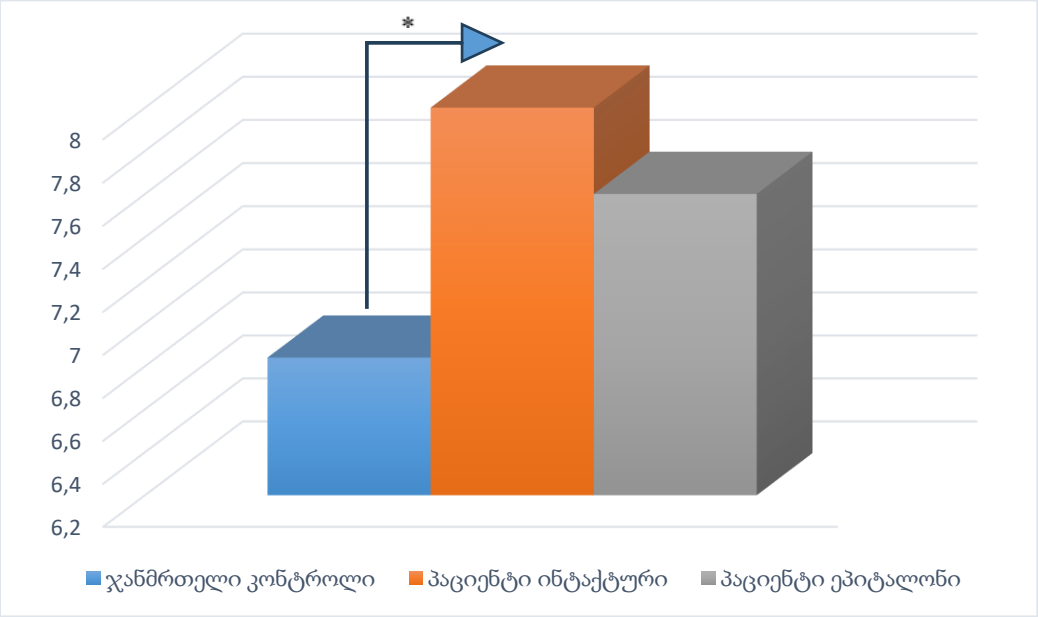
ჩვენ შევისწავლეთ შქგ-ს ვარიაბელობა როგორც ჯანმრთელ ინდივიდთა, ისე ფტ-თი პირველადად დაავადებულების ლიმფოციტების როგორც ინტაქტურ კულტურებში, ისე მათზე ბიორეგულატორ ეპიტალონის ზემოქმედებისას (ბიორეგულატორის შერჩევა განაპირობა მის მიერ გამოვლენილმა სპეციფიკურმა ეფექტურობამ ჩვენს მიერ შესწავლილი სხვა ქრომოსომული პარამეტრების კორექციასთან მიმართებაში). განსაზღვრულ იქნა ქრომატიდთაშორისი გაცვლების სიხშირე, განაწილება ქრომოსომული ჯგუფების მიხედვით და გენომის ცალკეულ ელემენტებზე (ქრომოსომებზე) მათი ლოკალიზაცია-მედიალური, ცენტრომერული და ტელომერული გაცვლები.

ანალიზის შედეგები შქგ-ს სიხშირის მიხედვით ფტ-თი დაავადებულთა ინტაქტურ კულტურებში და ჯანმრთელ ინდივიდთა საკონტროლო ინტაქტურ კულტურებში ასახულია ცხრ.4.1.1 და სურ.4.1.2 ფტ-თი დაავადებულთა უჯრედებში რეგისტრირებული შქგ-ს საშუალო სიხშირემ შეადგინა 8,00±0,1 გაცვლა/უჯრედზე; საკონტროლო ჯგუფში - 6,84±0,4 გაცვლა/უჯრედზე, ანუ დაავადებულებში შეინიშნებოდა შქგ-ს მაჩვენებლის სტატისტიკურად სარწმუნო ზრდა ($P<0,05$). ეპიტალონის გავლენით დაავადებულთა კულტურებში შეინიშნებოდა მაჩვენებლის კლების ტენდენცია ინტაქტურ კულტურებთან შედარებით - 7,6±0,5 გაცვლა/უჯრედზე.

რაც შეეხება შქგ-ს განაწილებას ქრომოსომათა ჯგუფების მიხედვით, ამ შემთხვევაშიც, ისევე როგორც კონტროლში, გაცვლები, ძირითადად, აღირიცხებოდა დიდი ზომის ქრომოსომებზე (ცხრ. 4.1.2), რაც სავსებით შეესაბამება ლიტერატურულ მონაცემებს ჯანმრთელი ინდივიდებისათვის (Македонов и Евграфов, 1983; Lazutka, 1990; Kadotani and Watanabe, 1999). შქგ მედიალურ უბნებში A_1, B, C, E, F და G ჯგუფის ქრომოსომებისათვის მნიშვნელოვნად იყო შემცირებული და ტელომერულ უბნებში მნიშვნელოვნად გაიზარდა A_1, A_2, B, C, D, F და G ჯგუფის ქრომოსომებში საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით. არასარწმუნო განსხვავება ($p>0.05$) დაფიქსირდა შქგ ცენტრომერულ უბნებში შემდეგი ჯგუფების ქრომოსომებში A_1, A_3, B, D, E და G. გამონაკლისი იყო A_2 და C ჯგუფი, სადაც ცენტრომერულ უბნებში შქგ იყო გაზრდილი და F ჯგ ქრომოსომებში იყო შემცირებული საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებელთან შედარებით. კულტურებზე ეპიტალონით ზემოქმედებას გაცვლების განაწილების სურათი მნიშვნელოვნად არ შეუცვლია. A-G ჯგუფების ქრომოსომების ცეტრომერულ უბნებში, A_2, A_3, B, D ჯგუფების ქრომოსომების მედიალურ უბნებში და A_1,A_3, B, D, E ჯგუფის ქრომოსომების ტელომერულ უბნებში სტატისტიკურად არ განსხვავდებოდა საკონტროლო ჯგუფის მონაცემებისაგან. გამონაკლისს წარმოადგენდა A_1, C, E ჯგუფის ქრომოსომები სადაც მედიალურ უბნებში შემცირდა და G ჯგუფის ქრომოსომებში გაიზარდა. A_2, C და G ჯგუფის ქრომოსომებში გაიზარდა ტელომერულ უბნებში (სურ. 4.1.3; 4.1.4; 4.1.5).

ცხრ.4.1.1 ეპიტალონის გავლენა შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლების სიხშირეზე ტუბერკულოზით დაავადებულთა უჯრედებში

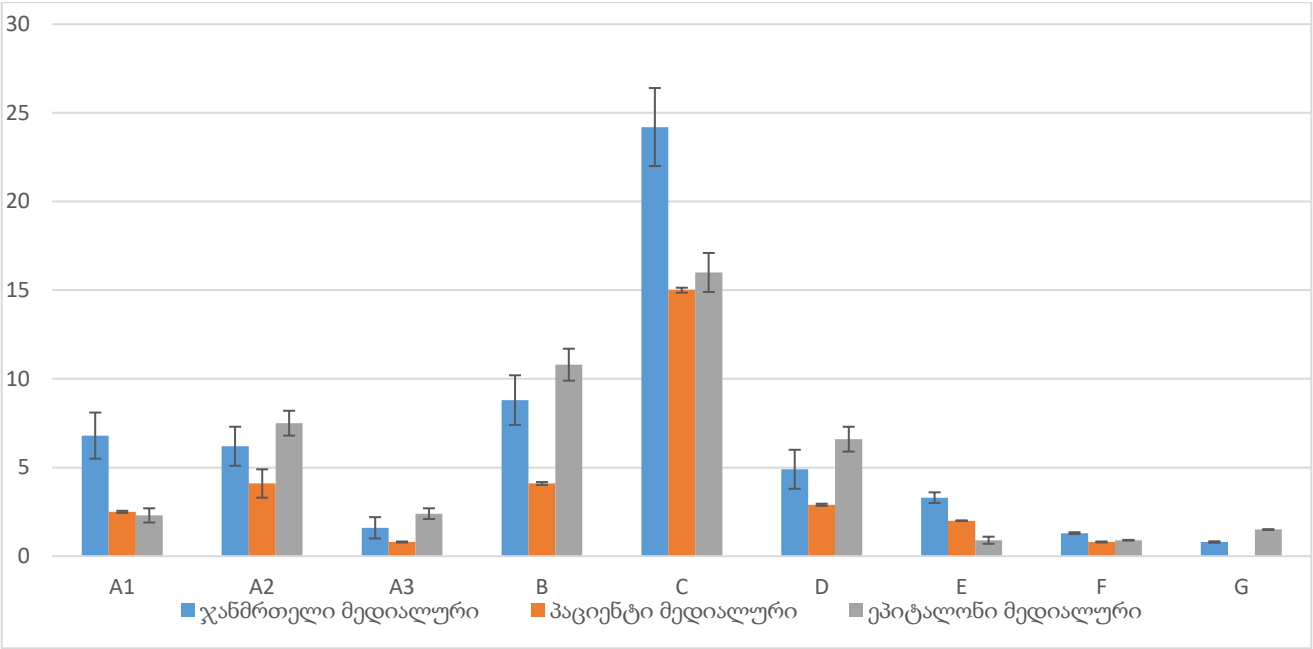
ცდის პირობები	შქგ ერთ უჯრედზე ±m	შქგ-ს ტიპები (% გაცვლების საერთო რაოდენობიდან)		
		მედია-ლური	ცენტრო-მერული	ტელო-მერული
კონტროლი ინტაქტური	6.84±0.4	57,9±0.7	23,1±0,6	19±0,5
ფტ-ით დაავადებული პაციენტი. ინტაქტური	8,0±0.1	32,6±0.2	23,5±0,2	41,9±0,2
ფტ-თი დაავადებული პაციენტი ეპიტალონით მოქმედებისას	7.60 ±0.5	49,9±0.2	23,7±0,2	26,4±0,1



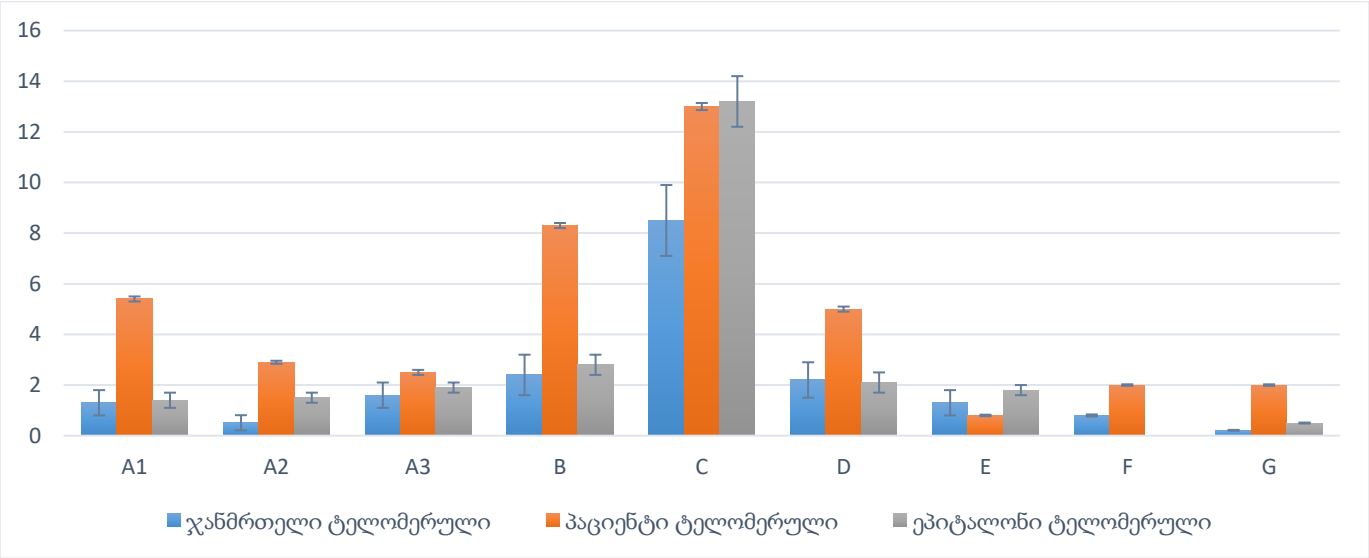
სურ. 4.1.2 ეპიტალონის გავლენა შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლების სიხშირეზე ტუბერკულოზით დაავადებულთა უჯრედებში; * $p<0.05$

ცხრ.4.1.2 ეპიტალონის გავლენა შქგ-ს განაწილებაზე ქრომოსომული ჯგუფების მიხედვით ტუბერკულოზით დაავადებულებში(M-მედიალური; T-ტელომერული; C-ცენტრომერული რაიონები)

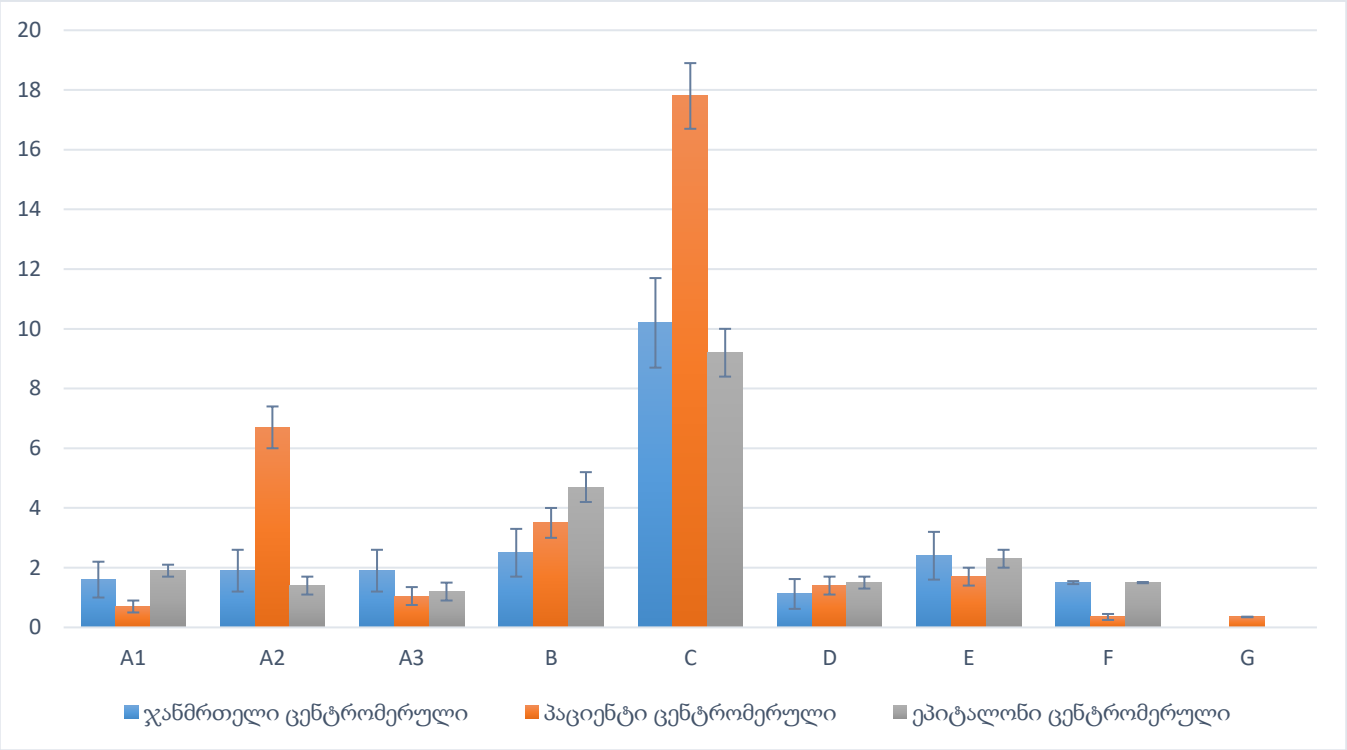
ქრომოსომათა ჯგუფები	კონტროლი ინტაქტური			პაციენტი ინტაქტური			პაციენტი ეპიტალონი		
	M	T	C	M	T	C	M	T	C
A1	6,8±1,3	1,3±0,5	1,6±0,6	2,5±0,06	5,4±0,1	0,7±0,2	2,3±0,4	1,4±0,3	1,9±0,2
A2	6,2±1,1	0,51±0,3	1,9±0,7	4,1±0,8	2,9±0,06	6,7±0,7	7,5±0,7	1,5±0,2	1,4±0,3
A3	1,6±0,6	1,6±0,5	1,9±0,7	0,8±0,03	2,5±0,1	1,05±0,3	2,4±0,3	1,9±0,2	1,2±0,3
B	8,8±1,4	2,4±0,8	2,5±0,8	4,1±0,08	8,3±0,1	3,5±0,5	10,8±0,9	2,8±0,4	4,7±0,5
C	24,2±2,2	8,5±1,4	10,2±1,5	15,0±0,14	13±0,14	17,8±1,1	16,0±1,1	13,2±1	9,2±0,8
D	4,9±1,1	2,2±0,7	1,12±0,5	2,9±0,06	5,0±0,1	1,4±0,3	6,6±0,7	2,1±0,4	1,5±0,2
E	3,3±0,3	1,3±0,5	2,4±0,8	2,0±0,02	0,8±0,03	1,7±0,3	0,9±0,2	1,8±0,2	2,3±0,3
F	1,3±0,05	0,8±0,04	1,5±0,05	0,8±0,03	2,0±0,03	0,35±0,1	0,9±0,02	-	1,5±0,02
G	0,8±0,04	0,21±0,02	-	-	2,0±0,03	0,35±0,01	1,5±0,02	0,5±0,02	-



სურ. 4.1.3 ეპიტალონის გავლენა შქგ-ს განაწილებაზე მედიალურ უბნებში ქრომოსომული ჯგუფების მიხედვით ტუბერკულოზით დაავადებულებში



სურ 4.1.4 ეპიტალონის გავლენა შქგ-ს განაწილებაზე ტელომერულ უბნებში ქრომოსომული ჯგუფების მიხედვით ტუბერკულოზით დაავადებულებში



სურ. 4.1.5 ეპიტალონის გავლენა შქგ-ს განაწილებაზე ცენტრომერულ უბნებში ქრომოსომული ჯგუფების მიხედვით ტუბერკულოზით დაავადებულებში

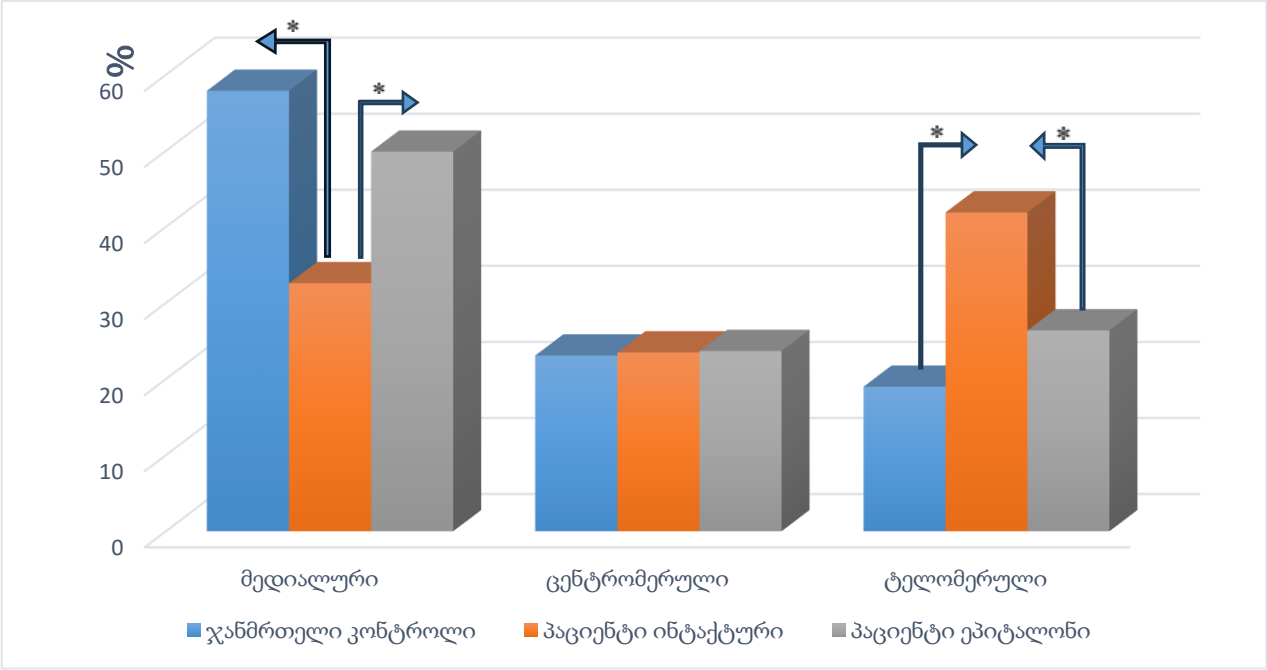
საინტერესო აღმოჩნდა ქრომოსომებში გაცვლების ლოკალიზაციის შესწავლისას მიღებული მონაცემები. როგორც ლიტერატურული წყაროები მიუთითებენ, გაცვლები, ძირითადად (დაახლოებით, 90% შემთხვევაში), აღირიცხება ქრომოსომათა მედიალურ უბნებში (Македонов и Евграфов, 1983; Lazutka, 1990; Kadotani and Watanabe, 1999).

ფტ-თი დაავადებულთა ინტაქტური კულტურების ქრომოსომებში გაცვლების ლოკალიზაციის სურათი მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა ჯანმრთელ ინდივიდთა საკონტროლო მაჩვენებლებისაგან. კერძოდ, სტატისტიკურად სარწმუნოდ იყო შემცირებული მედიალური გაცვლების სიხშირე (32,6±0,2 გაცვლა/უჯრედზე; კონტროლში - 57,9±0,1, P<0,001); მაღალი სარწმუნოობით გაიზარდა ტელომერული გაცვლების სიხშირე (41,9±0,2 გაცვ./უჯრედზე; კონტროლში - 19,5±0,2). ფტ-თი დაავადებულებში ცენტრომერული გაცვლების სიხშირის მაჩვენებელი (23,5±0,2) არ განსხვავდებოდა საკონტროლო დონისაგან (23,1±0,6). (ცხრ.4.1.1;სურ.4.1.6). ეპიტალონის ზეგავლენით, გაცვლების რაოდენობა მედიალურ(49,9±0,2) და ტელომერულ (26,4±0,1) უბნებში თითქმის შეესაბამებოდა საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებელს.

არსებობს ლიტერატურაში გამოთქმული თვალსაზრისი, რომელიც შქგ-ს მოიაზრებს როგორც ქრომოსომათა სტრუქტურული ცვლილებების ერთერთ ტიპს, თუმცა, ისიც აღინიშნება, რომ ქრომოსომული აბერაციებისა და შქგ-ს მექანიზმების შედარება მკაცრი გაგებით, გამართლებული არ არის, რადგან აბერაციები რამდენიმე, მექანიზმებით განსხვავებულ ტიპად იყოფა, და შქგ-ს ფორმირება გაცილებით უფრო მეტად განსხვავდება სხვადასხვა ტიპის აბერაციებისაგან, ვიდრე ამ აბერაციებისა – ერთმანეთისაგან. გარდა ამისა, სხვაობა შქგ-სა და ქრომოსომული აბერაციების მექანიზმებს შორის ვლინდება იმაშიც, რომ

გაცვლების ფორმირებისათვის კრიტიკულია S-ფაზის დასაწყისი, მნიშვნელობა აქვს დნმ-ს რეპლიკაციის შეყოვნებას, მაშინ, როდესაც აბერაციების ფორმირება ხდება უჯრედულ ციკლის ნებისმიერ ფაზაზე ზემოქმედებისას (Shafer, 1982).

დადასტურებულია ის ფაქტი, რომ შქგ-ს წარმოქმნა დაკავშირებულია ისეთ ფუნდამენტურ გენეტიკურ პროცესებთან, როგორიცაა რეპლიკაცია, რეპარაცია, რეკომბინაცია. დადგენილია, რომ შვილეულ ქრომატიდთა შორის გაცვლები უჯრედებში მიმდინარე სომატური რეკომბინაციის გამოვლენაა. უჯრედებში მიმდინარე ყველა ეს პროცესი მნიშვნელოვნად არის დამოკიდებული გენომის - ქრომატინის მდგომარეობაზე (Lezhava, 2006). აქედან გამომდინარე, შქგ-ს მაჩვენებლის ცვალებადობა ნებისმიერი პათოლოგიის, და მათ შორის ტუბერკულოზის შემთხვევაშიც, მაღალი ხარისხით უნდა მიუთითებდეს ქრომატინის მოდიფიკაციაზე, ერთი მხრივ, და სომატური რეკომბინაციის სიხშირის ცვალებადობაზეც. ამდენად, გამართლებული იქნება ვივარაუდოთ, რომ ტუბერკულოზით დაავადებულებში ქრომატინის მოდიფიკაციის ფონზე ადგილი აქვს სომატური რეკომბინაციის დონის მატებას. ამის დადასტურებაა ჩვენს კვლევებში გამოვლენილი ცვლილებები გაცვლების ლოკალიზაციაში ტუბერკულოზის დროს. ლიტერატურული მონაცემებით გაცვლები უპირატესად აღირიცხება ეუქრომატულ უბნებში (Ebert et al., 1993; Lezhava et al., 2006). შესაბამისად, ჩვენი მონაცემები გაცვლების ლოკალიზაციასთან დაკავშირებით უნდა მიუთითებდეს იმაზე, რომ ტუბერკულოზით დაავადებულთა უჯრედებისთვის დამახასიათებელია ქრომატინის სპეციფიკური მოდიფიკაცია, რასაც მდგრადი ხასიათი აქვს.



სურ.4.1.6 ეპიტალონის გავლენა შქგ-ს ტიპების სიხშირეზე ტუბერკულოზით დაავადებულებში. * $p<0.001$

4.2.ფტ-ით დაავადებულ პაციენტებში აკროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაციების სიხშირისა და რიბოსომული ცისტრონების აქტივობის შეფასება ბიორეგულატორებით ზემოქმედებისას

როგორც უკვე აღინიშნა თანამგზავრულ ასოციაციებში მონაწილე აკროცენტრულ ქრომოსომებში ლოკალიზებული რიბოსომული რნმ-ის მასინთეზირებელი გენები ტრანსკრიპციულად აქტიურნი არიან. შესაბამისად, მიტოზში დაფიქსირებული თანამგზავრული ასოციაციები უშუალოდ მის წინამორბედ ინტერფაზაში ბირთვის სტრუქტურისა და ფუნქციის მაღალსპეციფიკურ ინდიკატორს წარმოადგენენ. ნაჩვენებია, რომ აკროცენტრიკთა ასოციაციებში შეიძლება მონაწილეობდეს ორი ან მეტი, უპირატესად, არაჰომოლოგიური ქრომოსომების ქრომატიდები. ნაჩვენებია ისიც, რომ რიბოსომული რნმ-ის ტრანსკრიპციული აქტივობა იცვლება როგორც გარემოს სხვადასხვა ფაქტორთა ზემოქმედებით, ისე გარკვეული პათოლოგიების დროსაც.

