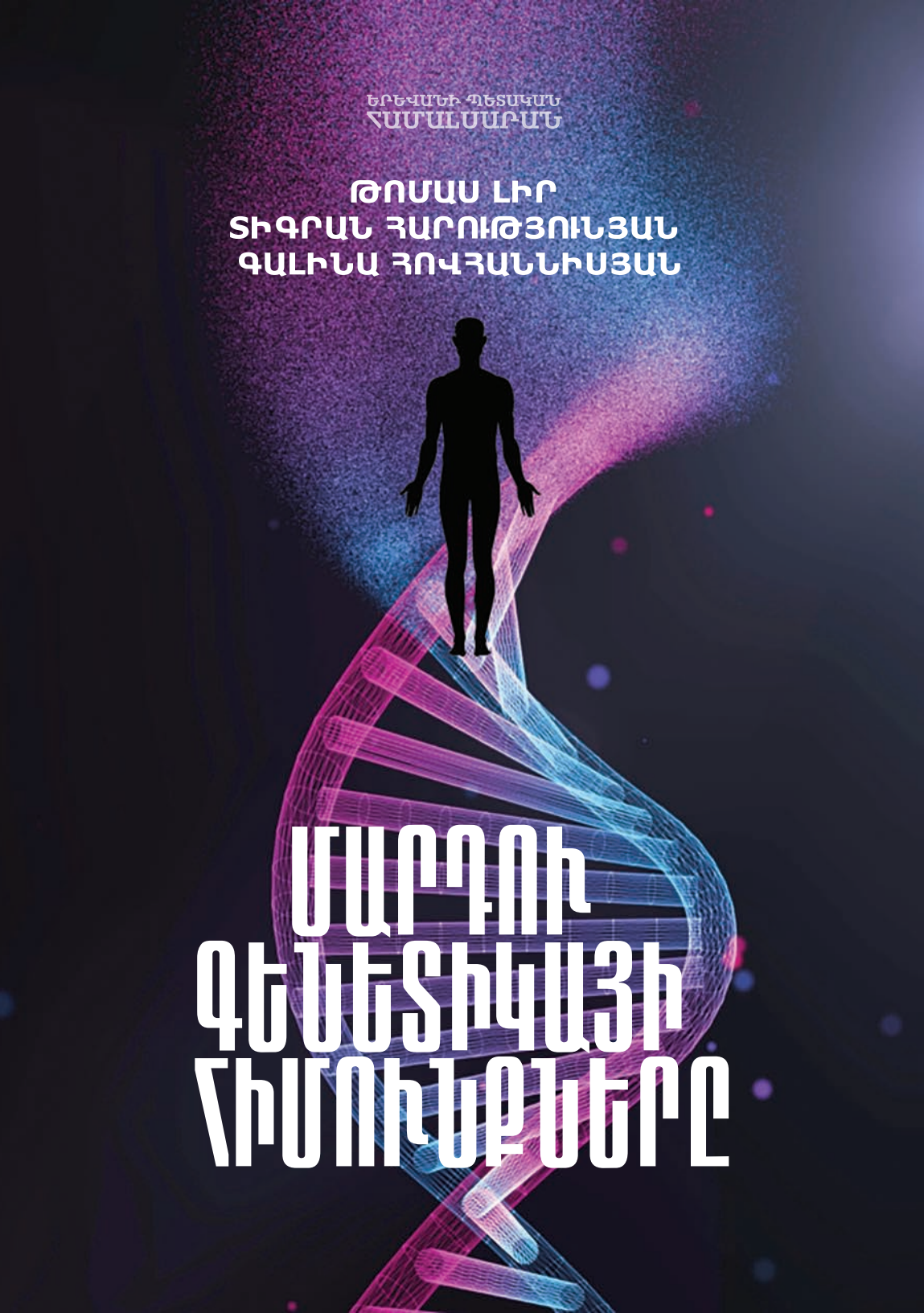
ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ
ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԹՈՄԱՍ ԼԻՐ
ՏԻԳՐԱՆ ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ
ԳԱԼԻՆԱ ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ



ՄԱՐԴՈՒ ԳԵՆԵՏԻԿԱՅԻ ՀԻՄՈՒՆՔՆԵՐԸ

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԼԻՐ ԹՈՄԱՍ, ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ ՏԻԳՐԱՆ,
ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ ԳԱԼԻՆԱ

ՄԱՐԴՈՒ ԳԵՆԵՏԻԿԱՅԻ ՀԻՄՈՒՆՔՆԵՐԸ

ԵՐԵՎԱՆ
ԵՊՀ ՀՐԱՏԱՐԱԿՉՈՒԹՅՈՒՆ
2020

ՀՏԴ 575
ԳՄԴ 28.04
Լ 640

Հրատարակության է երաշխավորել ԵՊՀ կենսաբանության ֆակուլտետի գիտական խորհուրդը:

Խմբագիր՝
ՀՀ ԳԱԱ թղթակից անդամ, կենսաբանական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր Ռ. Մ. Հարությունյան

Գրախոսներ՝
բժշկական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր
Է. Մ. Համբարձումյան
կենսաբանական գիտությունների դոկտոր
Ա. Ա. Առաքելյան

Հեղինակներ՝
Լիր Թոմաս – Յենայի համալսարանական կլինիկա, Ֆրիդրիխ Շիլլերի անվան համալսարան, Մարդու գենետիկայի ինստիտուտ, Ամ Կլինիկում 1, D-07747 Յենա, Գերմանիա
Հարությունյան Տիգրան – Երևանի պետական համալսարան, Գենետիկայի և բջջաբանության ամբիոն, Ալեք Մանուկյան 1, 0025 Երևան, Հայաստան
Հովհաննիսյան Գալինա – Երևանի պետական համալսարան, Գենետիկայի և բջջաբանության ամբիոն, Ալեք Մանուկյան 1, 0025 Երևան, Հայաստան

Լ 640 **Մարդու գենետիկայի հիմունքները**/Լիր Թոմաս, Հարությունյան Տիգրան, Հովհաննիսյան Գալինա: -Եր., ԵՊՀ հրատ., 2020, 172 էջ:

Ձեռնարկում հանրամատչելի կերպով ներկայացվում է նաև գենետիկական խորհրդատվության անհրաժեշտության և դրա իրականացման նախադրյալների մասին տեղեկատվությունը, ինչն այսօր խիստ արդիական է Հայաստանի համար: Քննարկվում են մարդու բջիջներում գենոմի խմբագրման աշխատանքները, իրականացվող կլինիկական փորձարկումները, դրանց հեռանկարներն ու մարդու մոտ կիրառման էթիկայի խնդիրները:

Ձեռնարկը հասցեագրված է կենսաբանական և բժշկական մասնագիտությամբ ուսանողներին, ինչպես նաև մասնագետներին և առհասարակ մարդու գենետիկայով հետաքրքրվող անձանց:

ՀՏԴ 575
ԳՄԴ 28.04

ISBN 978-5-8084-2437-1
© ԵՊՀ հրատ., 2020
© Լիր Թ., Հարությունյան Տ., Հովհաննիսյան Գ., 2020

Բովանդակություն

Նախաբան 5
1. ՄԱՐԴՈՒ ԳԵՆԵՏԻԿԱՅԻ ՍԱՀՄԱՆՈՒՄԸ 6
2. ՄԱՐԴՈՒ ԳԵՆԵՏԻԿԱՅԻ ՋԱՐԳԱՑՄԱՆ ՊԱՏՄՈՒԹՅՈՒՆԸ 8
2.1. Նախամենդելյան ժամանակաշրջան 8
2.2. Մենդելյան ժամանակաշրջան 9
2.3. Մենդելյան օրենքների վերաբացահայտման ժամանակաշրջան 9
2.4. Դասական գենետիկայի ժամանակաշրջան 10
2.5. Գենոմիկայի ժամանակաշրջան 12
2.6. Էպիգենոմիկա. Հետգենոմային ժամանակաշրջան 14
3. ՄԱՐԴՈՒ ԳԵՆԵՏԻԿԱՅԻ ՉՈՐՍ «Մ»-ԵՐԸ 15
3.1. Մենդելի օրենքները 15
3.2. Միտոզ 16
3.3. Մեյոզ 17
3.4. Մուտացիաներ 18
4. ԲԺՇԿԱԿԱՆ ԳԵՆԵՏԻԿԱ 19
4.1. Տոհմաբանական ծառի վերլուծություն 19
4.2. Ժառանգականության տեսակները 21
4.2.1. Մենդելյան ժառանգականություն 22
4.2.2. Ոչ մենդելյան ժառանգականություն 34
4.3. Գենետիկական խորհրդատվություն 49
5. ԲՋՋԱԳԵՆԵՏԻԿԱ 53
5.1. Քրոմոսոմային պատրաստուկների ստացումը 55
5.2. Դասական բջջագենետիկա 56
5.3. Քրոմոսոմների ներկման մեթոդներ 60
5.4. Մարդու քրոմոսոմների անվանակարգում 60
6. ՊՐԵՆԱՏԱԼ ԲՋՋԱԳԵՆԵՏԻԿԱԿԱՆ ԱԽՏՈՐՈՇՈՒՄ 67
6.1. Ինվազիվ թեստեր 68
6.2. Ոչ ինվազիվ թեստեր 69
6.3. Արտամարմնային բեղմնավորում. իրավական կարգավորումները 71
6.4. Հղիության ինքնաբերական ընդհատում 73
7. ՊՈՍՏՆԱՏԱԼ ԲՋՋԱԳԵՆԵՏԻԿԱԿԱՆ ԱԽՏՈՐՈՇՈՒՄ 75
7.1. Բջջագենետիկական թեստավորման ցուցումները և ուսումնասիրվող նմուշները 75
7.2. Քրոմոսոմային աբեռացիաների տեսակները 75
7.3. Անէուպլոիդիայով պայմանավորված համախտանիշներ 79
7.4. Դասական բջջագենետիկա. ամփոփում 83
8. ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ ԲՋՋԱԳԵՆԵՏԻԿԱ 85
8.1. FISH-զոնդեր 86
8.2. FISH-զոնդերի պատրաստում 89

8.3. FISH-ԱԽՏՈՐՈՇՄԱՆ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՕԲՅԵԿՏՆԵՐԸ 90
8.4. FISH ՄԵԹՈԴԻ ԿԻՐԱՌՈՒՄԸ ԲԺՇԿԱԿԱՆ ԳԵՆԵՏԻԿԱՅՈՒՄ..... 91
8.5. FISH ՄԵԹՈԴԻ ԿԻՐԱՌՈՒՄԸ ԳԵՆԵՐԻ ՔԱՐՏԵԶԱՎՈՐՄԱՆ ՀԱՄԱՐ 92
8.6. FISH ՄԵԹՈԴԻ ԿԻՐԱՌՈՒՄԸ ԿԱՐԻՈՏԻՊԻ ԷՎՈԼՅՈՒՑԻԱՅԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՄԱՆ ՀԱՄԱՐ 92
8.7. FISH ՄԵԹՈԴԻ ԿԻՐԱՌՈՒՄԸ ՔՐՈՄՈՍՈՄՆԵՐԻ ՏԱՐԱԾԱԿԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅԱՆ ՀԱՄԱՐ 92
8.8. FISH ՄԵԹՈԴԻ ԿԻՐԱՌՈՒՄԸ ԴՆԹ ԿՐԿՆՈՂՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԹՎԻ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅԱՆ ՀԱՄԱՐ 95
9. ՈՒՌՈՒՑՔՆԵՐԻ (ՔՋՋԱ)ԳԵՆԵՏԻԿԱՆ 97
9.1. ՊՐՈՏՈՕՆԿՈԳԵՆԵՐ ԵՎ ՕՆԿՈԳԵՆԵՐ 98
9.2. ՈՒՌՈՒՑՔԱՅԻՆ ՍՈՒՊՐԵՍՈՐ ԳԵՆԵՐ 99
9.3. ՄՈՒՏԱՏՈՐ ԳԵՆԵՐ/ՌԵՊԱՐԱՑԻԱՅԻ ԳԵՆԵՐ 100
9.4. ԱՐՅԱՆ ՔԱՂՑԿԵՂ (ԼԵՅԿԵՄԻԱ) 100
9.5. ՔԱՂՑԿԵՂԻ ԱՌԱՋԱՑՄԱՆ ՏԵՍՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ 102
9.6. ԺԱՌԱՆԳԱԿԱՆ ՔԱՂՑԿԵՂԻ ՀԱՄԱԽՏԱՆԻՇՆԵՐ 106
9.7. ՔՐՈՄՈՍՈՄԱՅԻՆ ԱՆԿԱՅՈՒՆՈՒԹՅԱՆ ՀԱՄԱԽՏԱՆԻՇՆԵՐ 109
9.8. ՔՐՈՄՈՏՐԻՓՍԻՍ 117
10. ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ ԳԵՆԵՏԻԿԱ 120
10.1. ՊՈԼԻՄԵՐԱԶԱՅԻՆ ՇՂԹԱՅԱԿԱՆ ՌԵԱԿՑԻԱ 120
10.2. ԲԼՈԹԻՆԳ 124
10.3. ԴՆԹ ՍԵՔՎԵՆԱՎՈՐՈՒՄ 126
10.4. ԴՆԹ-ՉԻՊԵՐԻ ՄԵԹՈԴՆԵՐ 129
10.5. ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ-ԳԵՆԵՏԻԿԱԿԱՆ ԱԽՏՈՐՈՇՈՒՄ 131
11. ՄԻԿՐՈԴԵԼԵՑԻԱՆԵՐԻ ԵՎ ՄԻԿՐՈԴՈՒՊԼԻԿԱՑԻԱՆԵՐԻ ՀԱՄԱԽՏԱՆԻՇՆԵՐ 132
12. ԳԵՆԵՐԻ ՀԱՅՏՆԱԲԵՐՈՒՄ ԵՎ ՆԿԱՐԱԳՐՈՒՄ 136
13. ՄՈՒՏԱԳԵՆԵԶ 139
14. ՏԵԽՆՈԼՈԳԻԱ 147
15. ԳԵՆԱՅԻՆ ԹԵՐԱՊԻԱ 150
15.1. ՔԱՂՑԿԵՂԻ ԳԵՆԱՅԻՆ ԹԵՐԱՊԻԱ 153
16. ԷՊԻԳԵՆԵՏԻԿԱ 156
17. ՊՈՊՈՒԼՅԱՑԻՈՆ ԳԵՆԵՏԻԿԱ 160
17.1. ՀԱՅԵՐԻ ԷԹՆՈԳԵՆԵՏԻԿԱՆ 167
18. ԱՄՓՈՓՈՒՄ 169
19. ՀԻՄՆԱԿԱՆ ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՑԱՆԿ 170