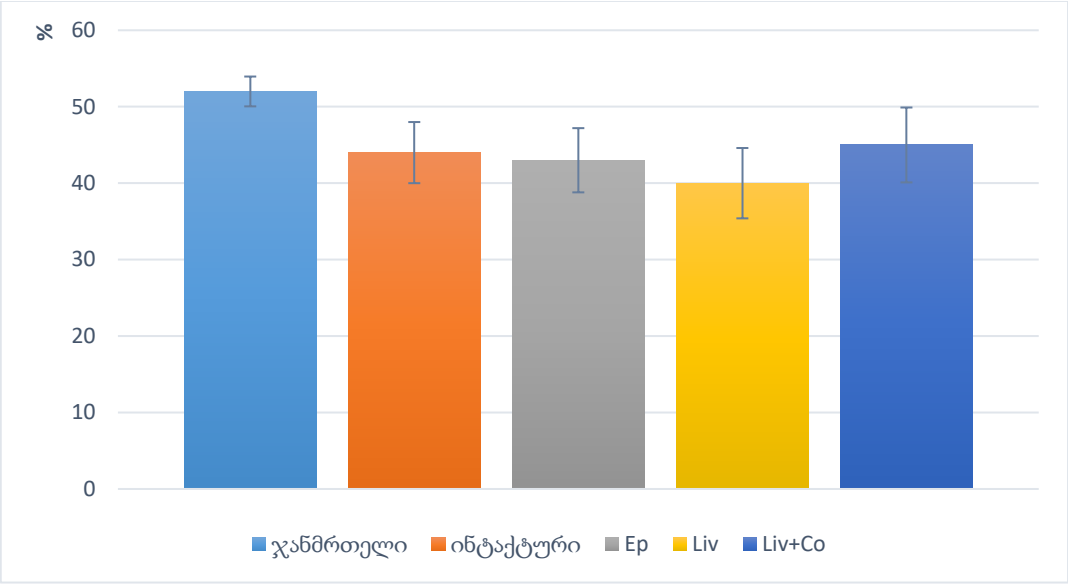
გენომის ეს ფუნქციური მახასიათებელი ძალიან ინფორმაციულია იმდენად, რამდენადაც რიბოსომული რნმ-ის მაკოდირებელი გენების ექსპრესიის დონეზე მიუთითებს და ასოცირებულია ცილამასინთეზირებელი აპარატის აქტივობასთან და გარდა ამისა შესაძლებლობას იძლევა ქრომატინის მდგომარეობის ცვალებადობისა და შესაბამისად ეპიგენეტიკური რეგულაციის როლის განსაზღვრისა, როგორც ზოგადად ფილტვის ტუბერკულოზის, ისე მისი რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმების დროს.

ჩვენს მიერ აღრიცხული ქრომატიდული ასოციაციების რაოდენობრივი მაჩვენებლები ჯანმრთელ ინდივიდებსა და ფტ-ს რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმებით დაავადებულებში ქრომატინის მოდიფიკატორებით ზემოქმედებისას ასახულია ცხრ.4.2.1,

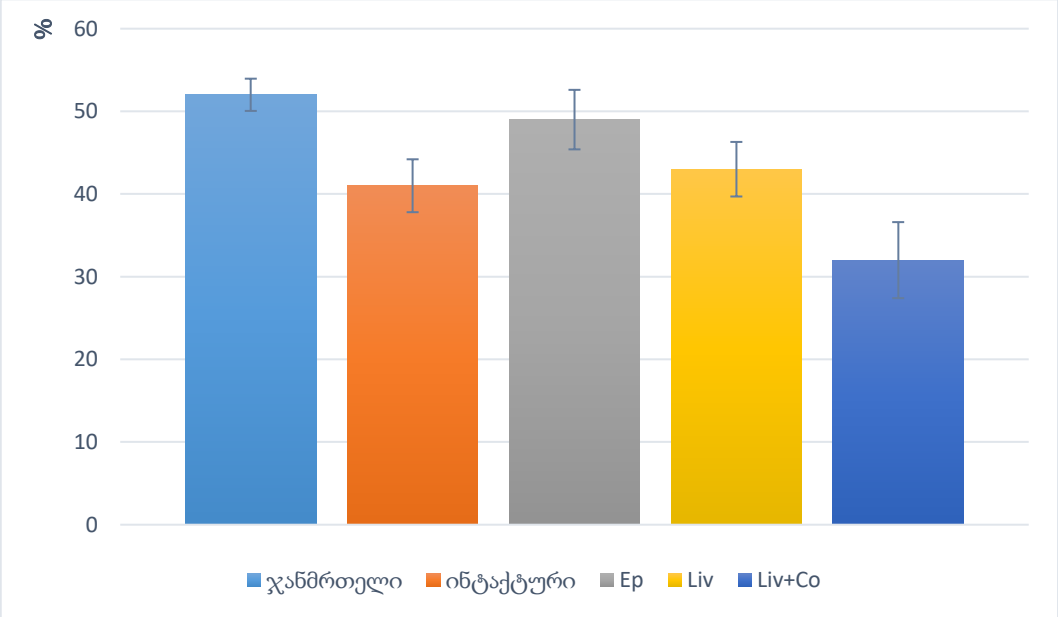
სურ.4.2.1;4.2.2;4.2.3;4.2.4, გამოთვლილია, როგორც ასოციაციების შემცველ უჯრედთა სიხშირეები გაანალიზებულ უჯრედებთან მიმართებაში, ისე ასოციაციათა სიხშირე ერთ უჯრედზე. როგორც წარმოდგენილი მონაცემებიდან ჩანს, ასოციაციათა შემცველი უჯრედების სიხშირის მაჩვენებლები ფტ-ს ორივე ფორმის შემთხვევაში ერთგვარ კლებას ავლენენ ჯანმრთელ ინდივიდთა საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით. რაც მაინც სტატისტიკური სარწმუნოების ფარგლებშია. საინტერესოა, რომ ლიტერატურული მონაცემები ამ მიმართებაში წინააღმდეგობრივია. ხშირ შემთხვევაში, უპირატესად ონკოლოგიური დაავადებებისას, აღინიშნება ამ მაჩვენებლის ზრდა, რაც უჯრედთა პროლიფერაციული აქტივობით არის ახსნილი. თუმცა ხაზგასმულია ისიც, რომ ასოციაციური მაჩვენებლებისათვის დამახასიათებელია მნიშვნელოვანი პოპულაციათაშორისი ვარიაბელობა.

ცხრ.4.2.1 აკროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაციების შემცველი უჯრედების სიხშირე (% უჯრედების საერთო რაოდენობიდან) და ქრომატიდულ ასოციაციათა რ-ბა ერთ უჯრედზე ფილტვის ტუბერკულოზის სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმების დროს

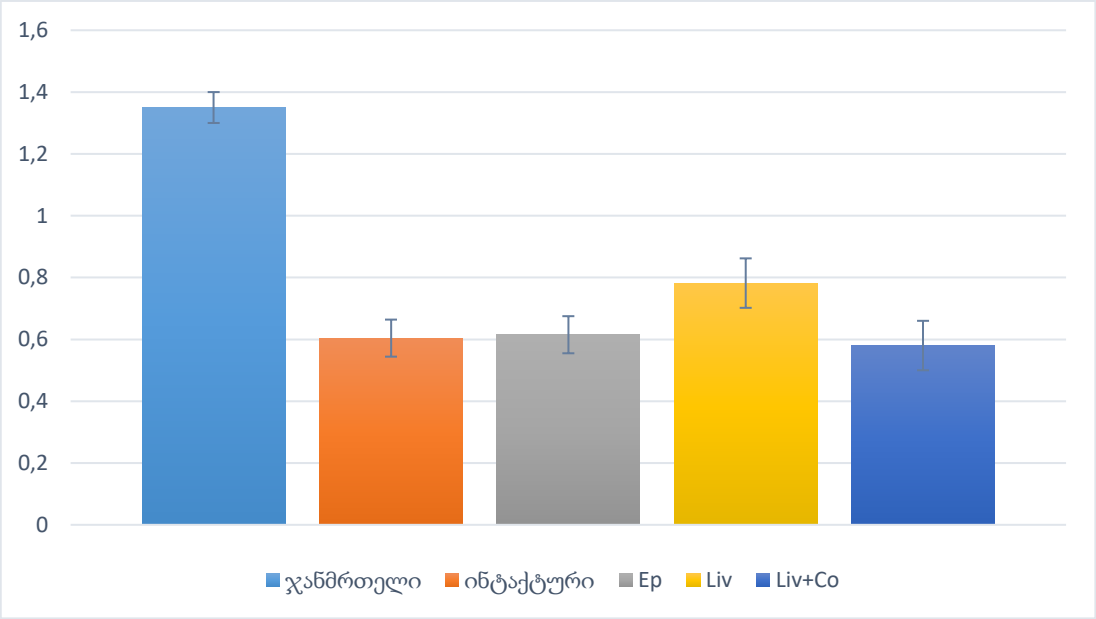
ცდის პირობა	ჯანმრთელი კონტროლი	სენსიტიური ინტაქტური	სენსიტიური Ep	სენსიტიური Liv	სენსიტიური Liv+Co	რეზისტენტული ინტაქტური	რეზისტენტული Ep	რეზისტენტული Liv	რეზისტენტული Liv+Co
ასოც. შემცველი უჯრედების რ-ბა, (%±m)	52±1,95	44±4,0	43±4,2	40±4,6	45±4,9	41±3.2	49±3.6	43±3,3	32±4,6
ქრომატიდულ ასოციაციათა რ-ბა ერთ უჯრედზე	1,35 +0,05	0,604 ± 0,06	0,615 ±0,06	0,782 ±0,08	0,580 ±0.08	0.605 ± 0,04	0,821 ± 0,06	0,688 ±0,04	0,432 ± 0,06



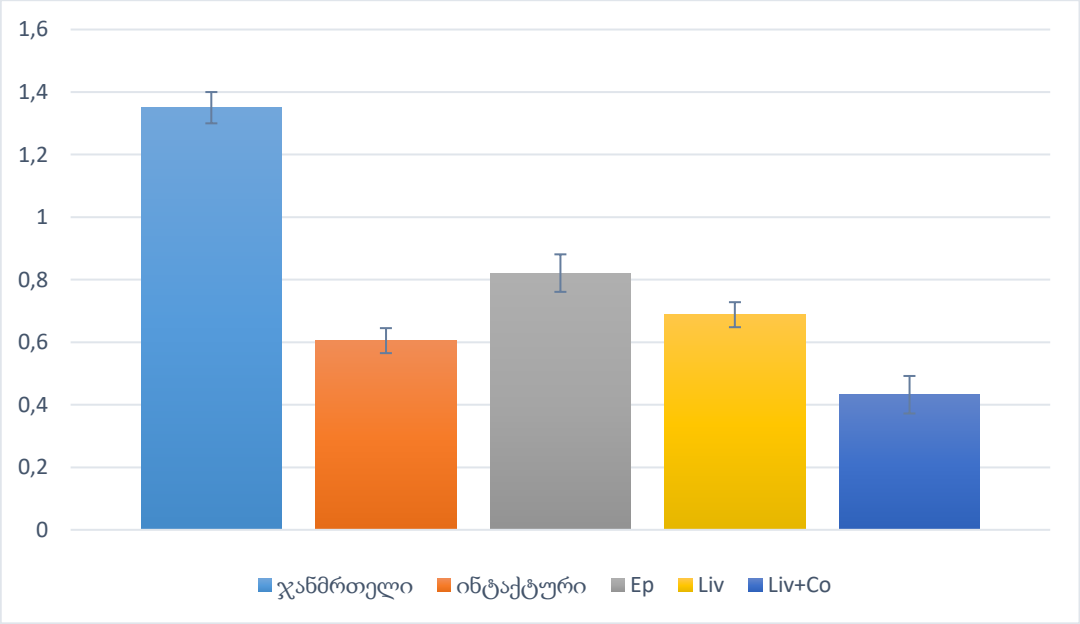
სურ.4.2.1 აკროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაციების შემცველი უჯრედების სიხშირე (% უჯრედების საერთო რაოდენობიდან) ფილტვის ტუბერკულოზის სენსიტიური ფორმის დროს ბიორეგულატორებით ზემოქმედებისას



სურ.4.2.2 აკროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაციების შემცველი უჯრედების სიხშირე (% უჯრედების საერთო რაოდენობიდან) ფილტვის ტუბერკულოზის რეზისტენტული ფორმის დროს ბიორეგულატორებით ზემოქმედებისას



სურ.4.2.3 ქრომატიდულ ასოციაციათა რ-ბა ერთ უჯრედზე ფილტვის ტუბერკულოზის სენსიტიური ფორმის დროს



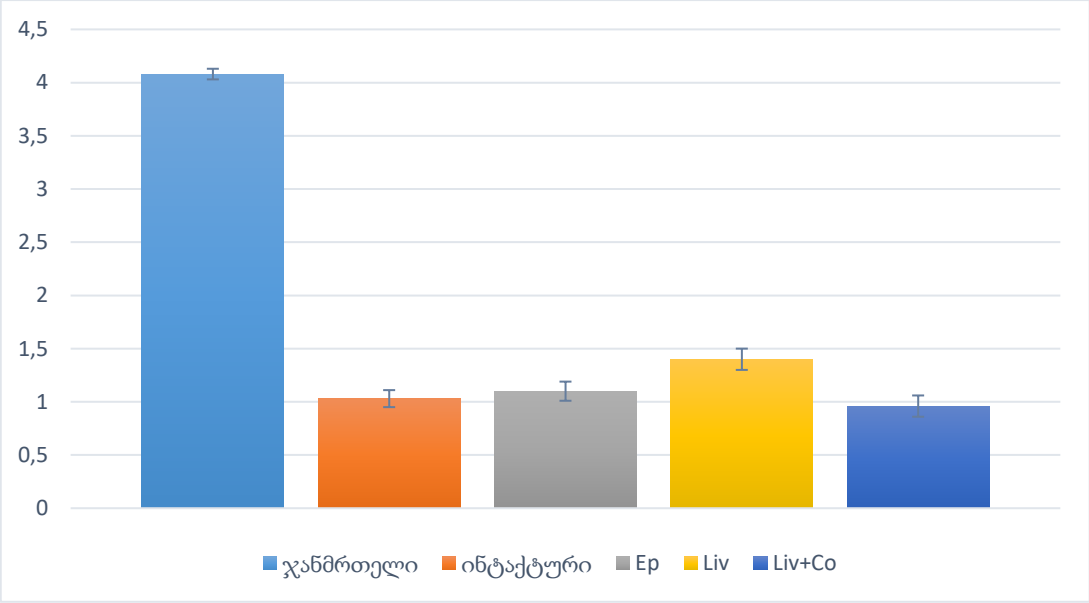
სურ.4.2.4 ქრომატიდულ ასოციაციათა რ-ბა ერთ უჯრედზე ფილტვის ტუბერკულოზის რეზისტენტული ფორმის დროს

რაც შეეხება მოდიფიკატორების გავლენას ფტ-ს რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმების შემთხვევაში შედეგები რამდენადმე განსხვავებულია (სურ.4.2.1;4.2.2). ეპიტალონი რეზისტენტული ფორმისას მაჩვენებელს ზრდის საკონტროლო დონემდე, სენსიტიურის შემთხვევაში ამ ეფექტს არ ავლენს. ლივაგენის განმხოლოებული ზემოქმედების პირობებში ფტ-ს ორივე ფორმის შემთხვევაში ასოციაციების შემცველი უჯრედების პროცენტი ნაკლებია საკონტროლო მაჩვენებელზე. მკვეთრად განსხვავებულია ლივაგენი-კობალტის ერთობლივი მოქმედების ეფექტი რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმებისათვის. პირველ შემთხვევაში, რეზისტენტული ფორმის დროს, ადგილი აქვს მაჩვენებლის მკვეთრ კლებას საკონტროლოსთან მიმართებაში, სენსიტიური ფორმის დროს კი ლივაგენი-კობალტის ერთობლივ მოქმედებას მაჩვენებელი საკონტროლო დონეზე აჰყავს.

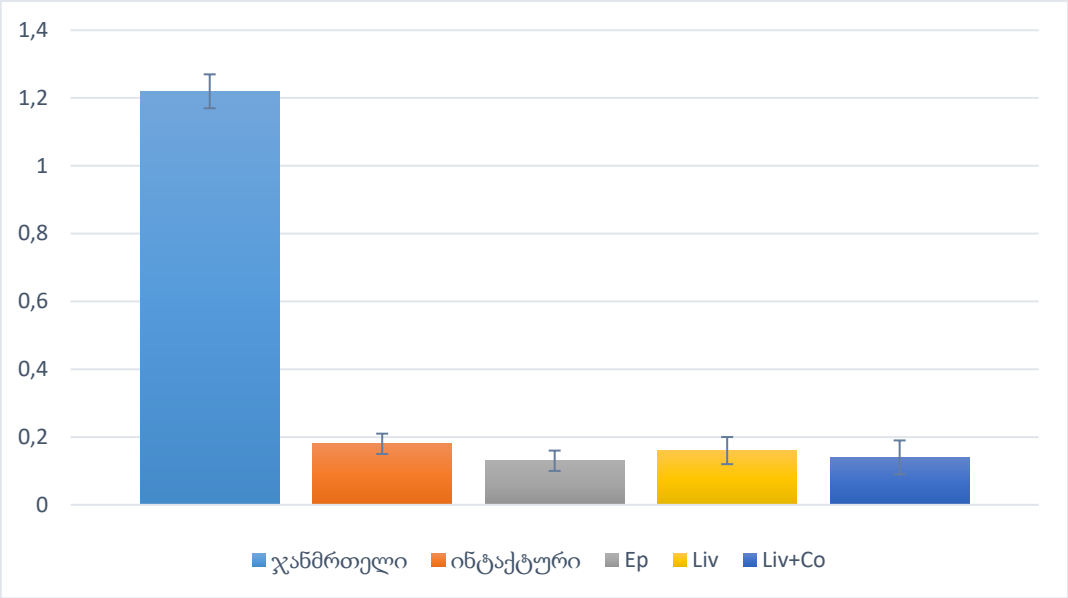
ასოციაციათა შემცველი უჯრედების სიხშირის საფუძველზე ფტ-ს შესწავლილი ფორმებისათვის დაფიქსირებული მაჩვენებლების მიხედვით შესაძლებელია ვივარაუდოთ რომ ფტ-ს დროს აქტიური რიბოსომული გენების რაოდენობა და შესაბამისად, სინთეზური პროცესების აქტივობაც, ძირითადად არ/ან ძალიან მცირედ იცვლება საკონტროლო მაჩვენებლებთან მიმართებაში, მაგრამ აღნიშნული ვარაუდი არ გამართლდა აკროცენტრული ქრომატიდების თანამგზავრული ძაფების მოვერცხვლის ტექნიკის გამოყენების შემთხვევაში, როგორც უკვე აღინიშნა, ვერცხლით იღებება მხოლოდ ის თანამგზავრული ძაფები, რომლებიც აქტიურ რიბოსომულ გენებს შეიცავენ, ამასთან მოვერცხლილი ბლოკების ზომები კორელირებს თანამგზავრული ძაფების სიგრძესა და აქტიური რიბოსომული გენების რაოდენობასთან. აღმოჩნდა, რომ ფტ-ს ორივე შესწავლილი ფორმის დროს დიდი ზომის-2 ქულიანი მოვერცხლილი ბლოკების სიხშირე მნიშვნელოვნად ჩამორჩება ჯანმრთელი საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებელს (ცხრ.4.2.2; სურ.4.2.5-4.2.8). გამოვლენილი კანონზომიერებების საფუძველს უნდა წარმოადგენდეს ის გარემოება, რომ ფტ-ს როგორც რეზისტენტული, ისე სენსიტიური ფორმების შემთხვევაში ადგილი აქვს თანამგზავრული ძაფების ჰეტეროქრომატინიზაციას (Lezhava, 2001; Lezhava, et al 2015.), რის გამოც აქ ლოკალიზებული გენების წვდომადობა ტრანსკრიპციის ფერმენტებისათვის ირღვევა, და შესაბამისად ქვეითდება რიბოსომული გენების ექსპრესია და ცილამასინთეზირებელი აქტივობა უჯრედებში.

ცხრ. 4.2.2 1 ქულიანი და 2 ქულიანი Ag-დადებითი ქრომატიდების რიცხვი ერთ უჯრედზე ფტ სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმის დროს ბიორეგულატორებით ზემოქმედებისას

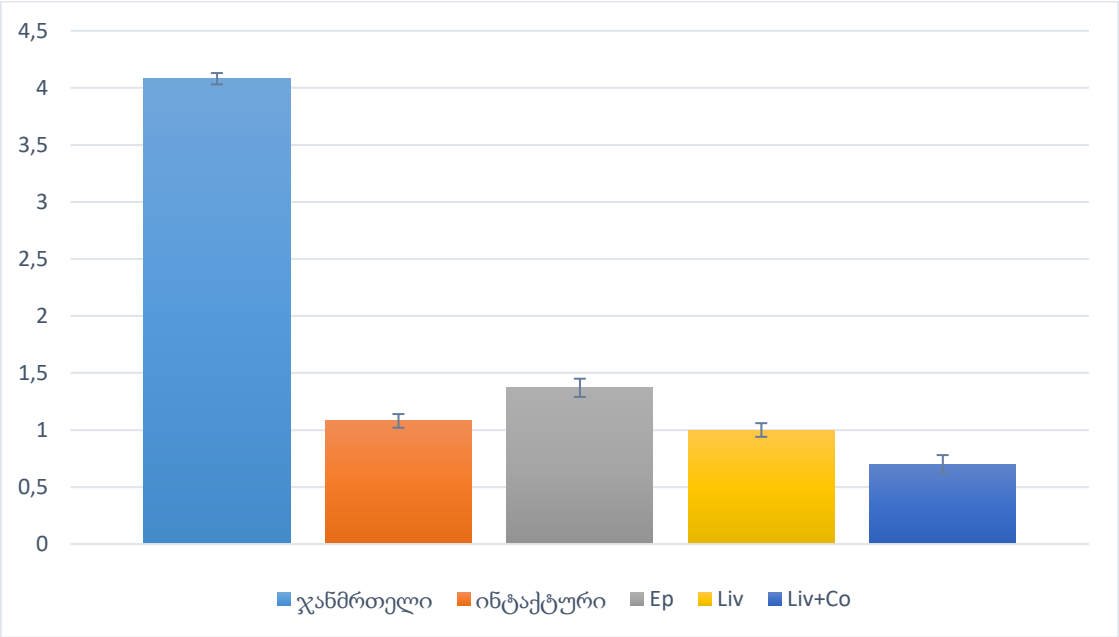
ცდის პირობა	ჯანმრთელი კონტროლი	სენსიტიური ინტაქტური	სენსიტიური Ep	სენსიტიური Liv	სენსიტიური Liv+Co	რეზისტენტული ინტაქტური	რეზისტენტული Ep	რეზისტენტული Liv	რეზისტენტული Liv+Co
1 ქ.Ag- დადებითი ქრომატიდების რიცხვი ერთ უჯრედზე (D+G)	4,08 ±0,05	1,03 ±0,08	1,1 ±0,09	1,4 ±0,11	0,96 ±0,11	1,08 ±0,06	1,37 ±0,08	1,0 ±0,06	0,7 ±0,08
2 ქ.Ag- დადებითი ქრომატიდების რიცხვი ერთ უჯრედზე (D+G)	1,22 ±0,05	0,18 ± 0,03	0,13 ±0,03	0,16 ±0,04	0,14 ±0.05	0,13 ± 0,02	0,18 ± 0,03	0,37 ±0,04	0,07 ± 0,03
Ag- დადებითი ქრომატიდების რიცხვი ერთ უჯრედზე,ჯამური (D+G)	5,3 ±0,11	1,21 ±0,09	1,23 ±0,09	1,56 ±0,11	1,1 ±0,1	1,21 ±0,07	1,55 ±0,08	1,37 ±0,07	0,77 ±0,08



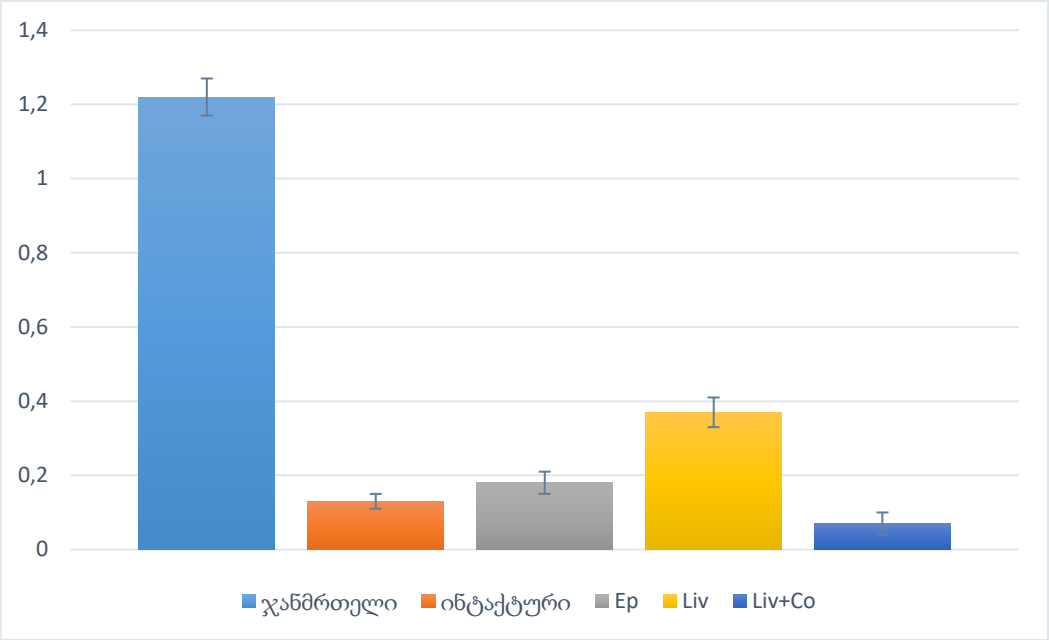
სურ.4.2.5 1ქ Ag დადებითი ქრომატიდების რიცხვი ფილტვის ტუბერკულოზის სენსიტიური ფორმის დროს ბიორეგულატორებით ზემოქმედებისას



სურ.4.2.6 2ქ Ag დადებითი ქრომატიდების რიცხვი ფილტვის ტუბერკულოზის სენსიტიური ფორმის დროს ბიორეგულატორებით ზემოქმედებისას



სურ.4.2.7 1ქ Ag დადებითი ქრომატიდების რიცხვი ფილტვის ტუბერკულოზის რეზისტენტული ფორმის დროს ბიორეგულატორებით ზემოქმედებისას



სურ.4.2.8 2ქ Ag დადებითი ქრომატიდების რიცხვი ფილტვის ტუბერკულოზის რეზისტენტული ფორმის დროს ბიორეგულატორებით ზემოქმედებისას

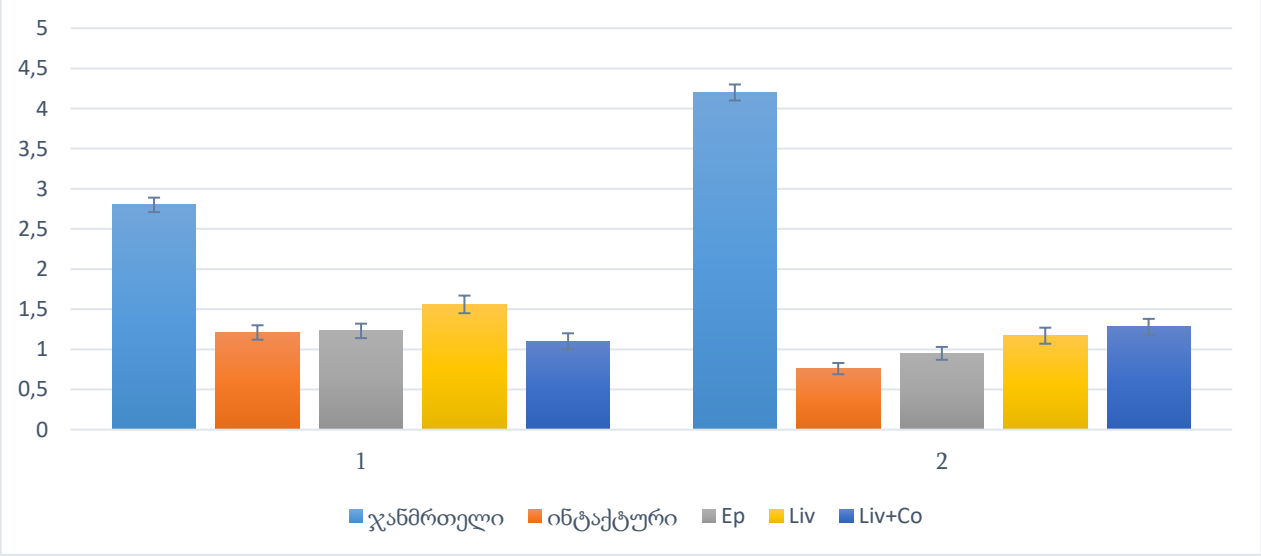
შესწავლილ იქნა, აგრეთვე მამოდიფიცირებელი აგენტების გავლენა ასოციაციაში შესული და არ შესული Ag-დადებითი ქრომატიდების სიხშირეზე.(ცხრ.4.2.3; სურ.4.2.9;4.2.10) ცხრილის მონაცემებიდან ჩანს, რომ ფტ-ს როგორც რეზისტენტული, ისე სენსიტიური ფორმების შემთხვევაში Ag-დადებითი ქრომატიდების სიხშირე ასოციაციებში შესული და შეუსვლელი ქრომოსომებისათვის სარწმუნოდ შემცირებულია კონტროლთან შედარებით. შეინიშნება, აგრეთვე, შესწავლილი აგენტების ეფექტის სხვაობა ფტ-ს ამ ფორმებისათვის ასოციაციებში შესული და შეუსვლელი Ag-დადებითი ქრომატიდების სიხშირეზე. რეზისტენტული ფორმის შემთხვევაში ლივაგენის მოქმედების შედეგად მოიმატა ასოციაციაში არშესული Ag-დადებითი ქრომატიდების სიხშირემ, ხოლო ლივაგენი+კობალტის ერთობლივი მოქმედების შედეგად როგორც არშესული ისე შესული ქრომატიდების რიცხვმა მკვეთრად დაიკლო, ეპიტალონის მოქმედებამ მონაცემები თითქმის არ შეცვალა. რაც შეეხება სენსიტიური ფორმის დროს მიღებულ შედეგებს, ლივაგენის მოქმედებისას გაიზარდა როგორც ასოციაციაში შესული ისე შეუსვლელი Ag-დადებითი ქრომატიდების რიცხვი, უფრო მეტად შესული ქრომატიდების, ლივაგენი+კობალტის ერთობლივი მოქმედებისას მოიმატა ასოციაციაში არშესული Ag-დადებითი ქრომატიდების რიცხვმა, ეპიტალონის მოქმედებისას რამდენადმე მოიმატა არშესული Ag-დადებითი ქრომატიდების რიცხვმა, მიღებული შედეგები, ჩვენი აზრით შეიძლება აიხსნას იმ გენოტიპური სხვაობით, რაც დამახასიათებელია ფტ-ს რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმებისათვის.

ლიტერატურის მონაცემები მოწმობენ, რომ სხვადასხვა ქრომოსომების ასოციაციური აქტივობა შესაძლებელია განსხვავდებოდეს გარკვეული ტიპის ასოციაციების შემთხვევაში(Lezhava, 2001; Lezhava et al., 2015.) ამის გათვალისწინებით ჩვენს მიერ ჩატარებული იქნა, აგრეთვე, ცალკეული ქრომოსომის თითოეული ქრომატიდის თანამგზავრულ ასოციაციაში

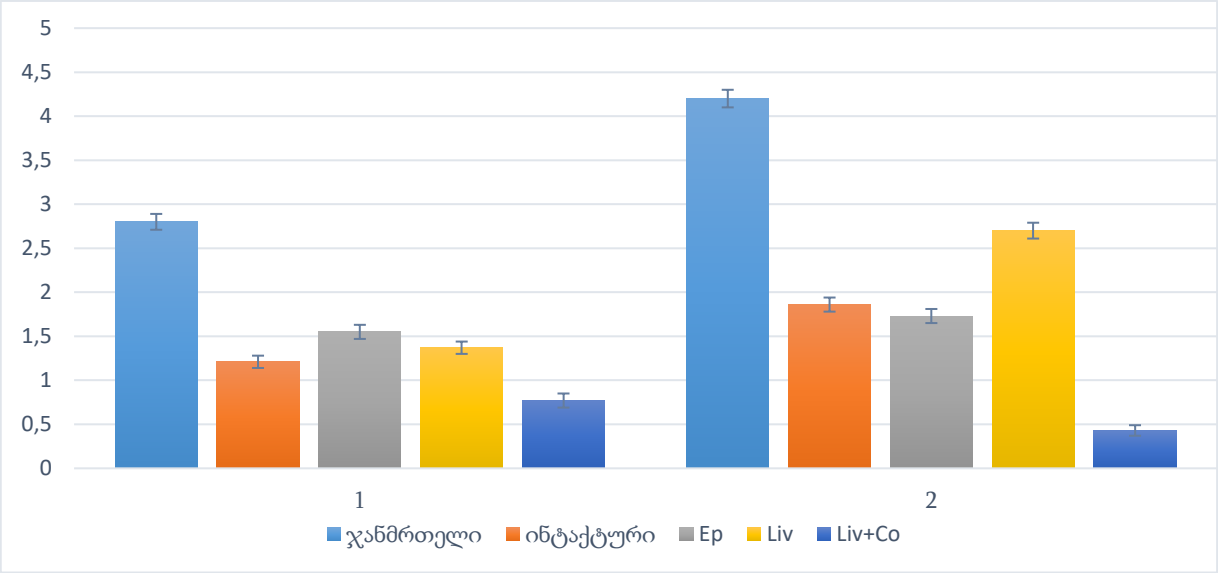
შესვლის ინტენსივობის ანალიზი ფტ-ს რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმების დროს. (ცხრ.4.2.4; სურ.4.2.11; 4.2.12; 4.2.13) თითოეული ქრომოსომისათვის განისაზღვრებოდა სიხშირე ქრომატიდული ასოციაციების საერთო რაოდენობიდან ერთ უჯრედზე.

ცხრ. 4.2.3 ასოციაციაში შესული და არ შესული Ag-დადებითი ქრომატიდების რიცხვი ერთ უჯრედზე ბიორეგულატორებით ზემოქმედებისას

ცდის პირობა	ჯანმრთელი კონტროლი	სენსიტიური ინტაქტური	სენსიტიური Ep	სენსიტიური Liv	სენსიტიური Liv+Co	რეზისტენტული ინტაქტური	რეზისტენტული Ep	რეზისტენტული Liv	რეზისტენტული Liv+Co
Ag -დადებითი ქრომატიდების რიცხვი ერთ უჯრედზე	7,0 ±0,12	1,97 ±0,11	2,18 ±0,12	2,73 ±0,15	2,38 ±0,19	3,07 ±0,1	3,28 ±0,12	4,07 ±0,12	1,2 ±0,1
ასოციაციაში შესული Ag დადებითი ქრომატიდების რიცხვი ერთ უჯრედზე (D+G)	2,8 ±0,09	1,21 ± 0,09	1,23 ±0,09	1,56 ±0,11	1,1 ±0.1	1,21 ± 0,07	1,55 ± 0,08	1,37 ±0,07	0,77 ± 0,08
ასოციაციაში არ შესული Ag დადებითი ქრომატიდების რიცხვი ერთ უჯრედზე (D+G)	4,2 ±0,1	0,76 ±0,07	0,95 ±0,08	1,17 ±0,1	1,28 ±0,1	1,86 ±0,08	1,73 ±0,08	2,7 ±0,09	0,43 ±0,06



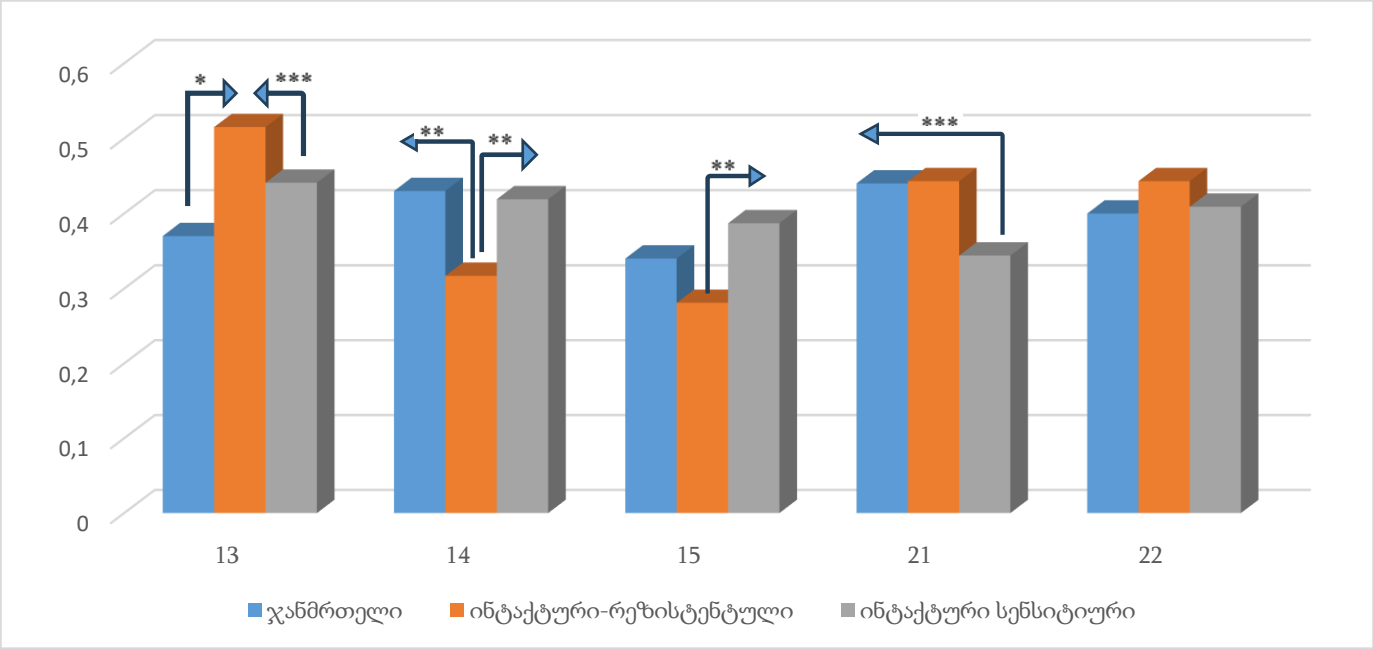
სურ.4.2.9 Ag-დადებითი ქრომატიდების სიხშირე ფტ სენსიტიური ფორმის დროს
1. ასოციაციაში შესული Ag-დადებითი ქრომატიდების რიცხვი ერთ უჯრედზე;
2. ასოციაციაში არ შესული Ag-დადებითი ქრომატიდების რიცხვი ერთ უჯრედზე.



სურ.4.2.10 Ag-დადებითი ქრომატიდების სიხშირე ფტ რეზისტენტული ფორმის დროს
1.ასოციაციაში შესული Ag-დადებითი ქრომატიდების რიცხვი ერთ უჯრედზე;
2.ასოციაციაში არ შესული Ag-დადებითი ქრომატიდების რიცხვი ერთ უჯრედზე.

ცხრ.4.2.4 აკროცენტრული ქრომოსომების ქრომატიდების ასოციაციური აქტივობა ფტ-ს სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმების დროს ბიორეგულატორებით ზემოქმედების პირობებში

ცდის ვარიანტი	აკროცენტრული ქრომოსომების ქრომატიდულ ასოციაციაში შესვლის ინტენსივობა ერთ უჯრედზე				
	13	14	15	21	22
ჯანმრთელი კონტროლი	0,37±0,02	0,43±0,02	0,34±0,02	0,44±0,02	0,40±0,02
სენსიტიური ინტაქტური	0,44±0,02	0,42± 0,02	0,39± 0,02	0,34±0,02	0,41±0,02
სენსიტიური Ep	0,45±0,02	0,48±0,02	0,49±0,02	0,25±0,02	0,35±0,02
სენსიტიური Liv	0,33± 0,02	0,42± 0,02	0,29±0,02	0,56± 0,02	0,41± 0,02
სენსიტიური Liv+Co	0,47±0,04	0,39±0,04	0,47±0,04	0,37±0,04	0,29±0,05
რეზისტენტული ინტაქტური	0,52±0,01	0,32± 0,01	0,28± 0,01	0,44±0,01	0,44±0,01
რეზისტენტული Ep	0,31±0,01	0,48±0,01	0,33±0,01	0,40±0,01	0,37±0,01
რეზისტენტული Liv	0,40±0,01	0,33± 0,01	0,38± 0,01	0,35±0,01	0,54±0,01
რეზისტენტული Liv+Co	0,42±0,03	0,35±0,03	0,40± 0,03	0,35± 0,03	0,27±0,04



სურ.4.2.11 აკროცენტრულ ქრომოსომათა ქრომატიდულ ასოციაციებში შესვლის ინტენსივობა ფილტვის ტუბერკულოზის სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმების დროს. * $p<0.001$, ** $p<0.01$, *** $p<0.05$

როგორც კვლევის შედეგებიდან ირკვევა, ჯანმრთელ ინდივიდთა საკონტროლო ჯგუფში მაღალი ასოციაციური აქტივობა დაფიქსირდა 14, 21 და 22 ქრომოსომების ქრომატიდებისათვის, უფრო ნაკლები 13 და 15 ქრომოსომების ქრომატიდებისათვის. როგორც უკვე აღინიშნა ეს მაჩვენებელი მნიშვნელოვანი პოპულაციათაშორისი ვარიაბელობით ხასიათდება, ამდენად, ჩვენი მონაცემები სრულ შესაბამისობაში არ არის ყველა ლიტერატურ წყაროში მითითებულთან.

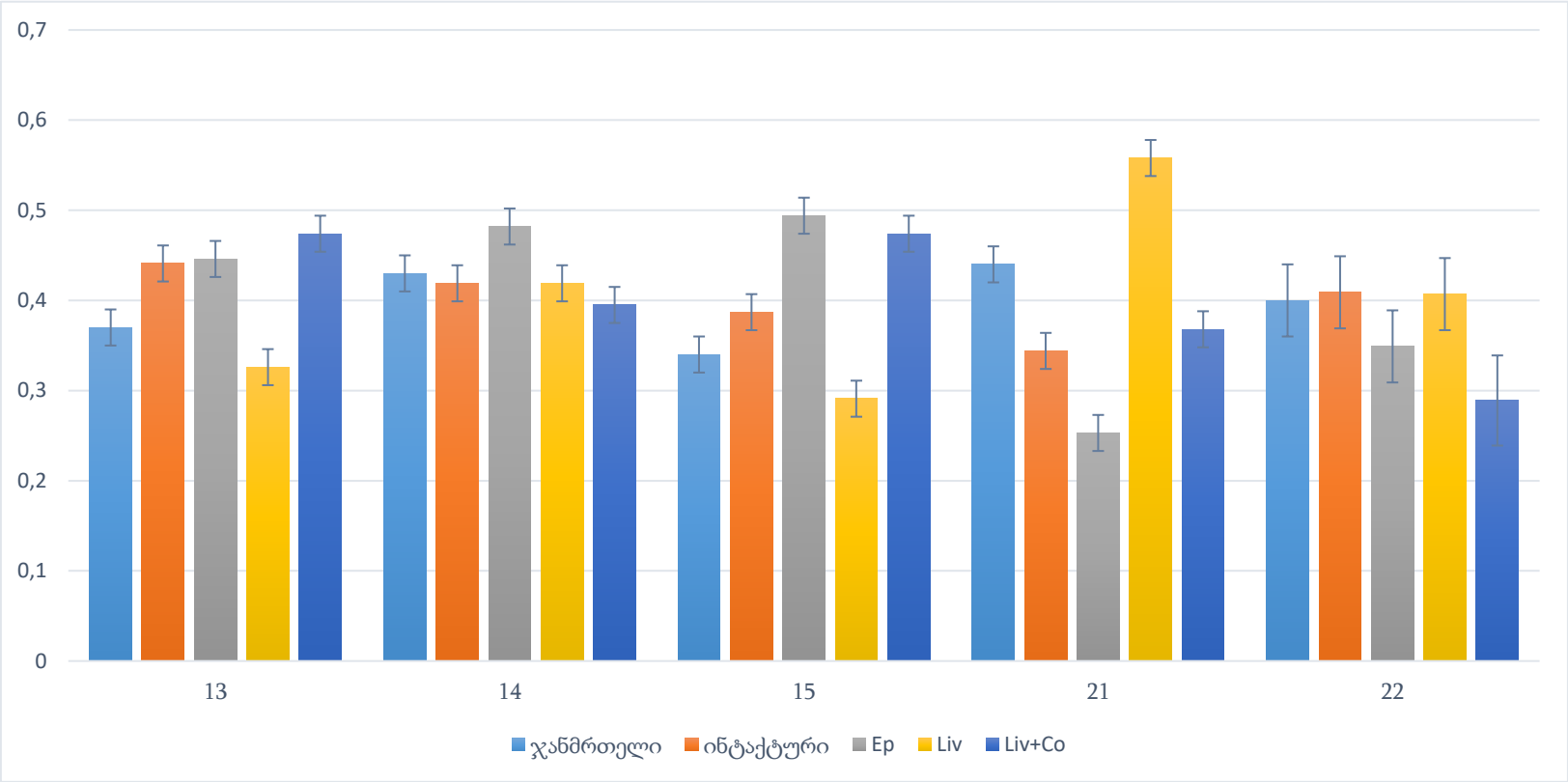
ფტ-ს რეზისტენტული ფორმის დროს კონტროლთან შედარებით მნიშვნელოვნად გაზრდილია 13 ქრომოსომის ქრომატიდების ასოციაციური აქტიურობა, ხოლო 14 და 15 ქრომოსომების ქრომატიდების აქტიურობის მაჩვენებლი შემცირებულია. ფტ-ს სენსიტიური ფორმის შემთხვევაში მაღალი ასოციაციური აქტიურობა ნაჩვენები იყო 13 ქრომოსომის ქრომატიდებისათვის, შემცირებული 21 ქრომოსომის ქრომატიდებისათვის. როგორც ვხედავთ მონაცემები ქრომატიდების თანამგზავრულ ასოციაციათა სიხშირეებთან დაკავშირებით რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმებისათვის სრულ თანხვედრაში არ არის, რაც შესაძლებელია, აგრეთვე აიხსნას თანამგზავრული ძაფების ჰეტეროქრომატინიზაციის განსხვავებული ხარისხით ამ ორი ფორმის შემთხვევაში.

რაც შეეხება ქრომატინის მამოდიფიცირებელი აგენტების (ეპიტალონი, ლივაგენი, ლივაგენი+კობალტი) მოქმედებას, მათი ეფექტი განსხვავებული აღმოჩნდა ფტ-ს განსხვავებული ფორმებისათვის. კერძოდ, ეპიტალონით ზემოქმედებისას 13 ქრომოსომის ქრომატიდების აქტივობა მცირდებოდა რეზისტენტული ფორმის შემთხვევაში და იზრდებოდა 14 ქრომოსომის ქრომატიდების აქტივობა, სენსიტიური ფორმისას იზრდებოდა 14,15 ქრომატიდების აქტივობა, მცირდებოდა 21 და 22 ქრომატიდების აქტივობა, ლივაგენის მოქმედებისას რეზისტენტული ფორმის დროს იმატებდა 22 და 15 აქტივობა და სენსიტიური ფორმისას მოიმატა 21 ქრომატიდების აქტივობამ, ხოლო 13 და 15 ქრომატიდების აქტივობა

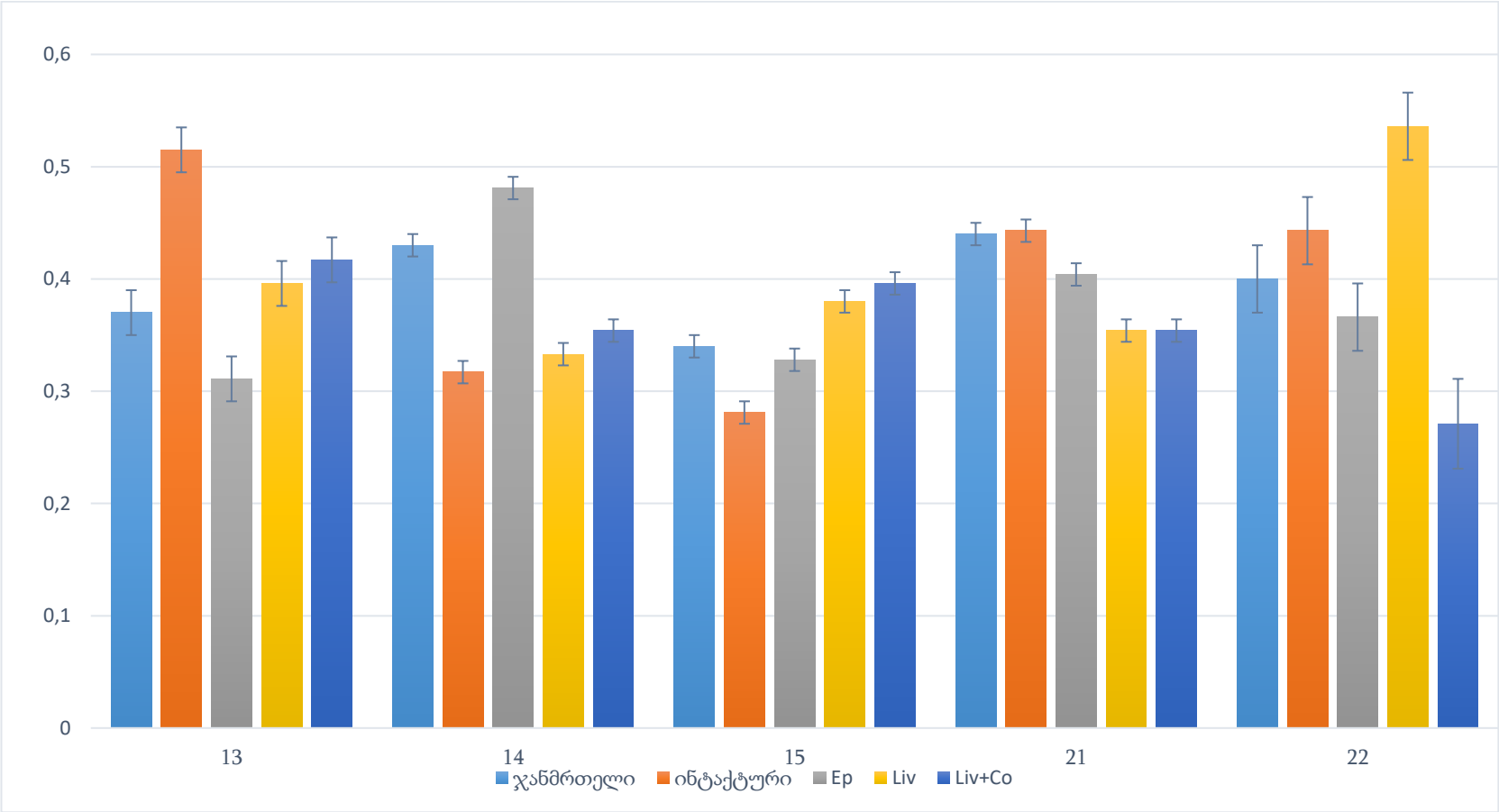
შემცირდა. Liv+Co-ით ერთობლივი მოქმედებისადმი უფრო მგრძნობიარე აღმოჩნდა სენსიტიური ფორმა. ამ შემთხვევაში დაფიქსირდა მაჩვენებლის მკვეთრი ზრდა 13 და 15 ქრომოსომების ქრომატიდებისათვის და მკვეთრი შემცირება 22 ქრომოსომის ქრომატიდებისათვის, რეზისტენტულის დროს მკვეთრად შემცირდა 21 და 22 და მოიმატა 15 ქრომოსომის ქრომატიდების აქტივობამ.