Նախաբան

«Մարդու գենետիկայի հիմունքները» ձեռնարկի ստեղծումը հիմնված է ԵՊՀ կենսաբանության ֆակուլտետի գենետիկայի և բջջաբանության ամբիոնի ու Յենայի (Գերմանիա) մարդու գենետիկայի ինստիտուտի մոլեկուլային բջջագենետիկայի լաբորատորիայի միջև գրեթե երկու տասնամյակ տևող համագործակցության և ընկերության վրա: Ձեռնարկը ծանոթացնում է մարդու գենետիկայի զարգացման պատմությանը, ոլորտի հիմնական ուղղություններին, ինչպես նաև դրանց գիտական և կիրառական հնարավորություններին: «Մարդու գենետիկայի հիմունքները» ձեռնարկում ամփոփվում են նաև Յենայում մոլեկուլային բժշկության մագիստրոսական ծրագրի շրջանակներում ընթերցվող որոշ դասախոսություններ: Այս դասախոսությունների մի մասն ընթերցվում է նաև Գենետիկայի և բջջաբանության ամբիոնի մասնագետների կողմից ինչպես Յենայում, այնպես էլ ԵՊՀ-ում:

Ձեռնարկում հանրամատչելի կերպով ներկայացվում է նաև գենետիկական խորհրդատվության անհրաժեշտության և դրա իրականացման նախադրյալների մասին տեղեկատվությունը, ինչն այսօր խիստ արդիական է Հայաստանի համար: Քննարկվում են մարդու բջիջներում գենոմի խմբագրման աշխատանքները, իրականացվող կլինիկական փորձարկումները, դրանց հեռանկարներն ու մարդու մոտ կիրառման էթիկայի խնդիրները:

Ձեռնարկը հասցեագրված է կենսաբանական և բժշկական մասնագիտությամբ ուսանողներին, ինչպես նաև մասնագետներին և առհասարակ մարդու գենետիկայով հետաքրքրվող անձանց:

Հեղինակներ

1. Մարդու գենետիկայի սահմանումը

«Մարդու գենետիկան» ներառում է հետևյալ ուղղությունները.

- գենետիկական նյութի կառուցվածքը,
- գենետիկական ինֆորմացիայի պահպանումը, մշակումն ու փոխանցումը,
- գենետիկական ախտորոշումը (պրենատալ, պոստնատալ, ուռուցքների և այլն),
- ուռուցքների առաջացումն ու զարգացումը,
- գենետիկական խորհրդատվությունը,
- համախտանիշների ուսումնասիրումը,
- մեթոդների մշակումն ու կիրառումը,
- պոպուլյացիոն գենետիկան,
- մուտագենեզը,
- տեռատոլոգիան,
- (գենային) թերապիան,
- էպիգենետիկան,
- միջավայրի ազդեցությունը ժառանգականության վրա և այլն:

Մարդու գենետիկական հատկությունները կարող են նպաստել ինչպես պարզ վիրուսային վարակների (օրինակ՝ ընդհանուր մրսածություն), այնպես էլ ձեռքբերովի (օրինակ՝ քաղցկեղ) և ժառանգական հիվանդությունների (օրինակ՝ մոնոգեն հիվանդություններ) ընկատմամբ անհատական զգայնության, իսկ որոշ դեպքերում՝ նաև կայունության զարգացմանը: Երբեմն «մարդու գենետիկան» սահմանվում է որպես բացառապես բժշկական մասնագիտություն, որը կիրառվում է գենետիկական խորհրդատվության ժամանակ բժիշկների կամ գենետիկ-խորհրդատուների կողմից: Ավելի լայն ըմբռնմամբ «մարդու գենետիկան», բժշկական խնդիրներից բացի, ներառում է նաև մարդու ժառանգականության տարբեր հիմնահարցեր:

Ընդհանուր առմամբ բարդ է գտնել «մարդու գենետիկայի» ամփոփիչ սահմանում, քանի որ այն ներառում է նաև քաղաքական և տնտեսական խնդիրներ: «Գերմաներեն կլինիկական բառարանում» (*Pschyrembel, de Gruyter, Berlin, 1998*) «մարդու գենետիկան» ներկայացված է որպես բժշկական և գենետիկական մասնագիտություն, որն

ընդգրկում է մարդու ժառանգման օրինաչափությունների ուսումնասիրումը, գենետիկական հիվանդությունների պատճառների և դրանց կանխարգելման կամ բուժման մեթոդների մշակումը:

2. Մարդու գենետիկայի զարգացման պատմությունը

Մարդկանց միջև ժառանգական տարբերությունների մասին նախագիտական պատկերացումների սկիզբը դրվել է Հին Հունաստանում, որտեղ առաջ քաշվեց հատկանիշների ժառանգման առաջին տեսությունը՝ պանգենեզը: Մարդու գենետիկայի զարգացման պատմությունը բաժանվում է մի քանի պատմական փուլերի:

2.1. Նախամենդելյան ժամանակաշրջան

Ք.ա.~500-ական թթ.: Հույն փիլիսոփա Անաքսագորասը մշակել է նախածագման տեսությունը. էմբրիոնը նախաձևավորվում է հայրական սերմում, գոյություն ունեն արական և իգական սերմեր, որոնք տեղակայվում են տարբեր սերմնարաններում:

Ք.ա. ~350-ական թթ.: Հույն փիլիսոփա Արիստոտելը պնդում էր, որ միայն սերմնահեղուկն է պարունակում մարդու ստեղծման համար կարևոր գործոնները, իգական օրգանիզմն անհրաժեշտ է միայն էմբրիոնի սնուցման համար:

Ք.ա. ~40-ական թթ.: Հռոմեացի փիլիսոփա Լուկրեցիուսի «*Բնության երևույթների էության*» (*De rerum natura*) գրքում նշվում է. «Զավակները նման են իրենց ծնողներին և/կամ իրենց նախնիներին: Դրա պատճառն այն է, որ ծնողները կամ նախնիներն իրենց մարմնում ունեն անվերջ քանակությամբ ատոմների խառնուրդներ, որոնք ժառանգվում են հայրերից և նախահայրերից իրենց զավակներին»:

Հին դարերից մինչև միջնադար: Առաջ է քաշվում աբիոգենեզի տեսությունը: Ենթադրվում է, որ որոշ հիվանդություններ, ինչպիսիք են ժանտախտն ու խոլերան, առաջանում են վատ հոտ ունեցող օդից: Այդ հիվանդություններից էր նաև մալարիան (իտալերեն՝ mala aria – վատ օդ): Կային նաև այլ ենթադրություններ, ըստ որոնց՝ ճանճերն առաջանում են հին պանրից, տիզերը՝ քրտինքից, իսկ կարիճները, կրետները և մկները՝ փտող մսից:

~1600-ական թթ.: Մշակվում են առաջին մանրադիտակները, 1665 թ. բացահայտվում է բուսական բջիջը, որը դիտարկվում է որպես կյանքի գոյության միավոր:

1861 թ. Լուի Պաստյորը ցույց է տալիս, որ եռացված կաթում չեն առաջանում բակտերիաներ (*Omne vivum ex vivo – կյանքն առաջանում է միայն կյանքից*):

2.2. Մենդելյան ժամանակաշրջան

1854-1866 թթ.: Օգոստինյան քահանա Գրեգոր Յոհաննես Մենդելը (1822-1884 թթ.) փորձեր է կատարում ոլոռի վրա և բացահայտում ժառանգականության կամ մենդելյան երեք օրենքները: Սակայն տպագրված հոդվածը լայն տարածում չի գտնում գիտական հանրության շրջանակում:

1859 թ.: Չարլզ Դարվինը տպագրում է «Տեսակների առաջացումը բնական ընտրությամբ» գիրքը: Դարվինն ընթերցում է Մենդելի տպագրած հոդվածը, սակայն չի տեսնում կապն իր բացահայտման հետ:

1869 թ.: Ֆրիդրիխ Միշերը կորիզից անջատում է քրոմատինի հիմնական բաղադրիչ հանդիսացող թթվային հատկությամբ միացություն:

1879 թ.: Վալտեր Ֆլեմինգը՝ բջջագենետիկայի հիմնադիրը, կիրառում է «քրոմատին» և «միտոզ» տերմինները՝ հիմնվելով մանրադիտակային հետազոտությունների վրա:

1883 թ.: Ֆրենսիս Գալտոնն (Չարլզ Դարվինի զարմիկը) առաջարկում է «մարդկանց ռասայի կատարելագործում» հասարակության և պետության կողմից որոշակի գործողությունների միջոցով: Նա եվգենիկայի հիմնադիրն է:

1888 թ.: Հենրիխ Վիլհելմ Վալդեյերն առաջարկում է գործածել «քրոմոսոմ» (ներկվող մարմնիկ) բառը:

2.3. Մենդելյան օրենքների վերաբացահայտման ժամանակաշրջան

1900 թ.: Կառլ Կոռենսը, Էրիխ ֆոն Չերմակը և Հուգո դե Վրիզը վերաբացահայտում են Մենդելյան օրենքները:

Դե Վրիզը *Solanaceae* ցեղի բույսերի մոտ բացահայտում է, որ նոր ֆենոտիպ կարող է դրսևորվել գենում պատահական փոփոխության արդյունքում և այս երևույթը կոչում է մուտացիա (լատիներեն՝ *mutatio* – փոփոխություն):

1902/1903 թթ.: Վալտեր Սատտոնն ու Թեոդոր Բովերին առաջարկում են հատկանիշների ժառանգման քրոմոսոմային տեսությունը, համաձայն որի՝ Մենդելյան «ժառանգականության գործոնները» տեղակայված են քրոմոսոմներում:

Սատտոնը բացահայտել է նաև քրոմոսոմների «կրճատող կրկնապատկման»՝ մեյոզի կենսաբանական նշանակությունը, որը նկարագրվել էր 1883 թ. Էդուարդ Յոզեֆ Լուի-Մարի վան Բենեդենի կողմից:

1905 թ.: Վիլյամ Բեյթսոնը կիրառում է «գենետիկա» տերմինը:

1909 թ.: Վիլհելմ Յոհանսենը ներկայացնում է գենի՝ որպես հատկանիշների ժառանգական ինֆորմացիայի կրիչի մասին միտքը և մշակում «ֆենոտիպ» ու «գենոտիպ» հասկացությունները:

1910 թ.: Թոմաս Հանթ Մորգանը կրկնում է Մենդելի փորձերը *Drosophila melanogaster* պտղաճանճի մոտ: Այս մոդելային օրգանիզմը համապատասխանում էր տարբեր գեներով և դրանց համակցություններով պայմանավորված ֆենոտիպային դրսևորումների ուսումնասիրման համար: Նա ցույց տվեց, որ գեները «շարված են քրոմոսոմներում հուլունքների պես»: Մորգանը մշակում է գեների քարտեզավորման մեթոդը *Drosophila* պտղաճանճի մոտ: Այսպիսով՝ գենետիկական քարտեզներում հեռավորության միավորը նրա պատվին կոչվում է սանտի-Մորգան (սՄ):

2.4. Դասական գենետիկայի ժամանակաշրջան

1914 թ.: Թեոդոր Բովերին մշակում է քաղցկեղների առաջացման և զարգացման քրոմոսոմային տեսությունը, որի հիմնական դրույթները հետագայում հաստատվեցին:

1915-1945 թթ.: ԱՄՆ-ում և Եվրոպայում սկսվում են մտավոր հետամնացությամբ անձանց հարկադրված ստերիլիզացման ծրագրեր՝ առանց ճշգրիտ պատկերացում ունենալու գենի մասին՝ հիմնվելով Գալտոնի էվգենիկայի գաղափարների վրա: Ադոլֆ Հիտլերը «Իմ պայքարը» (Mein Kampf) գիրքը գրելիս 1924-1925 թթ. ոգեշնչված էր Գալտոնի գաղափարներով:

1921 թ.: Թեոֆիլուս Փեյնթերը «Science» գիտական ամսագրում տպագրում է առաջին հոդվածը, որտեղ ցույց է տալիս, որ մարդիկ ունեն 48 քրոմոսոմ, ինչպես մյուս խոշոր, մարդանման կապիկները:

1941 թ.: Էդվարդ Թեյթումն ու Ջորջ Բիդլը ապացուցում են, որ գեները կոդավորում են սպիտակուցներ, այսպես առաջ քաշվեց «մեկ գեն՝ մեկ սպիտակուց» գաղափարը:

1944 թ.: Թեոդոր Էյվերին և համահեղինակներն իրականացնում են *Pneumococcus* բակտերիայի մոտ տրանսֆորմացիայի փորձ: Նրանք եզրակացնում են, որ ԴՆԹ-ն, այլ ոչ թե սպիտակուցներն են գենետիկական ինֆորմացիայի կրողը:

1949 թ.: Էրվին Չարգաֆը բացահայտում է, որ ադենոզինն ու թիմինը, ցիտոզինն ու գուանինը ԴՆԹ-ում առկա են 1:1 հարաբերությամբ: Սակայն նա չընկալեց այս երևույթի կենսաբանական նշանակությունը:

1951 թ.: Ռոզալինդ Ֆրանկլինն ու Մորիս Ուիլկինսը ստանում են ԴՆԹ բյուրեղների ռենտգենյան պատկերները՝ մոտենալով ԴՆԹ կառուցվածքի բացահայտմանը:

1952 թ.: Տան Հսուն հաստատում է Փեյնթերի 1921 թ. կատարված եզրակացությունը, ըստ որի՝ մարդիկ ունեն 48 քրոմոսոմ: Դա սխալ էր, սակայն հարկ է նշել, որ Հսուն առաջինն է, որը ներդրել է քրոմոսոմների պատրաստման ժամանակ հիպոտոնիկ լուծույթով բջիջների մշակումը, ինչը կարևոր առաջընթաց էր:

1953 թ.: Հիմնվելով Ֆրանկլինի և Ուիլկինսի տվյալների վրա՝ Ջեյմս Ուոթսոնը և Ֆրենսիս Կրիկը մշակում են ԴՆԹ երկպարույր կառուցվածքային մոդելը:

1956 թ.: Ջո Հան Թիյոն և Ալբերտ Լևանը ցույց են տալիս, որ մարդիկ ունեն 46, այլ ոչ թե 48 քրոմոսոմ: Սա մարդու ուռուցքների և ժառանգական հիվանդությունների բջջագենետիկական ախտորոշման սկիզբն է: Մինչ 1965 թվականը մշակվում են քրոմոսոմների ստացման ստանդարտ մեթոդներ:

1957 թ.: Ֆրենսիս Կրիկը ձևակերպում է մոլեկուլային կենսաբանության «առանցքային դոգման». գենետիկական ինֆորմացիան ԴՆԹ-ից փոխանցվում է ՌՆԹ-ի միջոցով և դրսևորվում սպիտակուցի տեսքով:

1958 թ.: Մեթյու Մեզելսոնն ու Ֆրանկլին Սթալն ապացուցում են ԴՆԹ կիսակոնսերվատիվ կրկնապատկման մեխանիզմը:

1965 թ.: Մարշալ Նիրնբերգը բացահայտում է գենետիկական կոդը. երեք նուկլեոտիդային հիմք կոդավորում է մեկ ամինաթթու (տրիպլետային կոդ):

1968-1971 թթ.: Մինչև 1960-ական թթ. ավարտը քրոմոսոմների ուսումնասիրման համար կիրառվում էին ներկման միայն երեք մեթոդ՝

Ֆյոլգենի, Օրցեինի կամ Գիմզայի մեթոդները: 1968 թ. Լոր Զեքը մշակում է քրոմոսոմային բենդավորման՝ շերտավոր ներկման մեթոդը (Q-բենդավորում): 1971 թ. դոկտոր Սիբրայթը մշակում է G-բենդավորման մեթոդը, ինչի շնորհիվ հնարավոր է դառնում ուսումնասիրել ներքրոմոսոմային և միջքրոմոսոմային խաթարումները:

2.5. Գենոմիկայի ժամանակաշրջան

1969 թ.: Մարի Լու Պարդյուի և Ջոզեֆ Գալի կողմից մշակվում է ռադիոակտիվ in situ հիբրիդիզացման մեթոդը (տե՛ս *https://www.youtube.com/watch?v=OvSdfRe_qAI*):

1973 թ.: Սթենլի Կոհենը և Հերբերտ Բոյերը բակտերիալ բջջի մեջ ներմուծում են օտարածին ԴՆԹ, ինչը սկիզբ է դնում գենային տեխնոլոգիաների ժամանակաշրջանին:

1983 թ.: Քերի Մյուլլիսը մշակում է պոլիմերազային շղթայական ռեակցիան (ՊՇՌ), որի համար 1993 թ. ստանում է Նոբելյան մրցանակ:

1984 թ.: Ալեք Ջեֆրիսը պատահաբար բացահայտում է, որ մարդիկ տարբերվում են միմյանցից ԴՆԹ միկրոսատելիտային հաջորդականություններով (2-6 նուկլեոտիդ երկարությամբ) և մշակում է «գենետիկական մատնահետքերի» մեթոդը:

1986-1988 թթ.: Դեն Փինքելը և համահեղինակները մարդու քրոմոսոմների ուսումնասիրման համար մշակում են ոչ ռադիոակտիվ ֆլյուորեսցենտ *in situ* հիբրիդիզացման (անգլերեն՝ fluorescence in situ hybridization – FISH) մեթոդը:

1992 թ.: Օլլի Կալհոնիեմիի և համահեղինակների կողմից մշակվում է համեմատական գենոմային հիբրիդիզացիայի մեթոդը (անգլերեն՝ comparative genomic hybridization –CGH), իսկ 2002 թ. ստեղծվում է ԴՆԹ-չիպերի վրա հիմնված տարբերակը (անգլերեն՝ array CGH կամ aCGH):