აკროცენტრულ ქრომოსომათა სხვადასხვა ტიპის ჰომოლოგიური და არაჰომოლოგიური ასოციაციების (13:13; 13:14; 13:15; 13:21; 13:22; 14:14; 14:15; 14:21; 14:22; 15:15; 15:21; 15:22; 21:21; 21:22; 22:22) შესწავლისას მიღებული შედეგები შესაბამისად წარმოდგენილია ცხრ.4.2.5. პირველ რიგში, ყურადღებას იპყრობს ის ფაქტი, რომ ჰომოლოგიური ქრომოსომების ქრომატიდულ თანამგზავრთა ასოციაციებში გაერთიანების სიხშირე მნიშვნელოვნად ჩამორჩება არაჰომოლოგიური ქრომოსომებისათვის დაფიქსირებულ მაჩვენებელს, ამასთან ეს კანონზომიერება შენარჩუნებულია ფტ-ს როგორც რეზისტენტული, ისე სენსიტიური ფორმებისათვის. მიღებულია, რომ აკროცენტრული ქრომოსომათა ქრომატიდების თანამგზავრული ძაფების ასოციაციაში გაერთიანების პირობას, მათი ჰეტეროქრომატინის ჰომოლოგიურობა წარმოადგენს, რაც მათი კონიუგაციის განმსაზღვრელია. ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები ჰომოლოგთა ფუნქციური არაერთგვაროვნების მაჩვენებელია და კიდევ ერთხელ ადასტურებენ ლიტერატურაში ამ კუთხით გამოთქმული დებულების უნივერსალურობას (Lezhava, 2001; Lezhava et al., 2015).იმ თვალსაზრისით, რომ აღნიშნული დამახასიათებელია ფტ-ს ორივე ფორმისათვის. რაც შეეხება ტესტირებულ მოდიფიკატორებს, განსაკუთრებული ეფექტი გამოვლინდა Liv+Co-ის ერთობლივი კომბინაციური ზემოქმედებისას, რაც გამოიხატებოდა იმაში, რომ გარკვეული ტიპის ასოციაციები ასეთი ზემოქმედებისას საერთოდ არ აღირიცხებოდა როგორც რეზისტენტული, ისე სენსიტიური ფორმების შემთხვევაში. კერძოდ, Liv+Co-ის ერთობლივი მოქმედებისას ორივე ფორმისას არ გამოვლენილა 14:14 და 22:22 ტიპის ასოციაციები. თუმცა, ზემოქმედების ამ ფორმისას, ფტ-ს შესწავლილი ვარიანტების შემთხვევაში დაფიქსირდა გარკვეული სხვაობები - რეზისტენტულის შემთხვევაში არ დაფიქსირებულა 15:15 ტიპის ასოციაციები, სენსიტიურის დროს - 21:21 ტიპის.

ამრიგად, თუ შევაჯამებთ აკროცენტრულ ქრომოსომათა ქრომატიდების ასოციაციური აქტივობის შეფასების შედეგებს ყველა შესწავლილი პარამეტრის მიხედვით ფტ-ს სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმებისათვის (ზოგადი ასოციაციური აქტივობა, ცალკეული აკროცენტრიკების ქრომატიდების აქტივობა, ასოციაციათა ტიპების სიხშირეები), შეიძლება აღინიშნოს, რომ, ცალკეული აკროცენტრიკების ქრომატიდების თანამგზავრული ძაფები ჰეტეროქრომატინიზაციის განსხვავებული ხარისხით რეაგირებენ სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმებისას განვითარებულ ჰომეოსტატიკურ ძვრებზე, რაც, შესაბამისად, მათ შემადგენლობაში არსებული რიბოსომული გენების განსხვავებულ ექსპრესიას იწვევს. ასევე სპეციფიკურ ხასიათს ავლენენ აკროცენტრული ქრომატიდების ეპიგენეტიკური ცვალებადობის მაჩვენებლები განსხვავებული ბიორეგულატორებით ზემოქმედებისას.



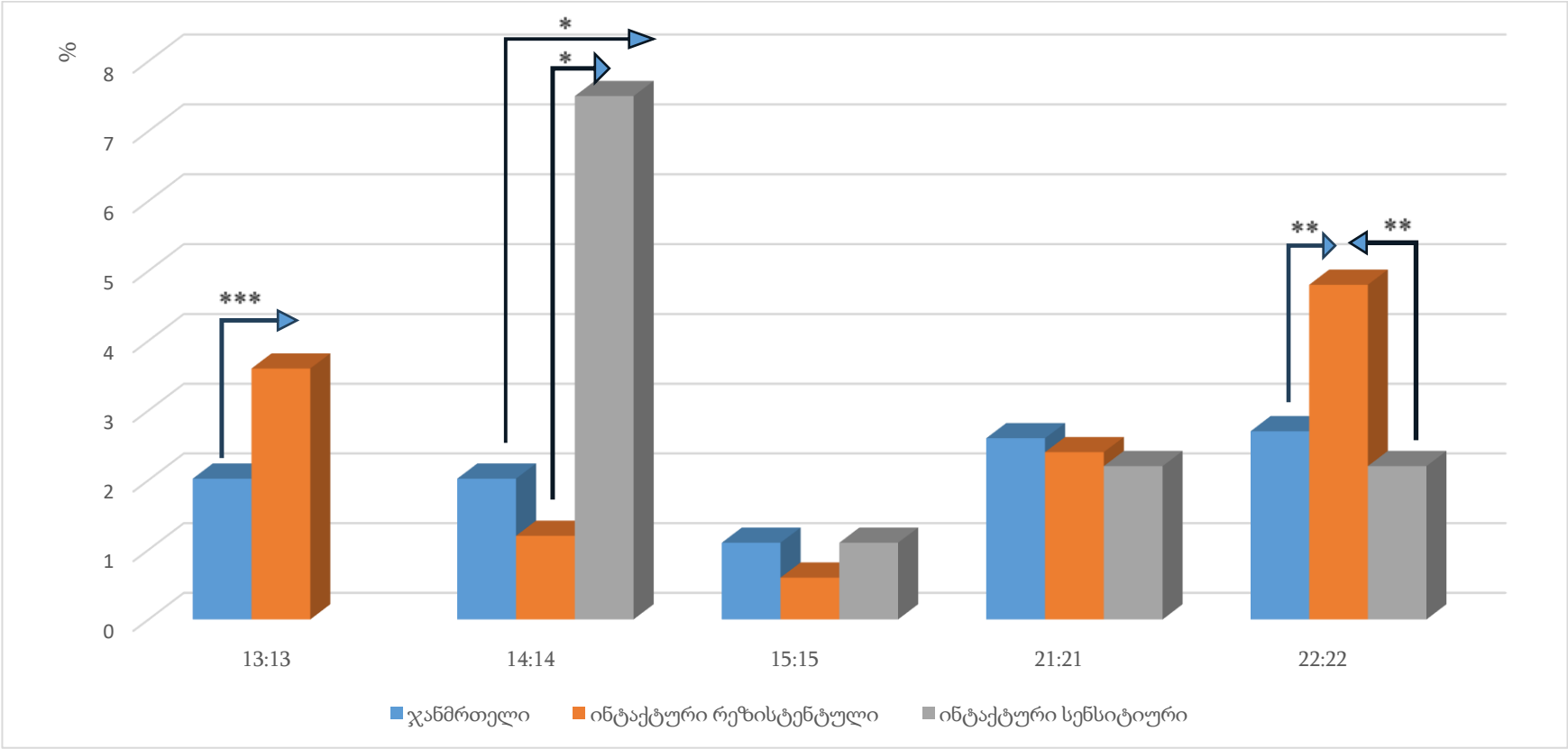
სურ. 4.2.12 აკროცენტრულ ქრომოსომათა ქრომატიდულ ასოციაციებში შესვლის ინტენსივობა ფილტვის ტუბერკულოზის სენსიტიური ფორმის დროს



სურ.4.2.13 აკროცენტრულ ქრომოსომათა ქრომატიდულ ასოციაციებში შესვლის ინტენსივობა ფილტვის ტუბერკულოზის რეზისტენტული ფორმის დროს

ცხრ.4.2.5 აროცენტრულ ქრომოსომათა ჰომოლოგიურ და არაჰომოლოგიური ქრომატიდული ასოციაციების ტიპების ინტენსივობა ჯანმრთელ ინდივიდთა საკონტროლო ჯგუფისა და ფტ დაავადებული პაციენტების ლიმფოციტურ კულტურათა უჯრედებში

ცდის პირობა	ქრომატიდულ ასოციაციათა ტიპები														
	13:13	13:14	13:15	13:21	13:22	14:14	14:15	14:21	14:22	15:15	15:21	15:22	21:21	21:22	22:22
ჯანმრთელი კონტროლი	2,02± 0,4	10,1± 1.0	5,8± 0,7	9,3± 0,9	7,5± 0,8	2,02± 0,4	9,7± 0,9	10,1± 1.0	9,8± 0,9	1,1± 0,3	9,0± 0,9	7,4± 0,8	2,6± 0,5	10,9± 1.04	2,7± 0,5
სენსიტიური ინტაქტური	-	10,8 ±1,14	10,8 ±1,14	14,0 ±1,2	8,6 ±1,03	7,5 ±0,9	6,5 ±0,9	4,3 ±0,7	5,4 ±0,8	1,1 ±0,4	4,3 ±0,7	15,1 ±1,3	2,2 ±0,5	7,5 ±0,9	2,2 ±0,5
სენსიტიური Ep	2,4 ±0,6	9,5 ±1,13	17,9 ±1,4	6,0 ±0,9	6,0 ±0,9	3,6 ±0,7	14,3 ±1,3	6,0 ±0,9	10,7 ±1,19	2,4 ±0,6	3,6 ±0,7	8,3 ±1,06	3,6 ±0,7	2,4 ±0,6	3,6 ±0,7
სენსიტიური Liv	2,3 ±0,5	5,8 ±0,8	4,7 ±0,8	10,5 ±1,17	7,0 ±0,9	3,5 ±0,7	8,1 ±1,04	14,0 ±1,3	7,0 ±0,9	2,3 ±0,5	9,3 ±1,1	2,3 ±0,5	2,3 ±0,5	17,4 ±1,4	3,5 ±0,7
სენსიტიური Liv+Co	2,9 ±0,9	17,6 ±2,1	11,8 ±1,8	8,8 ±1,6	8,8 ±1,6	-	11,8 ±1,8	11,8 ±1,8	2,9 ±0,9	2,9 ±0,9	11,8 ±1,8	11,8 ±1,8	-	8,8 ±1,6	-
რეზისტენტული ინტაქტური	3,6 ±0,5	11,4 ±0,8	10,8 ±0,8	12,0 ±0,9	10,2 ±0,8	1,2 ±0,3	4,8 ±0,5	7,2 ±0,7	6,0 ±0,6	0,6 ±0,2	6,6 ±0,7	4,8 ±0,5	2,4 ±0.4	13,8 ±0,9	4,8 ±0,5
რეზისტენტული Ep	0,6 ±0.2	11,5 ±0,8	9,1 ±0,8	6,7 ±0,6	5,5 ±0,6	5,5 ±0,6	11,5 ±0,8	8,5 ±0,7	7,9 ±0,7	0,6 ±0,2	8,5 ±0,7	6,1 ±0,6	3,6 ±0,5	12,7 ±0,8	1,8 ±0,3
რეზისტენტული Liv	1,6 ±0.3	9,9 ±0,7	6,8 ±0,6	7,3 ±0,6	12,5 ±0,8	2,6 ±0,4	5,7 ±0,5	4,2 ±0,5	8,3 ±0,7	3,6 ±0,4	5,7 ±0,5	12,5 ±0,8	2,6 ±0.4	13,0 ±0,8	3,6 ±0.4
რეზისტენტული Liv+Co	2,3 ±0,8	9,3 ±1,5	11,6 ±1,7	9,3 ±1,5	11,6 ±1,7	-	16,3 ±1,9	9,3 ±1,5	4,7 ±1,1	-	9,3 ±1,5	7,0 ±1,3	2,3 ±0,8	7,0 ±1,3	-



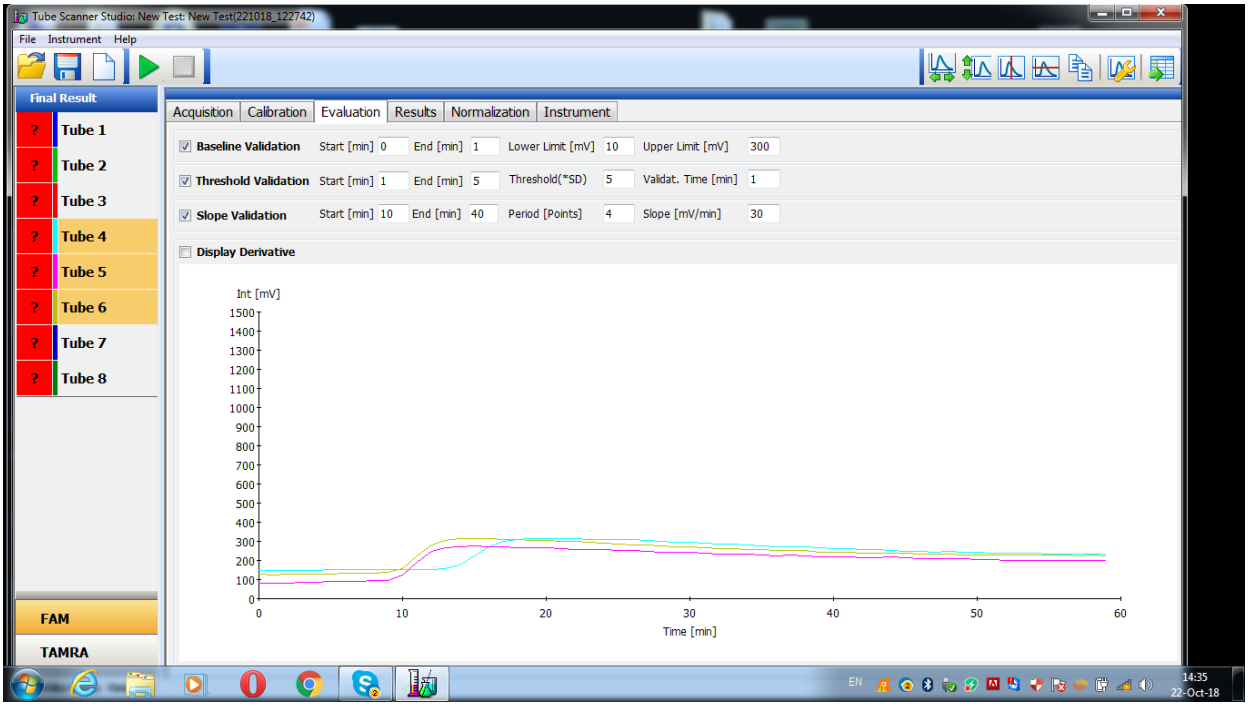
სურ.4.2.14 ჰომოლოგიურ ქრომატიდულ ასოციაციათა ტიპების ინტენსივობა ფტ-ით დაავადებულთა (სენსიტიური, რეზისტენტული,) ინტაქტურ ლიმფოციტურ კულტურებზე , * $p<0.01$; **$p<0.05$; ***$p<0.5$

4.3 GST გენის GSTT1 და GSTM1 ალელების მატარებელთა ვარიაბელობის განსაზღვრა ფტ-ით დაავადებულ პაციენტებში

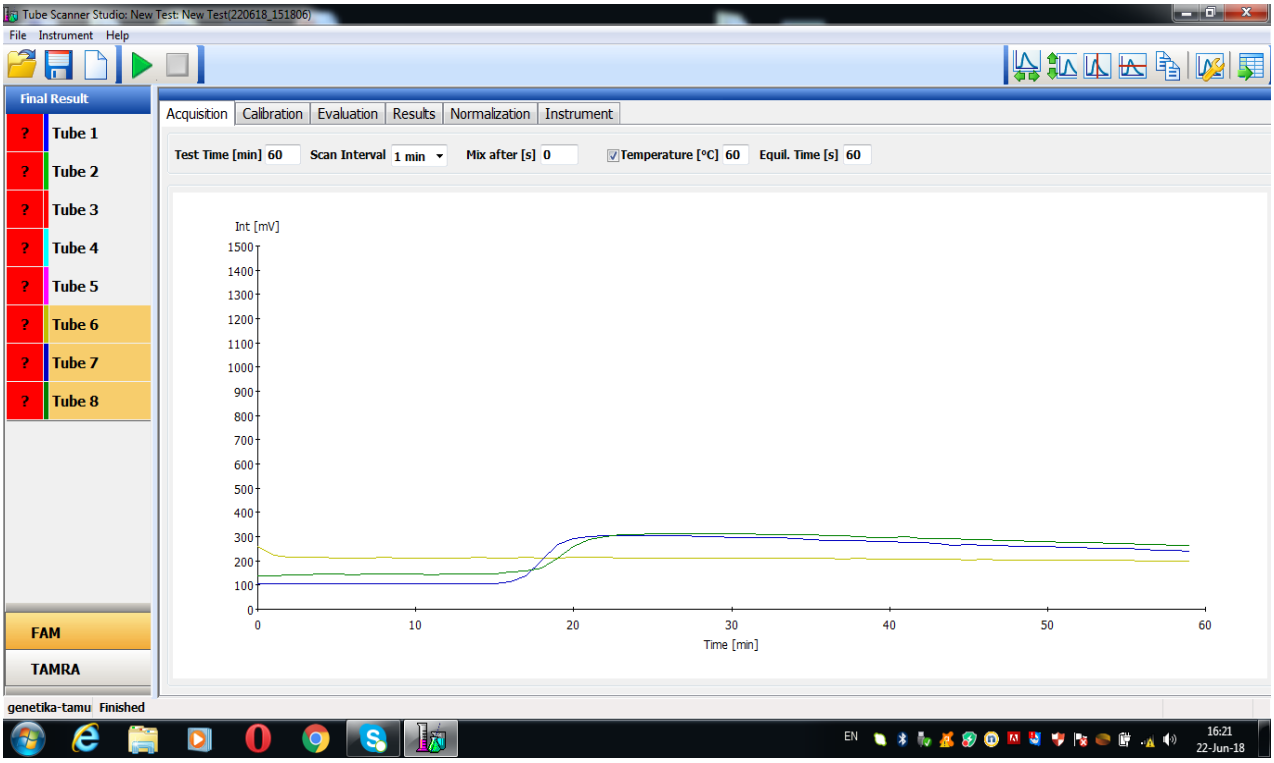
GST გენის (GSTT1 და GSTM1) პოლიმორფიზმის კვლევა და მისი კავშირის დადგენა ფილტვის ტუბერკულოზთან, ქართულ პოპულაციაში პირველად ჩატარდა. კვლევის საწყის ეტაპზე განვსაზღვრეთ GST გენების პოლიმორფიზმის სიხშირე ქართული პოპულაციის ჯანმრთელ ინდივიდებში (თბილისი, აღმოსავლეთ და დასავლეთ საქართველო).

კვლევები ტარდებოდა ხელსაწყო Ese-Quant Tube Scanner-ის საშუალებით, რომლითაც ხდება ერთნუკლეოტიდიანი პოლიმორფიზმის (SNP) განსაზღვრა. შედეგების აღრიცხვა ხდებოდა რეალურ დროში, კომპიუტერის მონიტორზე, ამპლიფიკაციის გრაფიკების საშუალებით.

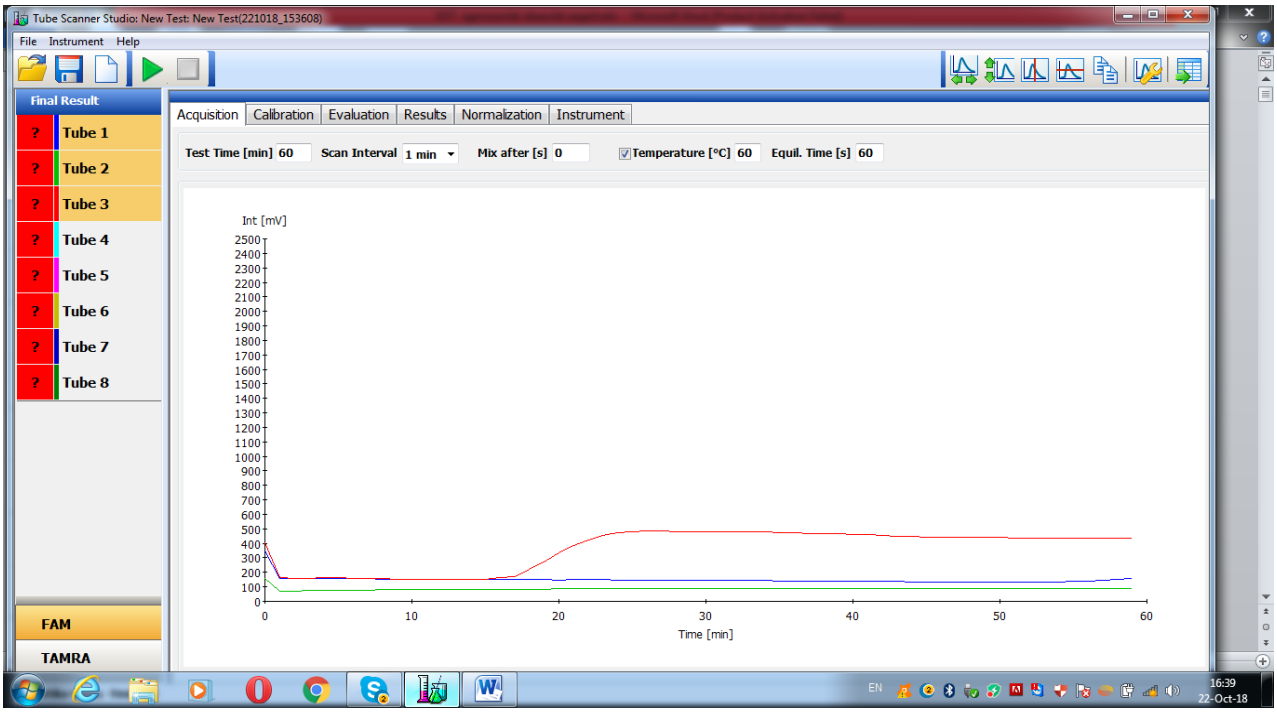
ცალ-ცალკე სინჯარაში ემატებოდა GSTT1, GSTM1 და EGFR გენების პრაიმერების ნაკრები და აღვრიცხავდით ამპლიფიკაციის მრუდებს. დადებით სიგნალად ითვლება ამპლიფიკაციის მრუდის „აწევა“ და უარყოფით სიგნალად - „სწორი ხაზი“.



სურ.4.3.1 Tube 4 – GSTT1 (+); Tube 5 – GSTM1 (+); Tube 6 - EGFR(+)



სურ.4.3.2 Tube 6– GSTT1 (-); Tube 7 – GSTM1 (+); Tube 8 - EGFR(+)



სურ.4.3.3 Tube 1 – GSTT1 (-); Tube 2 – GSTM1 (-); Tube 3 - EGFR(+)

ქართული პოპულაციის ჯანმრთელ ინდივიდებში გლუტათიონ S–ტრანსფერაზას (GST) გენების (GSTT1 და GSTM1) პოლიმორფიზმის ჯამური ანალიზის შედეგად ინდივიდთა 82%-ში გამოვლინდა GSTT1 და GSTM1 დადებითი გენოტიპები, GSTT1(-) დაფიქსირდა ინდივიდთა 14%-ში, ხოლო GSTM1 (-) ინდივიდთა 6%-ს აღმოაჩნდა (სურ.4.3.4; ცხრ.4.3.1). რაც შეეხება ორმაგ ნულოვან გენოტიპს (GSTT1(-) /GSTM1(-)), ჯამური ანალიზის შედეგად, იგი ინდივიდთა 3%-ში დაფიქსირდა.

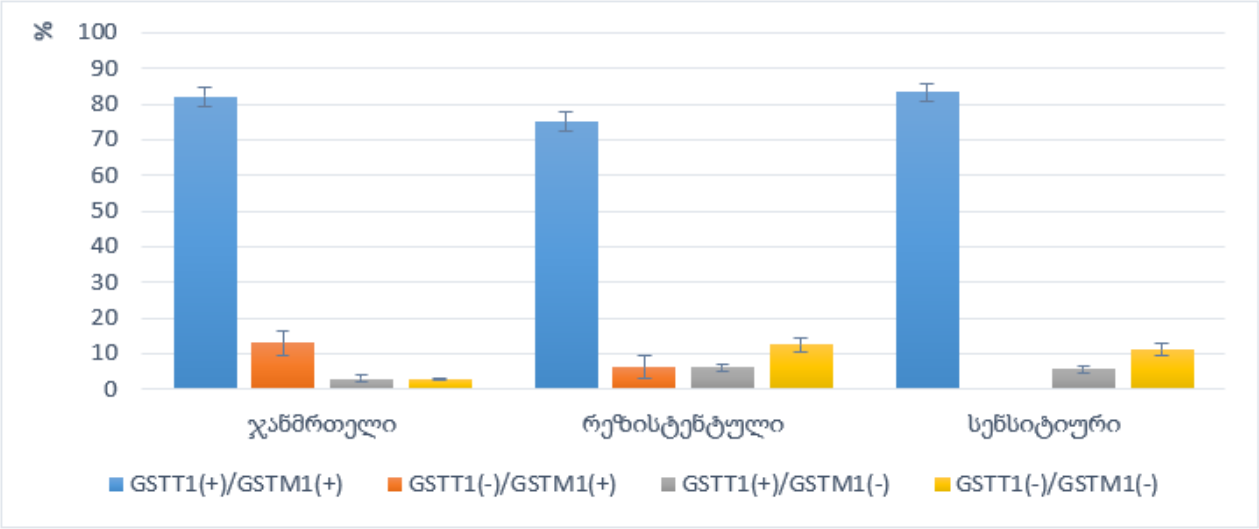
GST გენების პოლიმორფიზმის კვლევა მრავალ ქვეყანაშია ჩატარებული. ჩვენი კვლევის შედეგები შევადარეთ სხვა პოპულაციებში მიღებულ ანალოგიურ მონაცემებს. ჩვენი მაჩვენებლები გარკვეულწილად თანხვდება ზოგიერთი ქვეყნის (ძირითადად ევროპის ქვეყნების) ანალოგიურ მაჩვენებლებს. მაგალითისათვის, სერბეთის პოპულაციაში აღნიშნული გენების პოლიმორფიზმის კვლევის შედეგები (Grubisa at al., 2018) თანხვდება ჩვენს მიერ მიღებულ შედეგს. ორმაგ ნულოვანი გენოტიპი მათი მონაცემებით შეადგენდა 1,6 %-ს, რაც დაახლოებით თანხვდება ქართულ პოპულაციაში მიღებულ შედეგს (3%). ასევე თანხვედრაა GSTT1(-) გენოტიპის შემთხვევაშიც (სერბეთი - 14,3%, საქართველო - 14%). ველური ტიპის გენოტიპის შემთხვევაში, ორივე პოპულაციაში ყველაზე მაღალი მაჩვენებელი დაფიქსირდა. გარდა სერბეთისა, GSTT1(-) გენოტიპის მიხედვით მსგავსი მაჩვენებელი მივიღეთ ევროპის სხვა ქვეყნებთანაც, როგორიცაა იტალია (16%) (Santovito et al., 2008), ფინეთი (13%), შვედეთი (13%), დანია (12%), საფრანგეთი (16%) და სხვა (Garte et al., 2001). რაც შეეხება აზიას, მაგალითად, თურქეთში GSTT1(-) დაფიქსირდა შესწავლილი პოპულაციის 81,8%-ში (Unal et al., 2007), რაც ჩვენი პოპულაციისაგან სრულიად განსხვავებულ მაჩვენებელს წარმოადგენს. რაც შეეხება GSTM1(-), მისი მაჩვენებელი ჩვენი პოპულაციისათვის (6%) მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა სხვა პოპულაციების მაჩვენებლებისაგან (როგორც ევროპული, ისე აზიური).

ჩვენს კვლევაში რეზისტენტული ფტ-თი დაავადებული პაციენტების 75%-ში გამოვლინდა GSTT1 და GSTM1 გენების დადებითი გენოტიპები, GSTT1(-) დაფიქსირდა ინდივიდთა 18,75%-ში, GSTM1(-) ასევე დაფიქსირდა ინდივიდთა 18,75%-ში, ხოლო ორმაგი ნულოვანი გენოტიპი დაფიქსირდა ინდივიდთა 12,5%-ში. რამდენადმე განსხვავებული მონაცემები მივიღეთ ფტ სენსიტიური ფორმით დაავადებულ ინდივიდებში, დადებითი გენოტიპები(GSTT1(+)/GSTM1(+)) გამოვლინდა 83,3%-ში, GSTT1(-) დაფიქსირდა ინდივიდთა 11,1%-ში, ხოლო GSTM1(-) დაფიქსირდა ინდივიდთა 16,7%-ში. (ცხრ.4.3.1)

როგორც შედეგებიდან ჩანს ორმაგი ნულოვანი გენოტიპი ორივე ფორმით დაავადებულ ინდივიდებში სარწმუნოდ აღემატება ჯანმრთელ ინდივიდებში შესაბამის მონაცემს (3±0,1), ამავდროულად განსხვავება გამოვლინდა რეზისტენტულ და სენსიტიურ ფორმით დაავადებულ ინდივიდთა შორის აღნიშნული მონაცემის მიხედვით, შეინიშნება რეზისტენტული ფტ-ს დროს ორმაგი ნულოვანი გენოტიპის მქონე პაციენტების რაოდენობის (12,5±2,1) მატების ტენდენცია სენსიტიური ფორმით დაავადებულთა (11,1±1,7) შესაბამის მაჩვენებელთან შედარებით. რაც კიდევ ერთხელ ხაზს უსვამს გენოტიპის მნიშვნელობას.

ცხრ.4.3.1 GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმორფული ვარიანტების სიხშირე ფილტვის ტუბერკულოზის რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმით დაავადებულ და ჯანმრთელ ინდივიდებში

GST გენოტიპები	% საერთო რაოდენობიდან			
	სულ, ფტ დაავადებული ინდივიდები	რეზისტენტულიფტ	სენსიტიური ფტ	ჯანმრთელი
GSTT1(+)/GSTM1(+)	79±1,2	75±2,7	83,3±2,1	82±0,2
GSTT1(-)/GSTM1(+)	3±0,5	6,25±1,5	-	13±0,1
GSTT1(+)/GSTM1(-)	6±0,7	6,25±1,5	5,6±0,8	3±0,1
GSTT1(-)/GSTM1(-)	12±0,9	12,5±2,1	11,1±1,7	3±0,1
GSTT1(-)	**15±1,02**	**18,75±2,4**	**11,1±1,7**	**14±0,2**
GSTM1(-)	**18±1,1**	**18,75±2,4**	**16,7±2,1**	**6±0,1**



სურ.4.3.4 GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმორფიზმი ქართული პოპულაციის ჯანმრთელ და ფტ სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმით დაავადებულ ინდივიდებში

როგორც უკვე აღვნიშნეთ, GST გენები მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ მუტაგენებისა და კანცეროგენების დეტოქსიკაციაში. სწორედ ამიტომ, მათი ნულოვანი გენოტიპები დაკავშირებულია სხვადასხვა დაავადების განვითარებასთან, როგორიცაა, მაგალითად, სხვადასხვა ტიპის სიმსივნეები, მათ შორის მწვავე და ქრონიკული მიელოიდური ლეიკემიები. ირანის პოპულაციაში ჩატარებული კვლევების შედეგად (Sheikhha et al., 2005), რომელიც ეხებოდა GST გენების პოლიმორფიზმის კავშირს მწვავე მიელოიდურ ლეიკემიასთან, დაავადებულთა 12,8%-ში გამოვლინდა GSTT1/GSTM1 ორმაგი ნულოვანი გენოტიპი. მსგავსი კვლევები, სხვადასხვა დაავადებასთან GST გენების პოლიმორფიზმის კავშირის დასადგენად მრავალ ქვეყანაშია ჩატარებული. მაგალითად, სერბეთის პოპულაციაში აღმოჩნდა, რომ GSTM1(-) და GSTT1/GSTM1 ორმაგი ნულოვანი გენოტიპი დაკავშირებული იყო ათეროგენეზთან. როგორც ავტორები მიუთითებენ (Grubisa et al. 2018) აღნიშნული პოლიმორფიზმი წარმოადგენს ათეროსკლეროზის განვითარების მნიშვნელოვან მარკერს და მისი საშუალებით შესაძლებელია დაავადების განვითარების პროგნოზირება სერბეთის პოპულაციაში.

ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევებით დადგინდა კავშირი GSTM1 და GSTT1 გენების ნულოვან გენოტიპებსა და ფილტვის ტუბერკულოზის დაავადებას შორის ქართული პოპულაციის ინდივიდებში, აღნიშნული კვლევა საქართველოში ჩატარდა პირველად და წარმოადგენს სიახლეს ჩვენი პოპულაციისათვის. ასევე არის მნიშვნელოვანი წინ გადადგმული ნაბიჯი პერსონალიზებული მედიცინის განვითარების მხრივ, ჩვენს ქვეყანაში.

4.4 ქრომოსომათა სტრუქტურულ-რაოდენობრივი დარღვევები და ფრაგილური საიტების სიხშირე ფტ-ით დაავადებულ პაციენტებში და მათზე ბიორეგულატორების ზემოქმედების განსაზღვრა

როგორც უკვე აღინიშნა, მემკვიდრული წინასწარგანწყობის დაავადებებისათვის დამახასიათებელია გენომური არასტაბილურობის მაღალი დონე, რისი დეტექციაც, პირველ რიგში, ქრომოსომათა სტრუქტურულ-რაოდენობრივი დარღვევების აღრიცხვის გზით ხდება. ჩვენს მიერ ქრომოსომული არასტაბილურობის შედარებითი შეფასება ფილტვის ტუბერკულოზის ორივე საკვლევი ფორმის დროს ჩატარებული იყო პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტების ხანმოკლე კულტურათა მოდელურ სისტემაში. როგორც ცნობილია, პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტები ორგანიზმული იმუნიტეტის მნიშვნელოვან რგოლს წარმოადგენენ. შესაბამისად, T-ლიმფოციტების გენეტიკური აპარატის დარღვევები უშუალო კავშირშია იმუნიტეტის ცვლილებასთან და ანთებითი პროცესების განვითარების საფუძველია, მეორე მხრივ, ანთებითი კერის საზღვრებში მოქცეული T-ლიმფოციტები, ექვემდებარებიან ეპიგენეზურ ცვალებადობას, რაც მათი ძირითადი გენომური პარამეტრების ცვალებადობაში, და შესაბამისად, გენეტიკური აპარატის ფუნქციონირებაშიც აისახება.

ცნობილია, რომ ქრომატინის სტრუქტურა ცვლილებებს განიცდის რიგ ფაქტორთა, მათ შორის პათოლოგიური მდგომარეობით განპირობებული სტრესის ზეგავლენითაც, რაც შეიძლება გენომური სტაბილურობის დარღვევისა და ჰომეოსტატიკური ძვრების მიზეზი

გახდეს, აღნიშნული პროცესი ორმხრივ მიმართულია-ლიმფოციტები გენომური არასტაბილურობის მაღალი დონით მნიშვნელოვანწილად კარგავენ ნორმალური ფუნქციონირების უნარს, რაც იმუნური სტატუსის დარღვევის წინაპირობაა.

ქრომატინის მოდიფიკაციასთან ასოცირებულ ფუნქციურ პარამეტრებში მოიაზრება პირველ რიგში ქრომოსომათა რაოდენობრივ-სტრუქტურული ცვლილებების მაჩვენებელი, ქრომოსომათა ფრაგილურობის მაჩვენებელი, შვილეულქრომატიდთაშორისი გაცვლები(შქგ), ბირთვაკის ორგანიზატორთა აქტივობის დონე, აკროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაციური აქტივობა (ბოლო ორი პარამეტრი უჯრედებში მიმდინარე სინთეზური პროცესების აქტივობის შეფასებისათვის გამოიყენება). ნაჩვენებია, რომ ქრომატინის როგორც ასაკობრივი მოდიფიკაცია, ისე პათოლოგიით ინდუცირებული სტრესით განპირობებული მოდიფიკაცია, და მასთან ასოცირებული გენომური პარამეტრების ცვლილებები, გარკვეულ პირობებში კორექციას ექვემდებარება და ქრომატინზე მიზანმიმართული ზემოქმედების პერსპექტივებს სახავს.

ქრომოსომათა რაოდენობრივი დარღვევები. როგორც აღინიშნა, ქრომოსომათა რაოდენობრივ დარღვევებში მოიაზრება ანეუპლოიდიისა და პოლიპლოიდიის სიხშირის მაჩვენებლები. ფტ-ის ორივე ფორმით დაავადებულთა ლიმფოციტურ კულტურებში ჯანმრთელი ინდივიდების კულტურებთან შედარებით სარწმუნოდ იყო გაზრდილი პოლიპლოიდიის მაჩვენებელი. პოლიპლოიდური უჯრედების სიხშირემ ფტ-ის სენსიტიური ფორმით დაავადებულებში შეადგინა 1,47±0,1%; რეზისტენტული ფორმით დაავადებულებში 0,81±0,2%; ჯანმრთელ ინდივიდთა მაჩვენებელი 0.1±0.01%-ს შეადგენდა (ცხრ.4.4.1;4.4.2. სურ.4.4.2). დაფიქსირებული შედეგი მიუთითებს იმაზე, რომ ფტ-ს დროს, ზოგადად გაზრდილია შეცდომების დონე მიტოზის მსვლელობაში, რადგან პოლიპლოიდიის მიზეზს მიტოზის მიმდინარეობის დარღვევები (თითისტარას აპარატის დაზიანება) წარმოადგენს.

ფტ-ს ორივე შემთხვევაში გაზრდილი პოლიპლოიდიის ფონზე განსხვავებული შედეგები იქნა მიღებული ანეუპლოიდიის მაჩვენებლებისათვის. კერძოდ ფტ-ს სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმების დროს ანეუპლოიდიის დონე არსებითად არ განსხვავდებოდა ჯანმრთელ ინდივიდთა საკონტროლო მაჩვენებლისაგან. ანეუპლოიდური უჯრედების სიხშირემ ფტ-ის სენსიტიური ფორმით დაავადებულებში შეადგინა 7,14±0.6%, რეზისტენტული ფორმით დაავადებულებში-6,49±0.6%, საკონტროლო ჯგუფში - 6.0±0,9%.

მიღებულია, რომ ანეუპლოიდიის მიზეზს ქრომოსომათა ცენტრომერული უბნების დაზიანება წარმოადგენს, რაც მიტოზში ქრომატიდების ნორმალური სეგრეგაციის დარღვევაში აისახება. ფტ-ს დროს ანეუპლოიდიის მაჩვენებლის ნორმის ფარგლებთან შესაბამისობის გამოვლენილ ფაქტს ლიტერატურის მონაცემებზე დაყრდნობით შესაძლოა ორგვარი ახსნა მიეცეს. კერძოდ, არსებობს მონაცემები, რომლებიც მიუთითებენ, რომ ზოგიერთი დაავადების დროს ადგილი აქვს ქრომატინის მოდიფიკაციას, რაც, შესაძლებელია, ორგანიზმში მიმდინარე ჰომეოსტატიკური ძვრების მიმართ გენომის ცალკეული ელემენტების - ქრომოსომების მგრძნობელობის ცვალებადობის მიზეზი გახდეს და აისახოს მათი სტრუქტურული და რაოდენობრივი მახასიათებლის ცვალებადობაზე. სპეციფიკური მოდიფიკაციის შედეგად შეიძლება უპირატესად დაზიანდნენ და დაიკარგონ ის ქრომოსომები, რომლებსაც უჯრედებისათვის სასიცოცხლო მნიშვნელობა აქვთ, რის შედეგადაც ასეთი უჯრედები ელიმინირდება და შემდგომ მიტოზებში გადადიან უფრო

რეზისტენტული უჯრედები, რაც შესაბამისად, აქვეითებს ანეუპლოიდიის მაჩვენებელს (Johnson, 2000). დაახლოებით მსგავსი მექანიზმი აქვს ლიტერატურაში მითითებულ აბერანტული უჯრედების იმუნოლოგიური ელიმინაციის სხვა მოდელსაც (Ильинских,1988), რომლის მიხედვითაც, ის ანეუპლოიდური უჯრედები, რომლებსაც დაკარგული აქვთ დიდი ან საშუალო ზომის ქრომოსომები, ელიმინირდება აუტოლიზური T-ლიმფოციტების მიერ. ავტორის აზრით, ამ ქრომოსომების დაკარგვა ხდება გენომში ისეთი ტიპის ცვლილებების მიზეზი, რომლებიც ცვლიან უჯრედულ მემბრანას ისე, რომ T-ლიმფოციტები მათ აღიქვამენ როგორც უცხო უჯრედებს და იწყებენ მათ ციტოლიზს.

ქრომოსომათა სტრუქტურული დარღვევები. ქრომოსომები, როგორც ცნობილია, შედგებიან დნმ-სა და ცილების (ძირითადად ჰისტონები) თანამიმდევრობებისაგან, რომლებიც განაპირობებენ მათ „შეფუთვას“ ქრომოსომაში. ქრომოსომული არასტაბილურობის ფონზე უჯრედებსა და ორგანიზმში განვითარებული ჰომეოსტატიკური ძვრები, როგორც წესი, პათოლოგიების განვითარების მიზეზია. მეორე მხრივ, პათოლოგიები, მათი გამომწვევი მაინფიცირებელი აგენტები და თანმდევი ანთებითი პროცესები, ქრომოსომული არასტაბილურობის შეძენის ერთ-ერთ გზას წარმოადგენენ

ჩვენს მიერ ჩატარებული ქრომოსომათა სტრუქტურული დარღვევების ანალიზის შედეგები მიუთითებენ, რომ ფტ-ის ორივე შესწავლილი ფორმისას ლიმფოციტურ კულტურათა უჯრედებისათვის დამახასიათებელია ქრომოსომული აბერაციების სარწმუნოდ გაზრდილი დონე ჯანმრთელ ინდივიდთა საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით. კერძოდ, ქრომოსომათა სტრუქტურული აბერაციების შემცველი უჯრედების სიხშირემ ფტ-ს სენსიტიური ფორმის დროს შეადგინა 4.5±0.7%. რეზისტენტულის შემთხვევაში-3,4±0,4%. ჯანმრთელ ინდივიდთა საკონტროლო მაჩვენებელი-1,7±0,5%. (ცხრ.4.4.1;4.4.2). როგორც ლიტერატურის მონაცემები მიუთითებენ, ქრომოსომული არასტაბილურობის ზრდა დაფიქსირებულია რიგი მემკვიდრული წინასწარგანწყობის დაავადებების დროსაც, რასაც ავტორები ხსნიან ამ პათოლოგიებისათვის დამახასიათებელი ეპისტატიკური ძვრებით - ქრომატინის სპეციფიკური ცვალებადობით (Jokhadze et al., 2005).

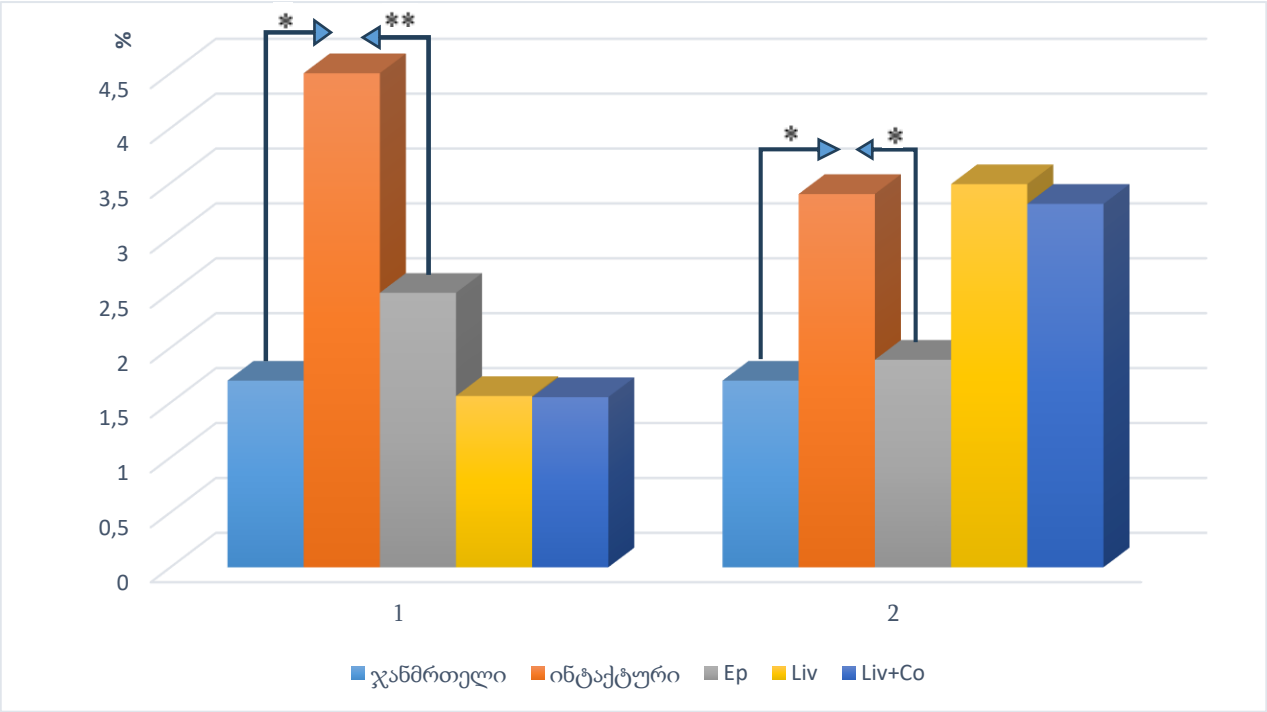
ცნობილია, რომ აბერაციათა ფორმირება, ძირითადად ქრომოსომათა ჰეტეროქრომატულ უბნებში ხდება, ამდენად, აბერაციათა სიხშირის მატება პათოლოგიების შემთხვევაში ქრომატინის გაზრდილი ჰეტეროქრომატინიზაციის შედეგს უნდა წარმოადგენდეს. შესაბამისად, ჩვენს მიერ მიღებული შედეგებიც მოწმობენ, რომ ფტ-ს ორივე ფორმის დროს ადგილი აქვს ჰეტეროქრომატინიზაციის მატებით განპირობებულ ეპიგენეტიკურ ცვალებადობას.

ცხრ.4.4.1 აბერაციების შემცველი მეტაფაზების, ანეუპლოიდიის, პოლიპლოიდიის პროცენტული მაჩვენებელი ფტ სენსიტიური ფორმით დაავადებულ ინდივიდთა ლიმფოციტურ კულტურებში

ცდის ვარიანტი	უჯრედები ანეუპლოიდიით,%±m	პოლიპლოიდური უჯრედები,%±m	აბერაციები,%±m
ჯანმრთელი	6,0±0,9	0,1±0,01	1,7±0,5
სენსიტიური ინტაქტური	7,14±0,6	1,47±0,1	4.5±0.7
სენსიტიური Ep	5,16±0,8	0,94±0,15	2.5±0,5
სენსიტიური Liv	5,65±1,02	0,81±0,2	1,56±0,5
სენსიტიური Liv+Co	5,67±0,8	1,03±0,2	1,55±0,4

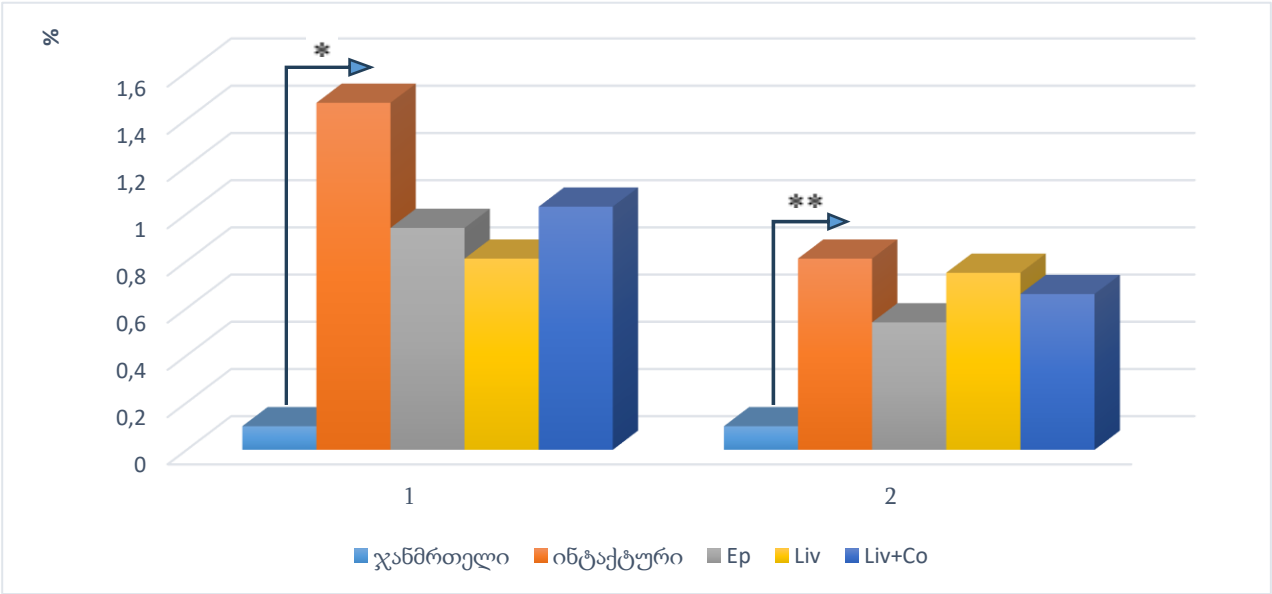
ცხრ.4.4.2 აბერაციების შემცველი მეტაფაზების, ანეუპლოიდიის, პოლიპლოიდიის პროცენტული მაჩვენებელი ფტ რეზისტენტული ფორმით დაავადებულ ინდივიდთა ლიმფოციტურ კულტურებში

ცდის ვარიანტი	უჯრედები ანეუპლოიდიით,%±m	პოლიპლოიდური უჯრედები,%±m	აბერაციები,%±m
ჯანმრთელი	6,0±0,9	0,1±0,01	1,7±0,5
რეზისტენტული ინტაქტური	6,49±0,6	0,81±0,2	3,4±0,4
რეზისტენტული Ep	5,65±0,6	0,54±0,1	1,89±0,3
რეზისტენტული Liv	5,74±0,6	0,75±0,2	3,49±0,4
რეზისტენტული Liv+Co	5,96±0,68	0,66±0,2	3,31±0,3



სურ.4.4.1 აბერაციების პროცენტული მაჩვენებელი ფტ სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმით დაავადებულ ინდივიდთა ლიმფოციტურ კულტურებში

1- სენსიტიური ფტ; 2 - რეზისტენტული ფტ; *p<0.05; ** p<0.5



სურ. 4.4.2 პოლიპლოიდიური უჯრედების პროცენტული მაჩვენებელი ფტ სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმით დაავადებულ ინდივიდთა ლიმფოციტურ კულტურებში

1- სენსიტიური ფტ; 2-რეზისტენტული ფტ; * p<0.001, ** p<0.05

ეპიტალონის, ლივაგენისა და ლივაგენი+Co-ს გავლენა გენომის სტაბილურობის დონეზე ფტ-ს რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმებით დაავადებულთა ლიმფოციტებზე

ზოგადი გენომური არასტაბილურობა განაპირობებს როგორც უჯრედული, ისე ორგანიზმული ჰომეოსტაზის დარღვევას, იმუნური სტატუსის მკვეთრ დაქვეითებას.

ნაჩვენებია, რომ ანთებითი პროცესები ცვლიან უჯრედთა მუტაბელურობას. დაავადებებისას ლიმფოციტებში დნმ-ს რეპარაციის უნარის დაქვეითება და მათში დნმ-ს დაზიანებების დაგროვება წარმოადგენს მიზეზს იმუნოკომპეტენტური უჯრედების ფუნქციის დაკარგვისა, რაც იწვევს დაავადებულებში იმუნოლოგიურ უკმარისობას (Thomas et al., 2003; Cowley et al., 2020). ამრიგად, ჰომეოსტაზის შენარჩუნების იმუნოლოგიური მექანიზმი არის წარმოებული დნმ-ის რეპარაციის სისტემისა, ანუ გენოჰომეოსტაზისა.

დნმ-ის რეპარაციის პროცესების აქტივობის დაქვეითება რიგი პათოლოგიების დროს და აგრეთვე, ამით განპირობებული მუტაბელურობის დონის ზრდა მიზანშეწონილს ხდის ამ დაავადებების დროს ისეთი ნაერთების გამოყენებას, რომელთაც გააჩნიათ დნმ-ის რეპარაციის აქტივიზაციის უნარი. ასეთი პრეპარატების გამოყენება წარმოაჩენს მემკვიდრული წინასწარგანწყობის მულტიფაქტორული დაავადებების პროფილაქტიკის კიდევ ერთ გზას (Khavinson et al., 2003,2014)

ცნობილია, რომ გენომური (ან ქრომოსომული) არასტაბილურობის წინაპირობაა ქრომატინის მოდიფიკაციური ცვალებადობა, რაც, ზოგ შემთხვევაში, შესაძლოა შექცევად ხასიათს ატარებდეს. შესაბამისად, იმ საშუალებათა ძიებას, რომლებსაც ფილტვის ტუბერკულოზის დროს შეცვლილი ქრომატინის კორექციისა და გენომის ნორმალური ფუნქციონირების აღდგენის უნარი ექნებათ, პირველხარისხოვანი მნიშვნელობა ენიჭებათ.

კვლევის წინა ეტაპზე დადგენილი იყო, რომ ფტ-ით დაავადებულთა უჯრედებისათვის დამახასიათებელია გენომის სტაბილურობის დონის მნიშვნელოვანი დაქვეითება, რაც ქრომოსომათა სტრუქტურული და რაოდენობრივი (პოლიპლოიდია) დარღვევების მაღალ სიხშირეში აისახა.

პარალელურად ჩატარდა ფტ-ის სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმით დაავადებულების კულტურათა უჯრედებში ქრომატინის მამოდიფიცირებელი აგენტების-პეპტიდური ბიორეგულატორების-ეპიტალონის, ლივაგენის და ლივაგენისა და კობალტის იონების კომბინირებული მოქმედების შესწავლა.