1996 թ.: Միխայել Շփեյքերի և համահեղինակների կողմից ներկայացվում է Multiplex-FISH (M-FISH) մեթոդը, զուգահեռաբար Էվելին Շրյոկը տպագրում է սպեկտրալ կարիոտիպավորման վերաբերյալ առաջին հոդվածը: Երկու մեթոդներն էլ թույլ են տալիս հայտնաբերել բարդ քրոմոսոմային խաթարումները FISH մեթոդով՝ ներկելով մարդու բոլոր քրոմոսոմները տարբեր ֆլյուորոքրոմների համակցությամբ ստացվող 24 գույներով:

1992-2010 թթ.: Մշակվում են FISH մեթոդի տարբեր տեսակներ, որոնք թույլ են տալիս բացահայտել ներքրոմոսոմային աբեռացիաները:

1995 թ.: Քրեյգ Վենտերն առաջին անգամ սեքվենավորում է *Haemophilus influenzae* բակտերիայի ամբողջ գենոմը:

1997 թ.: Առաջին անգամ ամբողջությամբ սեքվենավորվում է էուկարիոտ օրգանիզմի՝ *Saccharomyces cerevisiae* գենոմը:

1997 թ.: Յան Վիլմութը հաջողությամբ կլոնավորում է հասուն կենդանուն՝ Դոլլի ոչխարին:

1998 թ.: Սեքվենավորվում է լայնորեն կիրառվող մոդելային օրգանիզմ՝ *Caenorhabditis elegans* նեմատոդի գենոմը:

2000 թ.: Ամբողջությամբ սեքվենավորվում են *Arabidopsis thaliana* բույսի և *Drosophila melanogaster* պտղաճանճի գենոմները:

2001 թ.: *Nature* և *Science* գիտական հանդեսներում հրապարակվում են «Մարդու գենոմ» ծրագրի (Human Genome Project – HUGO) շրջանակներում և Քրեյգ Վենտերի լաբորատորիայում (*Celera Genomics*) իրականացված մարդու գենոմի առաջին ամբողջական սեքվենավորման արդյունքները:

2000-2010 թթ.: Մարդու գենետիկայում կիրառվող հիմնական մեթոդը aCGH-ն է, որի միջոցով մարդու գենոմում բացահայտվում են հարյուրավոր էուքրոմատինային ԴՆԹ կրկնողությունների թվի փոփոխություններ (անգլերեն՝ copy number variant – CNV), որոնց կենսաբանական նշանակությունը հայտնի չէր:

2010 թ.: Քրեյգ Վենտերի լաբորատորիայում վերստեղծվում է առաջին սինթետիկ օրգանիզմը՝ *Mycoplasma mycoides* բակտերիան:

2012-2015 թթ.: Մշակվում է գենոմի խմբագրման նոր տեխնոլոգիա՝ CRISPR-Cas9 համակարգը, որը Շուքրատ Միտալիպովն առաջին անգամ կիրառում է մարդու էմբրիոնում *MYBPC3* գենի մուտացիայի շտկման նպատակով:

2010-2020 թթ.: Մոլեկուլային կենսաբանության հիմնական մեթոդը դառնում է հաջորդ սերնդի սեքվենավորումը:

2.6. Էպիգենոմիկա. Հետգենոմային ժամանակաշրջան

1990-2019 թթ.: Լ. Հ. Լոմեյը և ուրիշներ թերսնուցմամբ տառապող ծնողների սերունդներում բացահայտեցին կայուն էպիգենետիկական փոփոխություններ: Այսպիսով՝ էպիգենետիկան սկիզբ տվեց գենետիկական մեխանիզմների նոր ընկալմանը:

1990-2019 թթ.: Ջոն Գուրդենը հաջողությամբ իրականացնում է կորիզի փոխպատվաստում և բջիջների վերածրագրավորում:

2010-2019 թթ.: **Ենթադրություն.** *Էպիգենետիկական փոփոխությունները (ներառյալ միկրոՌՆԹ-ի մակարդակում) կարող են հանդիսանալ էվոլյուցիայի ընթացքում հարմարվողականության նախնական փուլը: Այս փոփոխությունները «ինչ-որ կերպ» կայունանում են և պահպանվում ԴՆԹ-ում:*

2016-2019 թթ.: Հայտնաբերվում են բազմաթիվ միկրոՌՆԹ-ներ և այլ ՌՆԹ-ներ: Վերանում է «անկարևոր ԴՆԹ»-ի (junk-DNA) գաղափարը:

2015-2018 թթ.: Չինացի գիտնականները պնդում են, որ գենետիկորեն խմբագրել են նորածին զույգերի գենոմները CRISPR-Cas9 համակարգի միջոցով՝ երեխաներին հայրական ՁԻԱՀ-ի վարակից պաշտպանելու համար: Այդ աշխատանքը ենթարկվում է սուր քննադատության, իսկ գիտական ղեկավարը՝ Հե Ցզյանկույը դատապարտվում է երեք տարվա ազատազրկման և տուգանվում 430 հազ. ԱՄՆ դոլարի չափով:

3. Մարդու գենետիկայի չորս «Մ»-երը

Մարդու գենետիկայի ուսումնասիրությունների առանցքը կազմում են Մենդելի օրենքները, միտոզը, մեյոզը և մուտացիաները:

3.1. Մենդելի օրենքները

Գրեգոր Յոհան Մենդելը (1822-1884 թթ.) Օգոստինյան վանական է, ֆիզիկոս, որը չափազանց հետաքրքրված էր օդերևութաբանությամբ, մեղվապահությամբ և ժառանգականության օրինաչափություններով:

Վիեննայում ուսուցանել է ֆիզիկա պրոֆեսոր Քրիստիան Դոպլերի (Դոպլերի էֆեկտ) ղեկավարությամբ: Հետագայում մեծ դժվարությամբ դարձել է ֆիզիկայի ուսուցիչ Բռնոյի վանքում:

Մենդելին հաջողվել է ուսումնասիրել հատկանիշների ժառանգականությունը կարմիր կամ սպիտակ ծաղիկներ ունեցող, դեղին կամ կանաչ սերմերով ոլոռի մոտ (ընդհանուր առմամբ ուսումնասիրել է 6 անկախ հատկանիշ):

Մենդելի հետազոտություններից բխում են հետևյալ գաղափարները.