ცნობილია, რომ პეპტიდური ბიორეგულატორების მაკორეგირებელი მოქმედება, შესაძლოა გაიზარდოს გარკვეულ მძიმე მეტალებთან კომბინირებული მოქმედებისას, რაც დაზიანებული გენომის აღდგენისათვის ზემოქმედების უკეთესი ვარიანტების შერჩევის შესაძლებლობას იძლევა.

ბიორეგულატორების ეპიტალონის და ლივაგენის საკუთარი განმხოლოებული ზემოქმედების და ლივაგენის მძიმე მეტალთან (Co)კომბინაციაში, ეფექტი შეისწავლებოდა დაავადებულთა კულტურალურ უჯრედებში, კერძოდ, აღირიცხებოდა ქრომოსომათა სტრუქტურული აბერაციებისა და რაოდენობრივი დარღვევების (ანეუპლოიდია და პოლიპლოიდია) შემცველ უჯრედთა სიხშირეები. აღმოჩნდა, რომ ეპიტალონის განმხოლოებული ზემოქმედებისას დარეგისტრირებულ აბერანტულ უჯრედთა სიხშირემ

სენსიტიური ფორმისას შეადგინა 2.5±0,5% (ჯანმრთელ ინდივიდთა საკონტროლო მაჩვენებელი-1,7±0,5%), შესაბამისად, ტესტირებულმა ბიორეგულატორმა (ეპიტალონი) პროტექტორული მოქმედება გამოავლინა ფტ-ის სენსიტიური ფორმით დაავადებულთა კულტურებში-სარწმუნოდ დააქვეითა ინტაქტური კულტურებისათვის დაფიქსირებული მაჩვენებელი (ინტაქტური 4.5±0.7) (ცხრ.4.4.1.). რაც შეეხება რეზისტენტული ფორმით დაავადებულთა კულტურებზე გამოცდისას ეპიტალონმა ასევე გამოავლინა პროტექტორული მოქმედება (ცხრ.4.4.2). დააქვეითა ინტაქტური კულტურებისათვის დაფიქსირებული მაჩვენებელი (3,4±0,4% ინტაქტური კულტურებისათვის; ეპიტალონით ზემოქმედებისას-1,89±0,3%). საინტერესოა, რომ ტესტირებული ბიორეგულატორული აგენტები განსხვავებულ ეფექტს ავლენდნენ რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმით დაავადებულთა ლიმფოციტურ კულტურებში, კერძოდ, რეზისტენტული ფორმის შემთხვევაში პროტექტორული ზემოქმედება გამოავლინა მხოლოდ ეპიტალონმა, ხოლო სენსიტიური ფორმის დროს ყველა გამოყენებული მოდიფიკატორის შემთხვევაში გამოვლინდა მაკორეგირებელი ეფექტი. კერძოდ, სენსიტიური ფორმის დროს ლივაგენის როგორც განმხოლოებული მოქმედებისას, ისე კობალტის იონებთან კომბინაციაში აბერაციების შემცველი უჯრედების სიხშირემ სარწმუნოდ დაიკლო და ფაქტიურად, საკონტროლო მაჩვენებელს გაუტოლდა (1,56±0.5% განმხოლოებული და 1,55±0,4% კომბინაციური ზემოქმედებისას; კონტროლში-1,7±0,5%), შესაბამისად, გამოვლინდა პროტექტორული ეფექტი. აღნიშნულ ბიორეგულატორულ აგენტებს ქრომოსომული აბერაციების მაჩვენებელზე ფტ-ს რეზისტენტული ფორმით დაავადებულთა ლიმფოციტურ კულტურებზე ზემოქმედებისას პროტექტორული მოქმედება არ გამოუვლენიათ. გამოვლენილი განსხვავება რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმით დაავადებულთა ლიმფოციტურ კულტურებზე, ბიორეგულატორებით მოქმედებისას მეტყველებს იმაზე, რომ ფტ რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმით დაავადებულთა უჯრედები განსხვავებულ მოდელურ უჯრედულ სისტემას უნდა წარმოადგენდნენ.

არსებობს მრავალრიცხოვანი მონაცემი ამა თუ იმ ნაერთის ანტიმუტაგენური, პროტექტორული მოქმედების შესახებ, რომლებიც მაკორეგირებელ გავლენას ახდენენ უჯრედებში მიმდინარე კარდინალურ ზოგად პროცესებზე, პირველ რიგში, რეპარაციაზე. (Khavinson et al., 2003,2014). ქრომატინის სტრუქტურის ცვლილებები მნიშვნელოვან გავლენას ახდენენ რეპარაციის ეფექტურობაზე იმდენად, რამდენადაც ამ ცვლილებების ხასიათზეა დამოკიდებული ქრომატინის წვდომადობა რეპარაციის ფერმენტებისათვის. რეპარაცია მიმდინარეობს „გახსნილი“ დეჰეტეროქრომატინიზირებული ქრომატინის პირობებში. აღნიშნულის საფუძველზე შეიძლება დავასკვნათ, რომ ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები ქრომოსომულ აბერაციათა სიხშირის კლებისა, განპირობებული უნდა იყოს ქრომატინზე ეპიტალონის მადეკონდენსირებელი მოქმედებით.

ეს მონაცემები მიუთითებენ იმაზე, რომ უჯრედულ კულტურათა სხვადასხვა მოდელურ სისტემებში სხვადასხვა აგენტებს აქვთ ზემოქმედების მათთვის სპეციფიკური საიტები.

გენომის მდგომარეობის მნიშვნელოვან მაჩვენებელს წარმოადგენს ქრომოსომათა რიცხობრივი დარღვევები. ანეუპლოიდიის შემთხვევაში ისინი ცენტრომერული ჰეტეროქრომატინის ცვალებადობაზე მიუთითებენ, რადგან სწორედ ცენტრომეროსთან არის დაკავშირებული ქრომოსომათა სეგრეგაციის სიზუსტე მიტოზის დროს.

ქრომოსომათა რაოდენობრივი დარღვევების - ანეუპლოიდიის ანალიზის შედეგებით ფტ-ით დაავადებულთა ორივე ფორმის დროს შეინიშნება მსგავსება. როგორც სენსიტიური ისე რეზისტენტული ფორმის შემთხვევაში ქრომოსომათა ანეუპლოიდური რაოდენობის შემცველ უჯრედთა პროცენტულმა შემცველობამ ბიორეგულატორების (ლივაგენი, ეპიტალონი) და მძიმე მეტალთან კომბინაციაში (ლივაგენი+Co) დამატებისას გამოავლინა კლების ტენდენცია.

შესწავლილ იქნა გენომის რაოდენობრივი დარღვევების სხვა მაჩვენებელზე ბიორეგულატორის-ეპიტალონის, ლივაგენის და ლივაგენისა და მძიმე მეტალის (კობალტის) ზეგავლენა. ზოგადად პოლიპლოიდიის დონე ფტ-ით დაავადებულებში, მნიშვნელოვნად აღემატება (პოლიპლოიდურ უჯრედთა სიხშირე ფტ სენსიტიური ფორმის ინტაქტურ კულტურებში-1,47±0,1; რეზისტენტული ფორმის ინტაქტურ კულტურებში-0,81±0,2) ჯანმრთელ ინდივიდთა ინტაქტური კულტურების მაჩვენებელს (0,1±0,01). პეპტიდური ბიორეგულატორები დაავადებულ ინდივიდებში ახდენს ამ მაჩვენებლის რიცხვის რამდენადმე შემცირებას, თუმცა ნორმასთან შედარებით მომატებული რჩება (სურ.4.4.2, ცხრ.4.4.1; ცხრ.4.4.2).

გენომის სტაბილურობის დონის ინდიკატორად ჩვენს მიერ ქრომოსომათა სტრუქტურული და რაოდენობრივი დარღვევების მაჩვენებლის გარდა გამოყენებული იყო ფილტვის ტუბერკულოზით (სენსიტიური და რეზისტენტული) დაავადებულთა ლიმფოციტური კულტურების უჯრედებში ქრომოსომათა ფრაგილური საიტების აღრიცხვის ტესტი. ციტოგენეტიკურ კვლევებში გამოყენებული ქრომოსომათა სტრუქტურული აბერაციების ცნობილი ტიპების გარდა პათოლოგიების შემთხვევაში და გენეტიკურ აპარატზე მიზანმიმართული დამაზიანებელი ზემოქმედებისას გენომის არასტაბილურობის მნიშვნელოვან მახასიათებელს წარმოადგენს ქრომოსომათა ე.წ. „ფრაგილური“, მსხვრევადი უბნები. ეს ქრომოსომების ის უბნებია, რომლებშიც ლოკალიზებულია მიკროსატელიტური გამეორებადობები. სატელიტური გამეორებადობების სხვა კლასებისაგან განსხვავებით მიკროსატელიტური გამეორებადობები ეუკარიოტების მთელ გენომშია განაწილებული და რიგ შემთხვევებში ექვემდებარება ექსპანსიას - ანუ ადგილი აქვს მათი გამეორებადობების სიხშირის ზრდას, რასაც დინამიურ მუტაციას უწოდებენ, და რაც, ქრომოსომის გაზრდილი მსხვრევადობის - ფრაგილურობის მიზეზი ხდება. მიკროსკოპული ანალიზისას ეს საიტები ქრომოსომებზე ვლინდება შეუღებავი ზოლების (გეპების) ან დაუსრულებელი წყვეტების სახით, და ამდენად, აღრიცხვას ექვემდებარება.

ფრაგილური საიტების ლოკუსები ქრომოსომებზე მოწესრიგებულად არის განლაგებული და, როგორც აღინიშნა, სხვა საიტებთან შედარებით უფრო მგრძნობიარეა გენეტიკური სტრუქტურის ცვლილების თვალსაზრისით. აღსანიშნავია, რომ ფრაგილური საიტები ქრომოსომათა მოდიფიცირებულ უბნებში ვლინდება, ამდენად, ქრომატინის ლოკალური ცვალებადობის სპეციფიკური ლოკუსების გამოვლენის საშუალებას იძლევა.

ფრაგილური საიტების შესწავლა პათოლოგიების შემთხვევაში პერსპექტიულია იმ თვალსაზრისითაც, რომ იძლევა ქრომატინში მიმდინარე მოცემული პათოლოგიისათვის სპეციფიკური ეპიგენეზური ცვლილებების გამოვლენის საშუალებას.

მონაცემები, რომლებიც მიუთითებენ ქრომოსომათა ფრაგილური საიტების შემცველი უჯრედების სიხშირის ცვალებადობაზე ფილტვის ტუბერკულოზით (რეზისტენტული, სენსიტიური) დაავადებულ ინდივიდთა ინტაქტური ლიმფოციტური კულტურების უჯრედებში, წარმოდგენილია ცხრ.4.4.3; 4.4.4. ეს მაჩვენებელი საკონტროლოსთან შედარებით გაზრდილი იყო როგორც სენსიტიური (6,86±0,6), ასევე რეზისტენტული (6,83±0,7) ფორმით დაავადებულთა შემთხვევაში (0.6±0,3 - კონტროლში).

მიღებული შედეგებიც,ზოგადად, ტუბერკულოზით დაავადებულთა უჯრედებისათვის დამახასიათებელ გენომის არასტაბილურობაზე მიუთითებენ. მსგავსი მონაცემები მემკვიდრული წინასწარგანწყობის პათოლოგიებისას ქრომოსომათა ფრაგილურობის ზრდასთან დაკავშირებით მიღებულია სხვა ავტორთა შრომებშიც (Kadotani, Watanabe, 1999; Dadunashvili and Jokhadze, 2003; Lezhava et al., 2007).

ბიორეგულატორების მამოდიფიცირებელი მოქმედება ქრომოსომათა ფრაგილურობაზე ფტ-თი დაავადებულთა კულტურალურ უჯრედებში.

შესწავლილ იქნა ბიორეგულატორების: ეპიტალონი, ლივაგენი და ლივაგენი+ Co-ის კომბინაციის გავლენა ფტ-ს რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმებით დაავადებულთა კულტურალურ ლიმფოციტების ქრომოსომათა ფრაგილურ საიტებზე. ამ ტესტის მიხედვით როგორც რეზისტენტული, ისე სენსიტიური ფორმებით დაავადებულთა კულტურებში ეპიტალონისა და ლივაგენი+ Co-ის კომბინაციის მოქმედება ინტაქტურ კულტურებისათვის დაფიქსირებულ ფრაგილური საიტების სიხშირის მაჩვენებელს პრაქტიკულად არ ცვლიდა. განსხვავებული იყო ლივაგენის განმხოლოებული მოქმედების შედეგი, რომელიც სტატისტიკურად სარწმუნოდ ზრდიდა ქრომოსომათა ფრაგილურობის მაჩვენებელს ინტაქტურ კულტურებთან შედარებით (ცხრ.4.4.3;4.4.4, სურ 4.4.3).

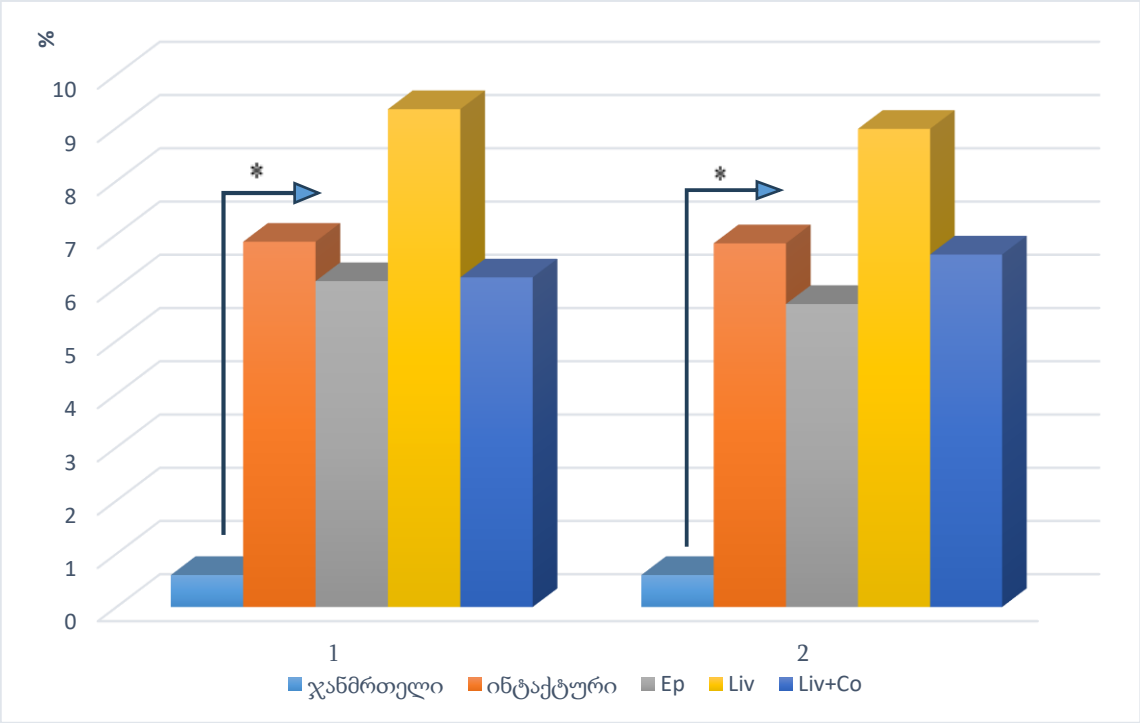
როგორც უკვე აღინიშნა, ფრაგილური საიტები უპირატესად ვლინდება ქრომატინის მოდიფიკაციის პირობებში. ფტ-ს რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმებისას მოდიფიკაციის საიტების ცვალებადობის აღრიცხვის მიზნით ჩატარდა მათი განაწილების შესწავლა ქრომოსომებზე მათი ლოკალიზაციისა და ქრომოსომულ ჯგუფებში განაწილების მიხედვით. როგორც ცნობილია, ფრაგილური საიტები ძირითადად ქრომოსომათა მედიალურ უბნებში აღირიცხება. ჩვენს მიერ ჩატარებული ანალიზის შედეგადაც ჯანმრთელ ინდივიდთა საკონტროლო ჯგუფის ქრომოსომებში მათი უდიდესი ნაწილი-75,2±4,1%, მედიალურ უბნებში გამოვლინდა, გაცილებით დაბალი სიხშირით-ცენტრომერულ და ტელომერულ უბნებში. მედიალური და ცენტრომერული ფრაგილური საიტების პროცენტული თანაფარდობა მნიშვნელოვნად დარღვეული აღმოჩნდა ფტ-ს როგორც რეზისტენტული, ისე სენსიტიური ფორმების დროს (ცხრ.4.4.3;4.4.4, სურ.4.4.4;4.4.5). კერძოდ, შეინიშნებოდა ცენტრომერული ლოკალიზაციის მქონე ფრაგილური საიტების პროცენტული წილის ზრდა, (რეზისტენტული ფორმისას-50±4,8%; სენსიტიურის დროს-67,5±3,6% საიტების საერთო რაოდენობიდან; კონტროლში-20.0±3,88%), რაც, ძირითადად, მედიალური საიტების დონის დაქვეითების ფონზე ხდებოდა. ზოგადად, ქრომოსომებზე ფრაგილური საიტების ფორმირების ბუნებიდან გამომდინარე, მათი ლოკალიზაციის ტესტის მიხედვით ფტ-ს რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმების შესწავლის შედეგები მიუთითებენ, რომ ამ ფორმების დროს ადგილი უნდა ჰქონდეს ქრომატინის სპეციფიკურ მოდიფიკაციას.

ცხრ.4.4.3 უჯრედები ფრაგილური საიტებით(%) და ფრაგილური საიტები(% საიტების საერთო რაოდენობიდან) სენსიტიური ფორმით დაავადებულთა ინტაქტურ კულტურებში და ბიორეგულატორებით ზემოქმედებისას

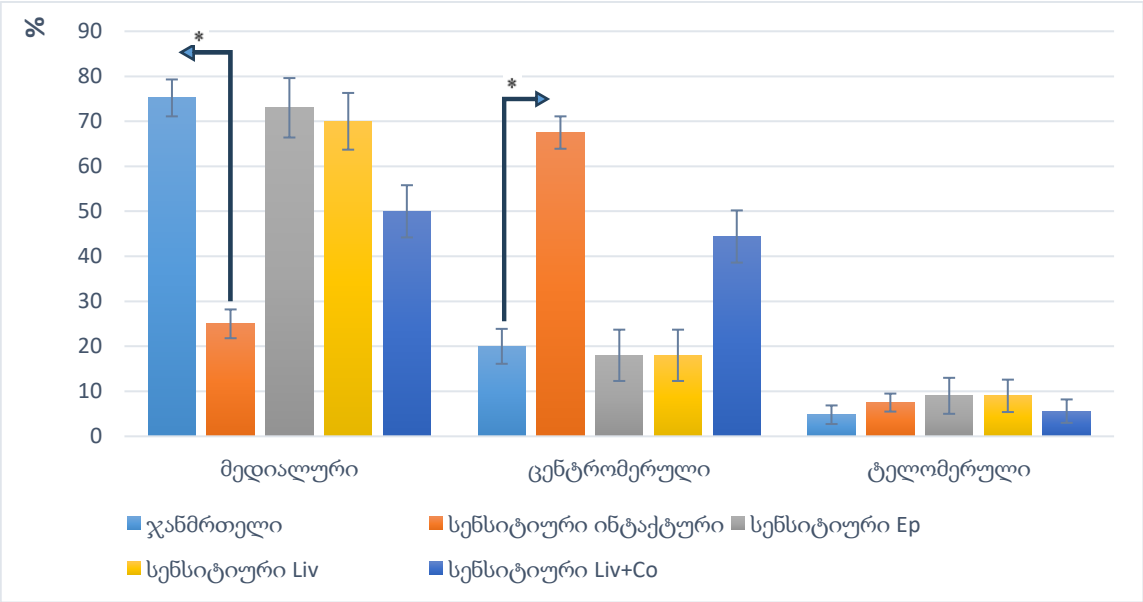
ცდის ვარიანტი	უჯრედები ფრაგილური საიტებით, %±m	ფრაგილური საიტები (% საიტების საერთო რაოდენობიდან)		
		მედიალური	ცენტრომერული	ტელომერული
ჯანმრთელი	0,6±0,3	75,2±4,1	20±3,88	4,8±2,07
სენსიტიური ინტაქტური	6,86±0,6	25±3,2	67,5±3,6	7,5±2,0
სენსიტიური Ep	6,12±1,2	73±6,6	18±5,7	9±4,0
სენსიტიური Liv	9,35±1,4	70±6,3	22,3±5,7	7,7±3,6
სენსიტიური Liv+Co	6,19±0,8	50±5,8	44,4±5,8	5,6±2,6

ცხრ.4.4.4 უჯრედები ფრაგილური საიტებით(%) და ფრაგილური საიტები(% საიტების საერთო რაოდენობიდან) რეზისტენტული ფორმით დაავადებულთა ინტაქტურ კულტურებში და ბიორეგულატორებით ზემოქმედებისას

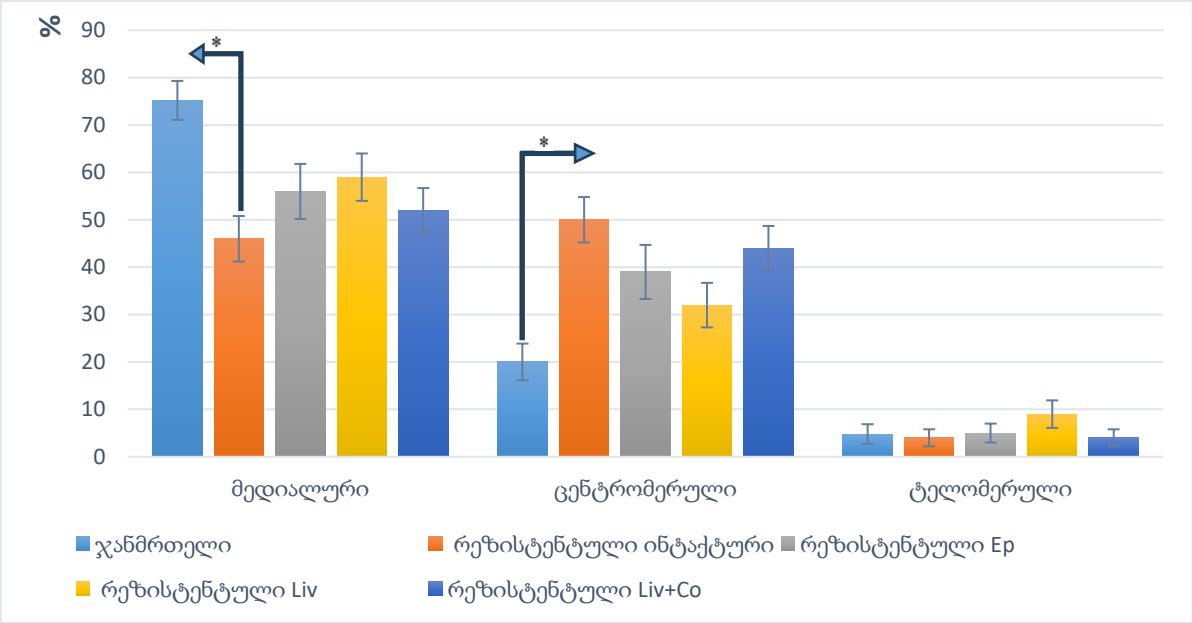
ცდის ვარიანტი	უჯრედები ფრაგილური საიტებით, %±m	ფრაგილური საიტები (% საიტების საერთო რაოდენობიდან)		
		მედიალური	ცენტრომერული	ტელომერული
ჯანმრთელი	0,6±0,3	75,2±4,1	20±3,88	4,8±2,07
რეზისტენტული ინტაქტური	6,83±0,7	46±4,8	50±4,8	4±1,8
რეზისტენტული Ep	5,69±0,7	56±5,8	39±5,7	5±2,0
რეზისტენტული Liv	8,98±1,09	59±5,0	32±4,7	9±2,9
რეზისტენტული Liv+Co	6,62±0,7	52±4,7	44±4,7	4±1,8



სურ.4.4.3 უჯრედები ფრაგილური საიტებით(%) რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმით დაავადებულთა ინტაქტურ კულტურებში და ბიორეგულატორებით ზემოქმედებისას.
1- სენსიტიური ფტბ; 2-რეზისტენტული ფტბ; * $p<0.001$



სურ.4.4.4 ფრაგილური საიტების რ-ბა ლოკალიზაციის მიხედვით (% საიტების საერთო რაოდენობიდან) სენსიტიური ფორმით დაავადებულთა ინტაქტურ კულტურებში და ბიორეგულატორებით ზემოქმედებისას. * $p<0.001$



სურ.4.4.5 ფრაგილური საიტების რაოდენობა ლოკალიზაციის მიხედვით (% საიტების საერთო რაოდენობიდან) რეზისტენტული ფორმით დაავადებულთა ინტაქტურ კულტურებში და ბიორეგულატორებით ზემოქმედებისას. * $p<0.05$

როგორც რეზისტენტულ, ასევე სენსიტიურ ფორმებში, ყველა გამოყენებული აგენტის (ბიორეგულატორები - ეპიტალონი, ლივაგენი, ლივაგენი+Co) ზემოქმედებისას, გაიზარდა მედიალური საიტების, და შემცირდა ცენტრომერული საიტების სიხშირე. განსაკუთრებულად ეფექტური ამ თვალსაზრისით აღმოჩნდა ეპიტალონი, რომლის ზემოქმედებითაც ფტ-ს სენსიტიური ფორმისას მედიალური ფრაგილური საიტების პროცენტული მაჩვენებელი პრაქტიკულად გაუთანაბრდა საკონტროლო ჯგუფის უჯრედებში დაფიქსირებულ ანალოგიურ მაჩვენებელს (ცხრ.4.4.3;4.4.4, სურ. 4.4.4;4.4.5).

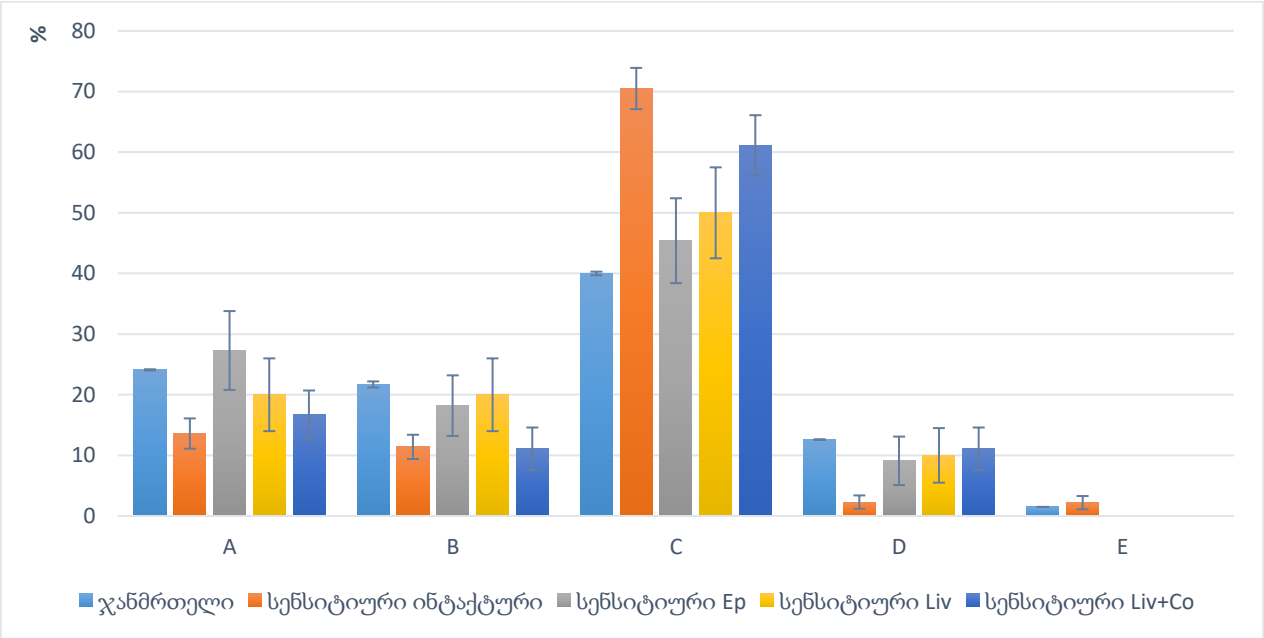
კვლევას დაექვემდებარა ფრაგილური საიტების განაწილების შესწავლა ქრომოსომული ჯგუფების მიხედვით ფტ რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმით დაავადებულთა როგორც ინტაქტურ კულტურებში, ასევე მამოდიფიცირებელი ფაქტორების ზეგავლენის დროს. საკონტროლო და ფტ-ს რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმებით დაავადებულთა ინტაქტურ კულტურებში ფრაგილური საიტები ყველაზე მაღალი სიხშირით აღირიცხა C ჯგუფის ქრომოსომებზე (რაც მოსალოდნელი იყო, რადგან ეს ჯგუფი ყველაზე მრავალრიცხოვანია) (ცხრ.4.4.5, სურ. 4.4.6,4.4.7). მაქსიმუმს C ჯგუფისათვის ამ მაჩვენებელმა ფტ-ს სენსიტიური ფორმის დროს მიაღწია 70,5±3,4%; (საკონტროლო ჯგუფისათვის-40±0,3%; რეზისტენტული ფორმის დროს-38,6±4,6%) და შესაბამისად, სტატისტიკურად სარწმუნოდ განსხვავდებოდა არა მხოლოდ საკონტროლო, არამედ რეზისტენტული ჯგუფების მაჩვენებლებისგან. ფტ-ს რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმების ინტაქტურ ვარიანტებს შორის ამ ტესტის მიხედვით გამოვლენილი სხვაობა დაკავშირებული იყო A ჯგუფის ქრომოსომებთანაც, მათზე ლოკალიზებული ფრაგილური საიტების სიხშირე რეზისტენტული ფორმის დროს იყო მომატებული (34,6±4,6), ხოლო სენსიტიურის დროს

დაქვეითებული (13,6±2,5), საკონტროლო ჯგუფში-24,1±0,1. B ჯგუფის ქრომოსომებზე ფრაგილური საიტების ლოკალიზაციის სიხშირე სტატისტიკურად სარწმუნოდ დაქვეითდა საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით ფტ-ს ორივე შესწავლილი ფორმისათვის. ფტ-ს ორივე ფორმით დაავადებულთა ინტაქტურ კულტურათა უჯრედები ასევე განსხვავდებოდნენ D ჯგუფის ქრომოსომებზე ფრაგილური საიტების გამოვლენის სიხშირით (სენსიტიური 2,3±1,1%; კონტროლში და ფტ-ს რეზისტენტულ ფორმაში-12,6±0,05% და 11,5±3,1%, შესაბამისად).

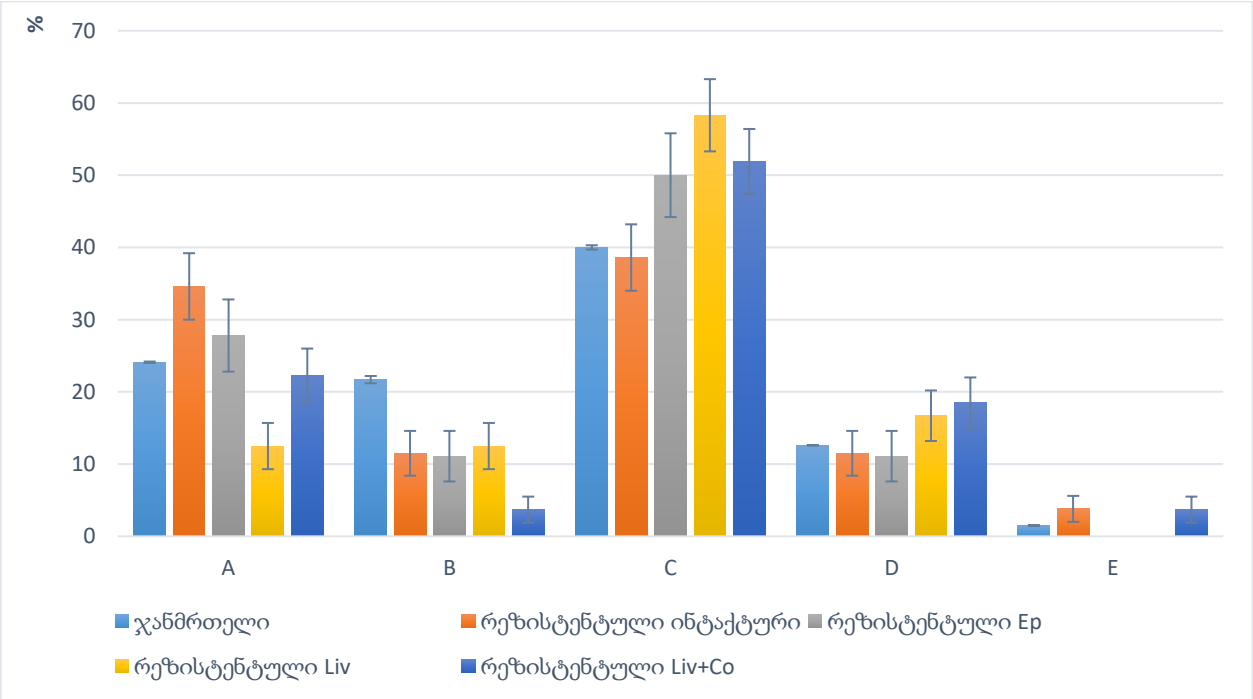
რაც შეეხება მოდიფიკატორების გავლენას სხვადასხვა ჯგუფის ქრომოსომებზე ლოკალიზებული ფრაგილური საიტების აღრიცხვის სიხშირეზე, იგი განსხვავებული აღმოჩნდა როგორც ტესტირებული მოდიფიკატორის, ისე ფტ-თი დაავადების ვარიანტების მიხედვით (ცხრ.4.4.5, სურ.4.4.6;4.4.7), რაც მოზაიკურ სურათს ქმნიდა და შესაბამისად იძლეოდა იმ ვარაუდის გამოთქმის შესაძლებლობას, რომ ფტ-ს შესწავლილ ფორმებისას ცალკეული ჯგუფის ქრომოსომების დაზიანებადობა განსხვავებულია როგორც პათოლოგიის ფორმის, ისე ზემოქმედების აგენტის მიხედვითაც.

ცხრ.4.4.5. ფრაგილური საიტების განაწილება ქრომოსომული ჯგუფების მიხედვით, ფტ სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმით დაავადებულთა ინტაქტურ კულტურებში და ბიორეგულატორებით მოქმედებისას

ცდის პირობა	A	B	C	D	E	F	G
ჯანმრთელი	24,1±0,1	21,7±0,5	40±0,3	12,6±0,05	1,5±0,01	------	------
სენსიტიური ინტაქტური	13,6±2,5	11,4±2,0	70,5±3,4	2,3±1,1	2,2±1,1		
სენსიტიური Ep	27,3±6,5	18,2±5,0	45,4±7,0	9,1±4,0			
სენსიტიური Liv	20±6,0	20±6,0	50±7,5	10±4,5			
სენსიტიური Liv+Co	16,7±4,0	11,1±3,5	61,1±5,0	11,1±3,5			
რეზისტენტული ინტაქტური	34,6±4,6	11,5±3,1	38,6±4,6	11,5±3,1	3,8±1,8	------	------
რეზისტენტულიEp	27,8±5,0	11,1±3,5	50,0±5,8	11,1±3,5	------	------	------
რეზისტენტულიLiv	12,5±3,2	12,5±3,2	58,3±5,0	16,7±3,5	------	------	------
რეზისტენტულიLiv+Co	22,2±3,8	3,7±1,8	51,9±4,5	18,5±3,5	3,7±1,8	------	------



სურ. 4.4.6 ფრაგილური საიტების განაწილება ქრომოსომული ჯგუფების მიხედვით, ფტ სენსიტიური ფორმით დაავადებულთა ინტაქტურ კულტურებში და ბიორეგულატორებით მოქმედებისას



სურ. 4.4.7 ფრაგილური საიტების განაწილება ქრომოსომული ჯგუფების მიხედვით, ფტ რეზისტენტული ფორმით დაავადებულთა ინტაქტურ კულტურებში და ბიორეგულატორებით მოქმედებისას

ამრიგად, წინამდებარე თავებში წარმოდგენილი ფტ-ს რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმებით დაავადებულთა ლიმფოციტების გენომის ფუნქციური მახასიათებლების - ქრომოსომათა აბერაციების, ქრომოსომათა ფრაგილურობის, შქგ-ს, ზოგადი ქრომატინის, რიბოსომული გენების აქტივობის დონის სპეციფიკური ვარიაბელურობა საშუალებას გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ ჩამოთვლილ პარამეტრთა ცვალებადობა ჰეტეროქრომატინიზაციით არის განპირობებული.

ჩვენს მიერ ცდებში ტესტირებული ყველა აგენტის მაკორეგირებელ მოქმედებას საფუძვლად უდევს მათთვის დამახასიათებელი ქრომატინის მადეკონდენსირებელი უნარი და ეპიგენეზური რეგულაციის მაჩვენებელს წარმოადგენს. შესაბამისად, ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები მიუთითებენ ეპიგენეზური რეგულაციის ცვალებად ხასიათზე ფტ-ს ორი შესწავლილი ფორმის დროს.

ფტ-ს რეზისტენტული და სენსიტიური ფორმების ქრომოსომული პარამეტრების (ქრომოსომათა სტრუქტურულ-რაოდენობრივი დარღვევების, ფრაგილური საიტებისა და შქგ-ს სიხშირეები) შესწავლის შედეგად მიღებული მონაცემები მოწმობენ, რომ: 1. ქრომოსომები მკაფიოდ გამოხატულ ინდივიდუალობას ავლენენ პათოლოგიის მოცემული ფორმით ინდუცირებულ ჰომეოსტატიკურ ძვრებზე (რასაც სპეციფიკური ხასიათი აქვს), და, აგრეთვე ინდივიდუალურად რეაგირებენ ქრომატინის მამოდიფიცირებელი ბიორეგულატორებით ზემოქმედებაზე; 2. ჩვენს მიერ ტესტირებულ ბიორეგულატორებს (ეპიტალონი, ლივაგენი და ლივაგენ+Co-ის კომბინაცია) მათთვის დამახასიათებელი სპეციფიკური სამიზნეები აქვთ გენომში.

5. დასკვნები

1. დიფერენციული სკანირების მიკროკალორიმეტრიული და შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლების მეთოდებით მიღებული შედეგები მიუთითებენ გენომის ჰეტეროქრომატინიზაციის დონის მატებაზე ფტ-თი დაავადებულ პაციენტებში.

2. ფილტვის ტუბერკულოზის სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმები ხასიათდება რიბოსომული გენების ექსპრესიის დონის დაქვეითებით და ასოციაციური აქტივობის შემცირებით საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით.

3. ბიორეგულატორების (ეპიტალონი, ლივაგენი, ლივაგენი+კობალტი) გავლენა ცალკეულ აკროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაციურ აქტივობაზე ფტ-ს სენსიტიურ და რეზისტენტულ ფორმებში შერჩევით ხასიათს ატარებს (კერძოდ, სენსიტიური ფორმისას გაზრდილია 13 ქრომატიდების და შემცირებულია 21 ქრომატიდების აქტივობა; რეზისტენტულის შემთხვევაში - გაზრდილია 13 და შემცირებულია 14, 15 ქრომატიდების აქტივობა). შესწავლილი აგენტები სპეციფიკურ მოქმედებას ავლენენ ასოციაციათა ტიპების სიხშირის ცვალებადობაზეც.

4. GSTT1 და GSTM1 გენებისათვის დაფიქსირებული ორივე გენის ნულოვანი ვარიანტის მატარებლობის მაღალი სიხშირე ფტ-თი დაავადებულ პაციენტებში, ჯანმრთელ ინდივიდებთან შედარებით, მიუთითებს გენოტიპის როლზე ფტ-ს განვითარებაში.

5. ფტ-ს სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმებით დაავადებულებისათვის დამახასიათებელია გენომური არასტაბილურობის მაღალი დონე; ბიორეგულატორები - ეპიტალონი, ლივაგენი, ლივაგენი+კობალტი, დარღვეული გენომური პარამეტრების (ქრომოსომათა სტრუქტურულ-რაოდენობრივი დარღვევებისა და ფრაგილური საიტების სიხშირის ცვალებადობა) კორექციის უნარით ხასიათდებიან - ახდენენ ნორმასთან მათ დაახლოებას.

რეკომენდაცია

სადისერტაციო ნაშრომის ფარგლებში მიღებულ შედეგებს აქვს პრაქტიკული მნიშვნელობა პერსონალიზებული მედიცინისათვის და შესაძლოა გათვალისწინებული იყოს ფტ-ს სენსიტიური და რეზისტენტული ფორმებით დაავადებულთა მკურნალობის სტრატეგიის განსაზღვრის დროს.

სადისერტაციო ნაშრომის ფარგლებში გამოქვეყნებული სტატიები, საერთაშორისო მაღალრეიტინგულ ჟურნალებში:

1. თ. ლეჟავა, თ ჯოხაძე,ჯ. მონასელიძე, თ. ბუაძე, მ. გაიოზიშვილი, თ. სიგუა, ი. ხუჯაძე, **ქ. გოგიძე,** ნ. მიქაია, ნ. ჩიღვინაძე, EPIGENETIC MODIFICATION UNDER THE INFLUENCE OF PEPTIDE BIOREGULATORS ON THE "OLD" CHROMATIN", Georgian Medical News, No 2 (335), P.79-83, 2023;

2. თ. ლეჟავა, თ. ბუაძე, თ. ჯოხაძე, ჯ. მონასელიძე, მ.გაიოზიშვილი, **ქ. რუბანოვი,** ნ. ქირია, Normalization of Epigenetic Change in the Genome by Peptide Bioregulator (Ala–Glu–Asp–Gly) in Pulmonary Tuberculosis, International Journal of Peptide Research and Therapeutics, DOI 10.1007/s10989-018-9699-4, P. 555-563, 2018;

3. თ. ჯოხაძე, თ. ბუაძე, **ქ.რუბანოვი**, ნ.ქირია, თ. ლეჟავა, Genome instability in pulmonary tuberculosis before and after treatment, Georgian Med News, No 11 (224), P.77-81, 2013.

6. გამოყენებული ლიტერატურის სია

Abzianidze E., Kvaratskhelia E., Tkemaladze T., Gurtskaia G., Tsiklauri N., Nebieridze M., Nozadze M.. DNA methylation levels in formalin induced orofacial pain. European Journal of Human Genetics, E-P17.06, p.718, 2016.

Ada AO, Süzen SH, Iscan M - Toxicology letters, 2004 Polymorphisms of cytochrome P450 1A1, glutathione S-transferases M1 and T1 in a Turkish population Vol. 151, P. 311-315, 2004.

Akahoshi M, nakashima H, Miyake K, et al. Influence of interleukin-12 receptor beta1 polymorphisms on tuberculosis. Hum Genet; 112: 237-43, 2003.

Andriadze M.I., Pleskach N.M., Mikhelson V.M., Zhestyanikov V.D. Sister-chromatid exhanges in a special form of a xeroderma pigmentosum(form II)., Mutat Res., 180, 89-92, 1987.

Aravindan PP, Host genetics and tuberculosis: Theory of genetic polymorphism and tuberculosis, Lung India. 36(3): 244–252, 2019.

Arora H, Chacon AH, Choudhary S, McLeod MP, Meshkov L, Nouri K, Izakovic J. Bloom syndrome. Int J Dermatol. 53(7):798-802, 2014.

Astolfi P.A., Salamini F., Sgaramella V. Are we Genomic Mosaics? Variations of the Genome of Somatic Cells can Contribute to Diversify our Phenotypes // Current Genomics. Vol. 11(6). P. 379-386, 2010.

Austin M., Collins J., Corey L., Nance W., Neale M., Schieken R. and Brown J. Aphidicolin-inducible Common Fragile-Site Expression: Results from a Population survey of Twins. Am. J. Hum. Genet. 50: 76-83, 1992.

Baccarelli A, Wright R, Bollati V et al.: Ischemic heart disease and stroke in relation to blood DNA methylation. Epidemiology 21(6), 819–828, 2010.

Behera D. Textbook of Pulmonary medicine. Vol. I.II ed. P.445, 2010.

Bellamy R, Beyers N, McAdam KP, et al. Genetic susceptibility to tuberculosis in Africans: a genome-wide scan. Proc Natl Acad Sci USA. 97:8005–9, 2000.

Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, McAdam KP, Whittle HC, Hill AV. Variations in the NRAMP1 gene and susceptibility to tuberculosis in West Africans. N Engl J Med; 338:640–4, 1998.

Bellamy, R., Ruwende, C., Corrah, T., McAdam, K.P., Whittle H.C., Hill, A.V., Assessment of the interleukin 1 gene cluster and other candidate gene polymorphisms in host susceptibility to tuberculosis. Tuber. Lung Dis. 79, 83–89, 1998.

Bhattacharjee P, Paul S, Banerjee M, Patra D. et al. Functional compensation of glutathione S-transferase M1 (GSTM1) null by another GST superfamily member, GSTM2. Sci Rep 3:2704, 2013.

Bloom S., Goodpasture C. An improved technique for seleqtive silver staning of nucleolar organizer regions in human chromosomes. Hum. Genet., 34, 199-206, 1976.

Calin G.A., Sevignani C., Dumitru C.D. et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. Proc Natl Acad Sci USA 101(9):2999-3004, 2004.

Cardellini E., Cinelli S., et al. Differential Scanning calorimetry of chromatin at different levels of condensation. Mol. Biol. Rep., 27, 3, 175-180, 2000.

Cardon L.R, Bell J.I, Association study designs for complex diseases, Nature Reviews Genetics volume 2, pages91–99, 2001.

Casanova JL, Abel L. Genetic dissection of immunity to mycobacteria: the human model. Annu Rev Immunol. 20: 581-620, 2002.

Castiblanco, J., Varela, D.C., Castano-Rodriguez, N., Rojas-Villarraga, A., Hincapie, M.E., Anaya, J.M.,). TIRAP (MAL) S180L polymorphism is a common protective factor against developing tuberculosis and systemic lupus erythematosus. Infect. Genet. Evol. 8, 541–544, 2008.

Chaitanya, K.V. Applications of Genomics. In: Genome and Genomics. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-0702-1_8, 2019.

Chiacchiera F, Piunti A, Pasini D Epigenetic methylations and their connections with metabolism. Cell Mol Life Sci 70:1495–1508, 2013.

Chuang, T. H. & Ulevitch, R. J. Cloning and characterization of a sub-family of human toll-like receptors: hTLR7, hTLR8 and hTLR9. Eur. Cytokine Netw. 11, 372–378, 2000.

Coffee B., Zhaug F., Ceman S., Warren S., Beiues D. Histone modificacions depiet an aberrantly heterochromatinized FMR1 gene in fragile x syndrome. Pum. Med., 71(4), 923-932, 2002.

Comstock GW. Tuberculosis in twins: a re-analysis of the Prophit survey. Am Rev Respir Dis. 117:621–4, 1978.

Cooke GS, Campbell SJ, Bennett S, et al. Mapping of a novel susceptibility locus suggests a role for MC3R and CTSZ in human tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med. 178:203–7, 2008.

Cosivi, O., Meslin, F. X., Daborn, C. J. and Grange, J. M. Epidemiology of Mycobacterium bovis infection in animals and humans, with particular reference to Africa. OIE. Sci. Tech. Rev. 14, 733-746, 1995

Cowley AW Jr, Dwinell MR.Chromosomal Substitution Strategies to Localize Genomic Regions Related to Complex Traits.Compr Physiol. 12;10(2):365-388, 2020.

Dadunashvili E., Jokhadze T, A. Cytogenetic stude of mentally retardation children, Proc. GeorgAcad. Scy, vol. N1-2, 16-19, 2003.

Daniel TM. The history of tuberculosis. Respir Med; 100:1862-70, 2006.

Danielle K., Pelkonen O., Ahokas T. Hepatocytes: The powerhouse of biotransformation // The International Jounal of Biochemistry & CellBiology. Vol. 44. P. 257-265, 2012.

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.

Delgado, J.C., Baena, A., Thim, S., Goldfeld, A.E., Ethnic-specific genetic associations with pulmonary tuberculosis. J. Infect. Dis. 186, 1463–1468, 2002.

Donoghue HD, Spilgelman M, Greenblatt CL, Lev-maor G, Bar-Gal GK, Matheson C, Vernon K, Nerlich AG, Zink AR. tuberculosis: from prehistory to Robert Koch, as revealed by ancient DNA.lancet Infect Dis 584-92, 2004.

Ebert D.F., Dayf B.J., Hilliker A.J. The role of heterochromatin in the expression of a heterocromatic gene, the rolled locus of Drosophila melanogaster. Genetics. 134 (1): 277-292, 1993.

Egeli U, Karadag M, Cecener G, et al. Chromosomal fragile sites and relationship between genetic predisposition to small cell lung cancer. Teratog. Carcinog. Mutagen. 22(1);31-40, 2002.

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.

Fan Kou, Lei Wu, Xiubao Ren, and Lili Yang Chromosome Abnormalities: New Insights into Their Clinical Significance in Cancer Published online 17: 562–570, 2020.

Fatima S., Bhaskar A., Dwivedi V. P., Farrar J. Repurposing Immunomodulatory Drugs to Combat Tuberculosis // Front. Immunol. No 12. P. 645485, 2021.

Fromenty B., Robin M.A., Igoudjil A. et al. The ins and outs of mitochondrial dysfunction in NASH. Diabetes Met., 2: 121-138, 2005.

Garte S., Gaspari L et al., Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations. Cancer Epidemiol Biomarkers prev. 10:1239-1248, 2001.

Gegia M., kalandadzeI., Madzgharashvili M., Furin J. Developing a human rights-based program for tuberculosis control in Georgia prisons. HHR. Vol 13, No 2, 2011.

Grewal S., Elgin S. Heterochromatin: new possibilities for the inheritance of structure. Curr. Opin. Genet. Dev., 12, 2, 178-187, 2002.

Grubisa I., Otasevic P., Vucinic N. et al Combined GSTM1 and GSTT1 null genotypes are strong risk factors for atherogenesis in a Serbian population Genetics and Molecular Biology, 41, 1, 35-40, 2018.

Hawn, T.R., Dunstan, S.J., Thwaites, G.E, Simmons, C.P., Thuong, N.T., Lan, , N.T., QUY, H.T., Chau, T.T., Rodrigues, S., Janer, M., Zhao, L.P., Hien, T.T., Farrar, J.J., Aderem, A., A polymorphism in Toll-

interleukin 1 receptor domain containing adaptor protein is associated with susceptibility to meningeal tuberculosis. J. Infect. Dis. 194, 1127-1134, 2006.

Heliot L., Mongelard F., et al. Nonrandom distribution of metaphase AgNOR staning 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.

Hernández RC. et al., Deletion of GSTM1 and GSTT1 genes and lung cancer survival: a systematic review.103:338-344, 2017.

Hernandez-Verdun D. Nucleolus: from structure to dynamics / Hernandez-Verdun // Histochemistry and Cell Biology. V. 125. P.127-137, 2006.

Hill, A.V., Aspects of genetic susceptibility tu human infectious diseases. Annu. Rev. Genet. 40, 469-486, 2006.

Holland A.J., Cleveland D.W. Boveri revisited: chromosomal instability, aneuploidy and tumorigenesis. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 10:478–487, 2009.

Hong-min FAN *, #, Zhuo W ang#, Fu-Min Feng et.al. Association of TNF-a-238G/A and 308 G/A Gene Polymorphisms with Pulmonary Tuberculosis among Patients with Coal Worker s Pneumoconiosis. Biomed and Environm. Scien. 23, 137-145, 2010.

Hsu T.S., Pathak S. Differential rates of sister chromatid exchanges between euchromatin and heterochromatin. Chromosoma, 58, 5, 269-273, 1976.

Huang Y.S., Chern H.D., Su W.J. et al. Cytochrome P450 2E1 genotype and the susceptibility to antituberculosis druginduced hepatitis. Hepatology. 37, 4: 924-930, 2003.

Hui-Qi Qu, Susan P Fisher-Hoch & Joseph B McCormick Knowledge gaining by human genetic studies on tuberculosis susceptibilityJournal of Human Genetics volume 56, pages177–182, 2011.

Hussain Z., Kar P., Husain S.A. Antituberculosis druginduced hepatitis: risk factors, prevention and man agement. Indian J. Exp. Biol. 41, 11: 1226-1232, 2003.

Imhof A. Histone modifications--marks for gene expression? Adv. Exp. Med. Biol., 544, 169- 180, 2003.

Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. Pharmacogenomics J. 5, 1: 613, 2005.

Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2018 update on diagnosis, therapy and monitoring. Am J Hematol. 93(3):442-459, 2018.

Jacobs A. J., Juthathip Mongkolsapaya, Gavin R. Screaton, Helen McShane, Robert J. Wilkinson Antibodies and Tuberculosis Vol. 101, P. 102-113, 2016

Jamieson SE, Miller EN, Black GF, et al. Evidence for a cluster of genes on chromosome 17q11-q21 controlling susceptibility to tuberculosis and leprosy in Brazilians. Genes Immun. 5:46–57, 2004.

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.

Johnson C.A. Chromatin modifikation and diseasse. J. Med.Genet., 37:905-915, 2000.

Johnson G.C.L, Todd J.A Strategies in complex disease mapping, Current Opinion in Genetics & Development, Volume 10, Issue 3, P. 330-334, 2000.

Jokhadze T. et al. Chromosome instability in patients with different forms of cardiomyopathy and their relatives. (in russ.). Gerg. Med. News, 12 (129) 134-138), 2005.

Kadotani T. and Watanabe Y, Chromosomal fragile sites in the parents and their babies, Chromosome Science 2:151-153, 1999.

Kargas C , Krupa R, Walter Z, Combined genotype analysis of GSTMI and GSTTI polymorphisms in a Polish population Human biology, Vol. 75, No. 2 pp. 301-307, 2003.

Kato H. Spontaneous and induced chromatid exchanges as revealed by the BrdU-labelling method. Intern.Rev. of Cytol. 49, 55-62, 1977.

Kaufmann HH. How Can Immunology contribute to the Control of Tuberculosis. Nat Rev Immunol 1, 20-30, 2001.

Kaushik, S., Kaushik, S., & Sharma, D. Functional Genomics. Reference Module in Life Sciences. doi:10.1016/b978-0-12-809633-8.20222-7, 2018.

Khavinson V, Kuznik B, Ryzhak G Peptide bioregulators: a new class of geroprotectors, report 2. The results of clinical trials. Adv Gerontol 4:346–361, 2014.

Khavinson V, Linkova N, Dyatlova A, Kantemirova R, Kozlov K. Senescence-Associated Secretory Phenotype of Cardiovascular System Cells and Inflammaging: Perspectives of Peptide Regulation. Cells. 12(1):106, doi: 10.3390/cells12010106, 2022.

Khavinson V. Peptide regulation of ageing. St.-Ptb.: Humanistica, -44, 2009.

Khavinson V., Lezhava T., et al. Peptide epythalon reaqtivates chromatin at seline age, 2003.

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.

Kvaratskhelia E., Dabrundashvili N., Maiasuradze E., Gagua M., Margvelashvili L., Abzianidze E.. Hypomethylation of long interspersed nuclear element-1 (LINE-1) in T-Lymphocytes from patients with CF. European Journal of Human Genetics, P17.12, p. 508, 2016

Lambert B., Hansson K., Lindsten J. et al., Bromdeoxiuridine-induced sister chromnatid exchanges in human Lymphocytes. Heredites, 83, 163-175, 1876.

Latt S.A. Sister chromatid exchange formation. Annu. Rev.Genet. 15, 11-55, 1981.

Lazutka I Sister chromatid exchanges in the cells of higher eukaryotes. Tsitologiia 32:977–984, 1990.

Leal IS, Smedegard B, Andersen P, Appelberg R. Failure to induce enhanced protection against tuberculosis by increasing T-cell-dependent interferon-gamma generation. Immunology. 104:157–161, 2001.

Lesnik E. Ginda S. Immune Disorders in Patients with Pulmonary Tuberculosis with Primary and Acquired Drug-Resistance of Mycobacterium Tuberculosis. Tuberculosis and Lung Diseases. 100(10):50-56. (In Russ.), 2022.

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. Human chromosomes and aging. From 80 to 114 years. Nova Biomedical, ISBN 1- 60021-043-0, New York, USA, 2006.

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., 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., Jokhadze T., et al., Epigenetic variations in chromatid caused by the combination of bioregulators with Heavy metals during aging.Intern. Journ.of peptide research and therapeutics. 2022.

Lezhava T., Jokhadze T., Monaselidze J. The Functioning of “Aged” Heterochromatin. Intech open science/Edited by Tetsuji Nagata/ Senescence Chapter 26, 631-64, 2012.

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., 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., Kadotani T., Dvalishvili N., Buadze T. Anti-aging peptide bioregulators induce reactivation of chromatin Georg.Med.News No 4(133), 111-115, 2006.

Lezhava T., Tsigroshvili Z., Dvalishvili N., Jokhadze T. Mathematical model for satellite associations of human acrocentric chromosomes. Georgian Med News, (164), 90-9, 2008.

Lezhava Teimuraz, Khavinson Vladimir, Jokhadze Tinatin, Buadze Tamar, Monaselidze Jamlet, Sigua Tamar, Gaiozishvili Maia, Tsuleiskiri Tamar, Epigenetic Activation of Ribosomal Cystrons in Chromatids of Acrocentric Chromosome 15th in Ductal Breast Cancer. International Journal of Peptide Research and Therapeutics, International Journal of Peptide Research and Therapeutics (IF 2.5) Pub Date: 2023-02-09 , DOI:10.1007/s10989-023-10489-3, 2023.

Li, H.T., Zhang, T.T., Zhou, Y.Q., Huang, Q.H., Huang, J., SLC11A1 (formerly NRAMP1) gene polymorphisms and tuberculosis susceptibility: a meta-analysis. Int. J. Tuberc. Lung Dis. 10, 3–12, 2006.

Liu J, Fujiwara TM, Buu NT, Sanchez FO, Cellier M, Paradis AJ, et al. Identification of polymorphisms and sequence variants in the human homologue of the mouse natural resistance-associated macrophage protein gene. American Journal of Human Genetics; 56: 845-53, 1995.

Liu L, Li C, Gao J, Li K, et al.(a) Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase and risk of vitiligo in the Chinese population. J Invest Dermatol., 129:2646–2652, 2009.

Lusser A., Kolle D., Loidl P. Histone acetylation: lessons from the plant kingdom. Trends Plant. Sci., 6, 2, 59-65, 2001.

Magno LA, Talbot J, Talbot T, et al. Glutathione S-Transferase variants in a Brazilian population. Pharmacology, 83:231–236, 2009.

Martino M., Lodi L., Galli L., Chiappini E. Immune response to Mycobacterium tuberculosis: A narrative review // Front. Pediatr. Vol. 7. https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fped.2019.00350, 2019.

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 polimeraze I with nuclear organizing chromosomes. Chromosome, 92, 1, 1-6, 1985.

McLellan RA., Oscarson M., Alexandrie AK. et al. Characterization of a human glutathione S-transferase mu cluster containing a duplicated GSTM1 gene that causes ultrarapid enzyme activity. Mol Pharmacol. 52:958-965, 1997.

Moller M, de Wit E, Hoal E Past, presen and future directions in human genetic susceptibility to tuberculosis. FEMS Immunol Med Microbiol 58:3–26, 2010.

Monaselidze J, Abuladze M, Asatiani N Characterization of chromium-induced apoptosis in cultured mammalian cells. A different scanning calorimetry study. Thermochem Acta 441:8–15, 2006.

Monaselidze J., Chanchalashvili Z., Madzhagaladze G. Cooperative nature of the denaturation process in tissues and cell nuclei. Biofizika, 23(1), 167-8, 1978.

Nafissi S., Saadat I., Saadat M. Genetics polymorphism of glutation-S-transferaze Z1 in Iranian population.Mol Biol Rep, 38:3391-3394, 2011.

Natale V, Raquer H. Xeroderma pigmentosum-Cockayne syndrome complex. Orphanet J Rare Dis. 12(1):65, 2017.

Nerlich ag. Has CJ, Zink A, Szeimes U, hagedon HG. Molecular evidence for tuberculosis in an encient Egyptian mummy. Lancet 350, 1404, 1997.

Okada R, Ishizu Y, Endo R, et al. Direct and rapid genotyping of glutathione-S-transferase M1 and T1from human blood specimens using the SmartAmp2 method.Drug Metab Dispos, 38, 10:1636- 1639, 2010.

Palomino – Leão – Ritacco. Tuberculosis From basic science to patient care. 2007.

Paul D.S., Beck S Advances in epigenome-wide association studies for common diseases Trends Mol Med, 20(10):541-3, 2014.

Paulson T. Epidemiology:A mortal foe. Nature, 502(7470),S2-S3, 2013.

Pearson WR, Vorachek WR, Xu SJ, Berger R. et al. Identification of class-mu glutathione transferase genes GSTM1-GSTM5 on human chromosome 1p13. Am J Hum Genet. 53:220-233, 1993.

Piacentini S., Polimanti R., Porreca F. GSTT1 and GSTM1 gene polymorphisms in European and African populations. Mol Biol Rep. 38:1225–1230, 2011.

Prokofyeva-Belgovskaya, A. Heterochromatin regions of chromosomes. M. Nauka, 1986.

Qu H, Fisher-Hoch S, McCormick J Knowledge gaining by human genetic studies on tuberculosis susceptibility. J Hum Genet 56:177–182, 2011.

Rafiee L., Saadat I., Saadat M. Glutathione S-transferase polymorphisms (GSTM1, GSTT1 and GSTO2) in three Iranian population. Mol Biol Rep, 37, 155-158, 2010.

Remus N,El Bghdadi L, Fieschi C, et al. Association of IL12RB1 polymorphisms with pulmonary tuberculosis in adults in Morocco. J. Infect Dis; 190:580-7, 2004.

Rogava M et. al., Intensity of sister chromatid exchanges in limphocites derived from patients with two different forms of cardiomiopathy and their relatives. Cardiol and interne medicine, 3, (XI) 52-55 (in georg), 2005.

Sahiratmadja, E., Baak-Pablo, R., de Visser, A. W., Alisjahbana, B., Adnan, I., van Crevel, R. et al. Association of polymorphisms in IL-12/IFN-[gamma] pathway genes with susceptibility to pulmonary tuberculosis in Indonesia. Tuberculosis 87, 303–311, 2007.

Santovito A., Cervella P et al., Analysis of glutathione S-transferase M1 and glutathione S-transferase T1 gene polymorphisms suggests age-related relationships in a northern Italian population Arch Toxicol. 82:903-907, 2008.

Seabright M : A rapid banding technique for human chromosomes. Lancet 2: 971–972, 1971.

Seidegård J, Vorachek WR, Pero RW, Pearson WR. Hereditary differences in the expression of the human glutathione transferase active on trans-stilbene oxide are due to a gene deletion. Proc Natl Acad Sci U S A. 85:7293-7297, 1988.

Selvaraj, P., Sriram, U., Mathan Kurian, S., Reetha, A.M., Narayanan, P.R., Tumour necrosis factor alpha (-238 and -308) and beta gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis: haplotype analysis with HLA-A, B and DR genes. Tuberculosis (Edinb.) 81, 335–341, 2001.

Shafer D.A. Alternate replikation bypass mechanizms for sister chromatid exchange formatiom. …In sister chromatid exchange. N.Y.; Alan R. Liss Inc., - 67-98, 1982.

Sharma A., Talukder G. Effects of metals on chromosomes of higher organisms. Environ Mutagen., 9(2), 191-226, 1987.

Shaw P.J. The nucleolus / J.Shaw, E.G. Jordan // Annu. Rev. Cell Dev. Biol. N 11. – P. 93-121, 1995.

Sheikhha M. H., Kalantar M., Tobal K., John A. Yin L. Glutathione S transferases Null Genotype in Acute Myeloid Leukaemia. IJI 3:141-151, 2005.

Skamene E. The BCG gene story. Immunobiology 191: 451-60, 1994.

Smith DI, McAvoy S, Zhu Y, Perez DS. Large common fragile site genes and cancer, Semin Cancer Biol. 17(1):31-41, 2007.

Stavropoulou C, Korakaki D, Rigana H ,Glutathione-*S*-transferase T1 and M1 gene polymorphisms in Greek patients with multiple sclerosis: a pilot study European journal of neurology Vol.14, P 572-574, 2007.

Stein CM, Zalwango S, Malone LL, et al. Genome scan of M. tuberculosis infection and disease in Ugandans. PloS One. 3:e4094, 2008.

Stitou S., Diaz de la Guardia R., Jimenes R., et al. Inactive ribosomal cistrone are spread throughout the B chromosomes of Rattus rattus (Rodentia, Muridae). Implications for their origin and evolution. Chroomsome Res., 8, 4, 305-311, 2000.

Taioli E, Mari D, Franceschi C, Bonafe M Polymorphisms of Drug-Metabolizing Enzymes in Healthy Nonagenarians and Centenarians: Difference at GSTT1 LocusBiochemical and Biophysical Research CommunicationsVol. 280, Issue 5, Pages 1389-1392, 2001.

Takahashia K., Hasegawaa Y., Abeb T., Yam T. SLC11A1 (formerly NRAMP1) polymorphisms associated with multidrug-resistant tuberculosis. Tuberculosis 88, 52–57, 2008.

Takeda, K. & Akira, S. TLR signaling pathways. Semin. Immunol. 16, 3–9, 2004.

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.

Taype CA, Shamsuzzaman S, Accineli RA, Espinoza JR, Shaw MA. Genetic susceptibility to different clinical forms of tuberculosis in the Peruvian population. Infect Genet Evol. (4): 495-504, 2010.

Thamaria J.P., Marthur K.C. and Husain S.A.. Frequency Distribution of ABO Blood Groups Aamong GeneralL Population of Northern Rajasthan and Among Sputum Positive Pulmonary Tuberculosis Cases with Particular Reference tu Rate of in-activation of Isoniazid Ind. J. Tub., Vol. XIX, No, 1, 2010.

Thomas G, Cann H Irruption of genomics in the search for disease related genes. Gut. 52 Suppl 2(Suppl 2):ii1-5, 2003.

Tskvitinidze S., Khukhunaishvili, R., Vacharadze, K., Nagervadze, M., Akhvlediani, L. and Qoridze, M. Distribution of red blood cell antigens in drug-resistant and drug-sensitive pulmonary tuberculosis. African Journal of Biotechnology Vol. 11(104), pp. 16809-16813, 27 December, 2012. DOI: 10.5897/AJB12.823. ISSN 1684-5315, 2012.

Tyagi S.P., Prasad M., K,B. Khare, P. Bahadur And S. Hameed. Blood Genetics in Pulmonary tuberculosis. Ind. J. Tub., Vol. XX, No. 1, 2010.

Unal M., Guven M et al., Glutathione S transferase M1 and T1 genetic polymorphisms are related to the risk of primary open-angle glaucoma: a study in Turkish population. Br J Ophthalmol. 91:527-530, 2007.

Van Der Eijk, E.A., Van De Vosse, E., Vandenbroucke, J.P., Van Dissel, J.T., Heredity versus enviroment in tuberculosis in twins: the 1950s United Kingdom Prophit Survey Simonds and Comstock revisited. Am. J. Respir. Crit. Care Med176, 1281-1288, 2007.

Van Tong H, Velavan TP, Thye T, Meyer CG. Human genetic factors in tuberculosis: an update. Trop Med Int Health. 22:1063–71, 2017.

Vavilin V.A., Makarova S.I., Lyakhovich V.V., Gavalov S.M. Polymorphic genes of xenobiotic-metabolizing enzymes associated with predisposition to bronchial asthma in hereditarily burdened and nonburdened children. Russian Journal of Genetics, Vol. 38, No. 4, pp. 439–445, 2002.

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.

Vettriselvi V.,Vijayalakshmi K., Solomon F., et al.Genetics variation of GSTM1, GSTT1 and GSTP1genes in a Sout Indian population. APJCP, 7:325-328, 2006.

Vorachek WR, Pearson WR, Rule GS. Cloning, expression, and characterization of a class-mu glutathione transferase from human muscle, the product of the GST4 locus. Proc Natl Acad Sci U S A. 188:4443-4447, 1991.

Wang J.,Zou L., Huang S., et al. Genetics polymorphism of glutation-S-transferaze genes GSTM1and GSTT1 and risk coronary heart disease. Mutagenesis, 25:365-369, 2010.

Weiss K.M., Terwilliger J.D., How many diseases does it take to map a gene with SNPs? Nat Genet ;26(2):151-7, 2000.

WHO Global Tuberculosis Report Nov 7, 2023.

Widersten M, Holmströ E, Mannervik B. Cysteine residues are not essential for the catalytic activity of human class Mu glutathione transferase M1a-1a. FEBS Lett; 293:156-159, 1991.

Wilkinson R.J., Human genetic susceptibility to tuberculosis: time for a bottom-up approach?, J Infect Dis 15;205(4):525-7, 2012.

Wolff S. (ed.) “Sister chromatid Excange”. New-York: John Wiley, 1982.

World Health Organization. Global Tuberculosis report, 2021.

World Health Organization. Global Tuberculosis report. Genova: World Health Organization, 2016.

Wu W, Peden D, Diaz-Sanchez D. Role of GSTM1 in resistance to lung inflammation Free Radic Biol Med, 53:721-729, 2012.

Xu S, Wang Y, Roe B, Pearson WR Characterization of the human class Mu glutathione S-transferase gene cluster and the GSTM1 deletion. J Biol Chem, 273:3517-3527, 1998.

Yuen R.K.C, W.P. Robinson Review: A high capacity of the human placenta for genetic and epigenetic variation: Implications for assessing pregnancy outcome Volume 32, Supplement 2, Pages S136-S141, 2011.

Zemlyakova M.A., Koldibekova Yu.V. Modern approaches to the assessmentof metabolic disorders of xenobiotics when they enter the host from the external environment. Ekologiya Cheloveka, vol. 8, pp. 8-13, 2012.

Zhang W, Shao L, Weng X, Hu Z, Jin A, Chen S, et al. Variants of the natural resistance-associated macrophage protein 1 gene (NRAMP1) are associated with severe forms of pulmonary tuberculosis. Clin Infect Dis; 2005.

Zhdanova S.N., Badleeva M.V., Khromova P.A., Ogarkov O.B., Orlova E.A. Molecular epidemiology of multiple drug resistant tuberculosis in Mongolia and Eastern Siberia: two independent dissemination processes for dominant strains. Infektsiya I Immunitet, vol. 11, no. 2, pp. 337-348, 2021.

Zignol M, van Germet W, Falzon D, Jaramillo E, Blanc L, Raviglione M. Modernizing surveillance of antituberculosis drug resistance: from special surveys to routine testing. Clin Infect Dis. 1;52(7):901-6, 2011.

Алыменко М. А., Валиев Р. Ш., Полоников А. В., Голубева Т. Н., Василевская А. П., Мирошник Е. В., Ассоциация полиморфных вариантов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с восприимчивостью к заболеваемости туберкулезом легких. Tuberculosis and Lung Diseases Vol. 100, No. 6, 2022.

Антощина М.М., Порядкова Н.А. Методика дифференциальной окраски сестринских Хроматид без применения флюорохромов. Цитология и генетика. 12, 4, 349-352, 1978.

Баранов В.С., Баранова Е.В., Иващенко Т.Э., Асеев М.В. Геном человека и гены "предрасположенности" (введение в предиктивную медицину).– СПб.: Интермедика, 272с, 2000.

Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Демидова И.А., Колотий А.Д., Куринная О.С., Виктор Сергеевич Кравец D.C., Юров И. Ю., БИОМАРКЕРЫ НЕОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЕЗНЕЙ МОЗГА, ОБУСЛОВЛЕННЫХ ХРОМОСОМНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТЬЮ, У ДЕТЕЙ Научные результаты биомедицинских исследований, Том 4, Выпуск №2, 2018.

Грабовская И., Мамаева С., Мамаев Н. Изучение способности к серебрению и асоциациям акроцентрических хромосом нормалных и лейкозных клеток человека. Цитологиа, 28, 6, 350-359, 1986.

Ильинских Н.Н., Иммунологическая элиминация цитогенетически аберрантных клеток, индуцированных инфекционными факторами. Генетика, 24 (1): 156-162, 1988.

Корытина Г.Ф., Янбаева Д.Г., Бабенкова Л.И., Викторова Т.В. Ассоциация полиморфных вариантов в генах биотрансформации ксеноби. Корытина отиков с тяжестью легочной патоло гии у больных муковисцедозом. Мед. генетика. 5: 227-232, 2003.

Кравченко Н.О., Виноградова С.В Значення генетичних факторів у розвитку і прогресуванні стеатозу печінки. Сучасна гастроенте рол. 4:107-114, 2004.

Македонов Г.П., Евграфов О.В. Молекулярные механизмы образования сестринских хромосомных обменов и структурных муаций хромосом. В кн.: Мутагенез и репарация в системе вирус-клетка, «Наука,», 33-72, 1983.

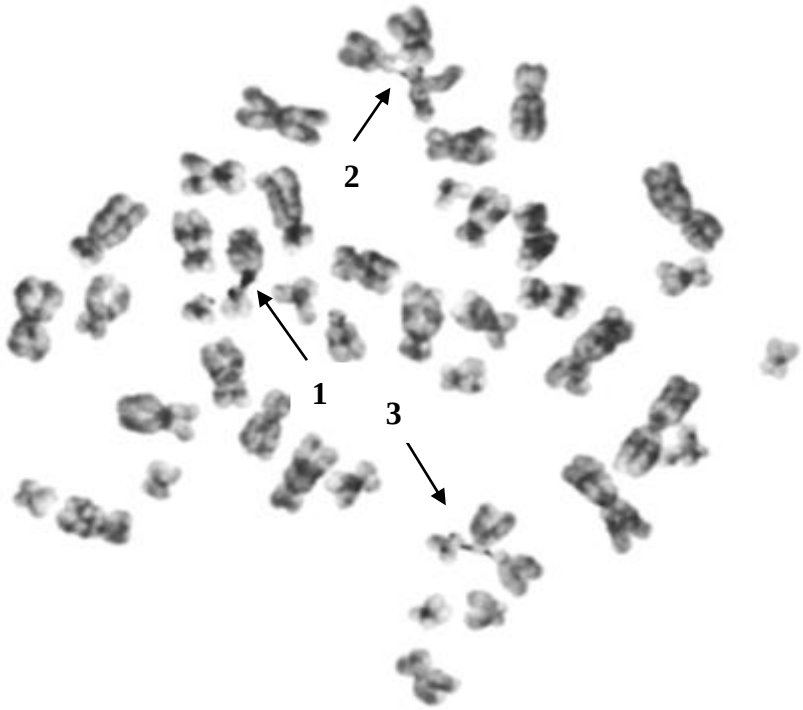
Назаренко С.А. Эпигенетические модификации генома и болезни человека / С.А. Назаренко // Мед. генетика. Т.3, No2. –С.70-77, 2004.

Ньюсбаум Роберт Л.Медицинская генетика / Роберт Л. Ньюсбаум, Роде-рик Р. Мак-Иннес, Хантингтон Ф. Виллард; под ред. Н.П. Бочкова. –М.: Геотар-Медиа,–620 с, 2010.

7. განმარტებები

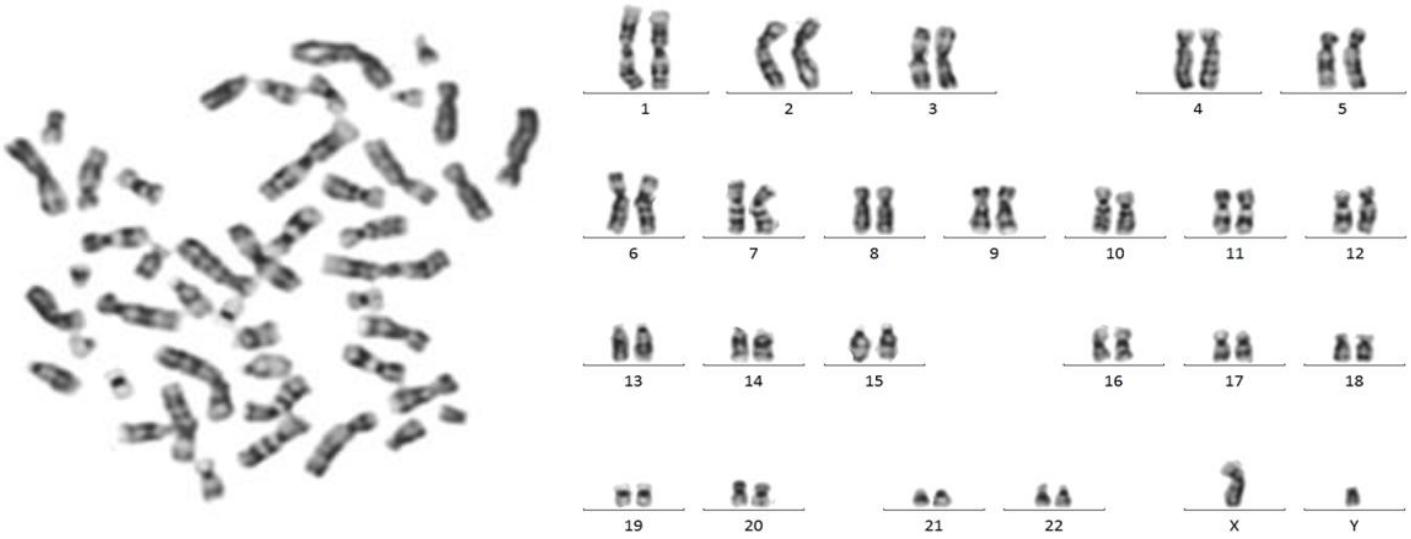
ფტ - ფილტვის ტუბერკულოზი;
მფდ-მულტიფაქტორული დაავადებები;
ფჰა-ფიტოჰემაგლუტინინი;
ტფდეც-ტუბერკულოზისა და ფილტვის დაავადებათა ეროვნული ცენტრი;
WHO-მსოფლიო ჯანდაცვის ორგანიზაცია;
USAID-აშშ-ს საერთაშორისო განვითარების სააგენტო;
DOTS – (Directly observed treatment, short course) მეთვალყურეობის ქვეშ
TB-ტუბერკულოზი;
MDR-TB-მულტირეზისტენტული ტუბერკულოზი;
XDR-TB-ექსტენსიურად რეზისტენტული ტუბერკულოზი;
LTBI-ლატენტური ტუბერკულოზური ინფექცია;
GWSA(Genome-wide Association Study) გენომის მასშტაბის ასოციაციური კვლევა;
SDGs-გაეროს მდგრადი განვითარების მიზნები;
SLC11A1-ბუნებრივ რეზისტენტობასთან ასოცირებული მაკროფაგული ცილა-1-ის მაკოდირებელი გენი;
SNP-ერთნუკლეოტიდიანი პოლიმორფიზმი;
TLR-ტოლის მსგავსი რეცეპტორი;
TIRAP-ტოლინტერლეიკინ 1-ის რეცეპტორის ადაპტური ცილა;
MHC-ჰისტოშეთავსებადობის მთავარი კომპლექსი;
IFN-γ-ინტერფერონი-გამა;
IL-ინტერლეიკინი;
VDR-ვიტამინ-D-ს რეცეპტორი;
BCG-კალმეტ-გუერნის ვაქცინა;
FRAX-ფრაგილური საიტი X ქრომოსომაზე;
FMR-1-გენი, რომლის მუტაციაც იწვევს ფრაგილური X სინდრომს 95%-ში;
SMAP-სმარტამპლიფიკაცია;
RPMI-საკვები არე.

8. დანართი



Ag-G ბენდირებით შეღებილი მეტაფაზა ქრომატიდული ასოციაციებით: **1** (22:13); **2** (14:13); **3** (21:14:15)

Ag-G ბენდირებით შეღებილი მეტაფაზა ქრომატიდული ასოციაციით: **15:13**



G-ბენდირებით შეღებილი მეტაფაზა

მეტაფაზა
წყვილი ფრაგმენტით

მეტაფაზა
ქრომოსომული
წყვეტებით(გეპები)

პოლიპლოიდური უჯრედი

შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლები (შქგ)