- հատկանիշները ժառանգվում են գեների միջոցով,
- գեները ներկայացված են զույգերով՝ ալելներով: Դրանք կարող են լինել ռեցեսիվ (a) և դոմինանտ (A),
- ծնողական առանձնյակներից յուրաքանչյուրը հաջորդ սերնդին փոխանցում է իր ալելներից մեկը: Ալելների ժառանգումը տեղի է ունենում պատահականության սկզբունքով (1/2),
- ֆենոտիպը որոշվում է երկու ալելներով (գենոտիպ)՝ դոմինանտ ալելի ֆենոտիպային գերակշռմամբ: Ռեցեսիվ ալելը կարող է ազդել ֆենոտիպի վրա գենոտիպում երկու օրինակով հանդիպելու դեպքում:

Օրենք 1: Միակերպության օրենք

Հոմոզիգոտ առանձնյակների սերունդը նման է երկու ծնողական առանձնյակի: Դոմինանտ-ռեցեսիվ ժառանգականության դեպքում սերնդի մոտ դրսևորվում են դոմինանտ ալելով ծնողական առանձնյակի

հատկանիշները: Ռեցեսիվ ալելներն առկա են գենոտիպում, սակայն չեն դրսևորվում այս սերնդի մոտ:

Օրենք 2: Գեների անկախ բաշխման օրենք

Հետերոզիգոտ առանձնյակների սերունդները միակերպ չեն. առաջանում են ֆենոտիպորեն տարբերվող առանձնյակներ՝ որոշակի հաճախականությամբ.

- դոմինանտ-ռեցեսիվ հատկանիշներ՝ 3:1 հարաբերությամբ,
- միջանկյալ ժառանգում՝ 1:2:1 հարաբերությամբ:

Օրենք 3: Հատկանիշների ձեղքավորման օրենք

Մենդելը, խաչասերելով նաև մի քանի հատկանիշներով տարբերվող բույսերի ծնողական առանձնյակներ, բացահայտեց, որ այդ հատկանիշների տարբեր համակցությունները (օրինակ՝ սերմի գույնը և ձևը) կարող են դրսևորվել միևնույն սերնդի մոտ: Դա հնարավոր էր միայն այն դեպքում, եթե այս հատկանիշները միմյանց հետ կապված չէին, այսինքն՝ գտնվում էին տարբեր քրոմոսոմներում: Այսպիսով՝ առանց իմանալու քրոմոսոմների կամ գեների բնույթի մասին Մենդելը կանխատեսեց և ապացուցեց երկուսի գոյությունը:

Հիմնվելով Մենդելի օրենքների վրա՝ տարբերում են հատկանիշների ժառանգման երկու հիմնական տեսակ՝ **մենդելյան և ոչ մենդելյան** (Գլուխ 4.2.):

3.2. Միտոզ

Միտոզը՝ բջջի կամ կորիզի կիսումը, բացահայտվել է 1835 թ. (Հյուգո ֆոն Մոլ) կանաչ ջրիմուռների մոտ, ինչի վրա հիմնված է Ռուդոլֆ Վիրհովի «յուրաքանչյուր կենդանի բջիջ առաջանում է միայն կենդանի բջջից» (լատիներեն՝ *Omnis cellula e cellula*) հայտնի արտահայտությունը: Հետագայում Լուի Պաստյորը սահմանել է. «Կյանքը կարող է առաջանալ միայն կյանքից» (լատիներեն՝ *Omne vivum ex vivo*):

Միտոզը (հունարեն – μίτος՝ թել) կորիզի բաժանման գործընթացն է էուկարիոտ բջիջներում (նաև կարիոկինեզ): Ինտերֆազում ԴՆԹ-ն և քրոմոսոմները կրկնապատկվում են, հետևաբար միտոզից հետո դուստր բջիջները կրում են միատեսակ (իդենտիկ) քրոմոսոմային զույգեր:

Մարդու մարմնի բջիջների ընդհանուր թիվը կազմում է մոտ 37 տրիլիոն: Որպես կանոն, բջջագենետիկական ախտորոշման ժամանակ ու-

սումնասիրվում է բոլոր բջիջների մոտ 0.0000000000037%-ը, ինչի հետևանքով հաճախ թերագնահատվում են մոզաիկ դեպքերը:

3.3. Մեյոզ

Մեյոզը (հունարեն՝ *meíōsis* – կրճատել, պակասեցնել) բջջի բաժանման յուրահատուկ մեխանիզմ է, որի արդյունքում քրոմոսոմների դիպլոիդ թիվը կրկնակի կրճատվում է՝ դառնալով հապլոիդ, և ձևավորվում են գամետներ: Տեղի է ունենում նաև մայրական և հայրական գենոմների միջև ռեկոմբինացիա: Տարբերում են մեյոզի բաժանման I և II փուլերը, որի արդյունքում մեկ բջջից առաջանում են ծնողական բջջից գենետիկորեն տարբերվող չորս գամետներ: Մեյոզի ընթացքում յուրաքանչյուր քրոմոսոմ ունի ևվազագույնը մեկ քիազմ (հոմոլոգ քրոմոսոմների միջև սպիտակուցային կառույց, որն ապահովում է քրոսինգօվերի իրականացումը):

Մեյոզի ընթացքում արական և իգական գամետները ձևավորվում են տարբեր կերպ: Իգական օրգանիզմում օոցիտները տասնամյակներ շարունակ կարող են մնալ մեյոզի I փուլում: Սեռահասուն օրգանիզմում մեյոզի I փուլն ավարտվում է օվուլյացիայից մեկ օր առաջ, ձևավորվում է երկրորդային օոցիտ: Մեյոզի I փուլի ավարտից հետո անմիջապես ակտիվանում է Cdk1 կինազն, որն արգելակում է նախասռեպլիկացիոն կոմպլեքսների ձևավորումը, հետևաբար՝ ԴՆԹ ռեպլիկացիան: Օվուլյացիայից հետո երկրորդային օոցիտը ձերբակալվում է մեյոզի II փուլի մետաֆազում և ավարտում ցիկլը միայն բեղմնավորման դեպքում, մինչդեռ արական օրգանիզմում սպերմատոգոնիումները ձևավորվում են շարունակաբար *de novo*: Այսպիսով՝ քրոմոսոմների տարամիտման խաթարումներ առավել հաճախ հանդիպում են (տարեց) կանանց գամետներում, իսկ կետային մուտացիաները՝ (տարեց) տղամարդկանց մոտ:

3.4. Մուտացիաներ

Գենետիկայում «մուտացիա» տերմինն առաջին անգամ կիրառել է Հուգո դե Վրիզը: Մուտացիաները պայմանավորված են բջջում ԴՆԹ նուկլեոտիդային հաջորդականության փոփոխությամբ կամ քրոմոսոմային խաթարումներով:

Մուտացիաները, փոփոխելով ԴՆԹ-ում կողավորված գենետիկական ինֆորմացիան, կարող են հանգեցնել ֆենոտիպի փոփոխությանը: Տարբերում են սեռական (կարող են ժառանգվել) և սոմատիկ (սահմանափակվում են տվյալ օրգանիզմով) բջիջների մուտացիաներ, գենոմային (պոլիպլոիդիա, քրոմոսոմների տրիսոմիաներ, մոնոսոմիաներ), քրոմոսոմային (դելեցիա, դուպլիկացիա, տրանսլոկացիա, ինսերցիա, ինվերսիա) և գենային մուտացիաներ (բջջագենետիկորեն անտեսանելի դելեցիա, դուպլիկացիա, տրանսլոկացիա, ինսերցիա, ինվերսիա, ինչպես նաև նուկլեոտիդային էքսպանսիաներ): Ըստ մուտացիայի առաջացման բնույթի՝ տարբերում են սպոնտան և մակածված մուտացիաներ: Սպոնտան մուտացիաները կարող են առաջանալ ԴՆԹ ռեպլիկացիայի սխալների, նուկլեոտիդային հիմքերի դեպուրինացման կամ դեպիրիմիդինացման, սահող շղթայի սխալ զույգավորման արդյունքում, ինչպես նաև տրանսպոզիցիաների հետևանքով: Յուրաքանչյուր օր մարդու յուրաքանչյուր բջջում տեղի են ունենում սպոնտան դեպուրինացման 2.000-10.000 դեպքեր:

Մակածված մուտացիաներն առաջանում են մուտագենների և/կամ գենաթույների ազդեցությամբ, որոնք բաժանվում են երեք հիմնական խմբի՝ ֆիզիկական (օրինակ՝ ճառագայթում), քիմիական (օրինակ՝ միկոտոքսիններ) և կենսաբանական (օրինակ՝ միտոքոնդրիումային ԴՆԹ ինսերցիաները):

Մուտացիաները գենոմի կայուն փոփոխություններն են, որոնք կարող են առաջացնել հիվանդություններ կամ ֆենոտիպային տարբերություններ՝ պոլիմորֆիզմներ (օրինակ՝ կպած կամ ազատ ականջախեցի, Դարվինի թմբիկը, «այրիի» կատարը, «հիչհայքերի» բութ մատ, լեզուն օղակաձև ծալելու հատկությունը; Գլուխ 16): Պոլիմորֆիզմը սահմանվում է որպես ԴՆԹ հաջորդականության փոփոխություն, որը հանդիպում է պոպուլյացիայում 1 % (պայմանական արժեք) կամ ավելի բարձր հաճախականությամբ: Եթե պոպուլյացիայում պոլիմորֆիզմը հանդիպում է բարձր հաճախականությամբ, ապա այն ունի չեզոք կամ

դրական նշանակություն: Հետաքրքիր է, որ մեկ նուկլեոտիդի փոփոխությամբ որոշ պոլիմորֆիզմներ կարող են դասվել նաև հիվանդություն առաջացնող մուտացիաների շարքին՝ կախված գենոտիպից և պոպուլյացիայից (օրինակ՝ մանգաղաբջջային անեմիան):

Բոլոր վերը նշված երևույթների հիմքում ընկած է ԴՆԹ-ում նուկլեոտիդների հաջորդականության փոփոխությունը, որը հանգեցնում է տարբեր ալելների ձևավորմանը:

4. Բժշկական գենետիկա

Բժշկական գենետիկան ուղղված է գենետիկական հիմք ունեցող հիվանդությունների ճշգրիտ ախտորոշմանը: Նախնական ախտորոշումն իրականացվում է ֆենոտիպի՝ կլինիկական ախտանիշների (հունարեն՝ *kline* – մահճակալ և *geneá* – առաջացած) վերլուծության հիման վրա:

Բժիշկը վերլուծում է հիվանդի գանգատները, ախտորոշում է հիվանդությունը, որի վրա էլ հիմնվում է բուժումը: Բոլոր փուլերում որոշումները կայացվում են բժշկի կողմից: Սակայն երբ հիվանդը դիմում է բժիշկ-գենետիկի, ապա հիվանդության գենետիկական պատճառները փնտրվում են հիվանդի հետ միասին: Գենետիկական խորհրդատվության ընթացքում հիվանդը տեղեկացվում է սեփական հիվանդության գենետիկական պատճառների մասին, և, ի վերջո, նա ինքն է որոշում իր հիվանդության բուժմանն առնչվող գործողությունները: Այստեղ բժիշկ-գենետիկը որոշում է, թե ինչ գենետիկական թեստեր պետք է կիրառվեն տվյալ հիվանդության ախտորոշման համար և առաջարկում դրանք հիվանդին: Առաջին փուլում իրականացվում է տոհմաբանական ծառի վերլուծություն:

4.1. Տոհմաբանական ծառի վերլուծություն

Հիվանդի տոհմաբանական ծառը կառուցվում է նրա հետ խորհրդակցության միջոցով՝ քննելով ընտանեկան պատմությունը:

- Վերլուծվում են ազգականների միջև կապերը:
- Ինչպիսի՞ ախտանշաններ կամ հիվանդություններ են հայտնի:
- Ո՞ր տարիքում են մահացել տարբեր ազգականները և այլն:

Հարկ է նշել, որ տոհմաբանական ծառի «կմախքը» կառուցվում է ֆենոտիպի հիման վրա: Գենոտիպի վրա հիմնված տոհմաբանական ծառը կարող է կառուցվել միայն համապատասխան բջջագենետիկական կամ մոլեկուլային վերլուծությունից հետո:

Հիմնվելով տոհմաբանական ծառի վրա՝ կարելի է հաշվարկել հիվանդության կրկնության կամ հետագա հանդիպման ռիսկ, ուստի անհրաժեշտ է.

- → գենետիկական խորհրդատվության ընթացքում տոհմաբանական ծառի կառուցում,
- → նվազագույնը մինչև 3 սերունդների մասին տեղեկություն:

Որքան մեծ լինի տոհմաբանական ծառը, այն այնքան ավելի շատ տեղեկատվություն կպարունակի:

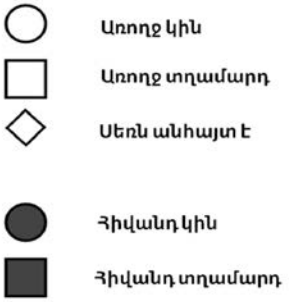
Ընդհանրացնելով՝ կարելի է ասել, որ գենետիկական խորհրդատվությունն անհրաժեշտ է ժառանգական հիվանդության պատճառի՝ գենի բացահայտման համար: Գենը կարող է լինել դոմինանտ, ռեցեսիվ, կամ էլ կողմինանտ (օրինակ՝ մարդու արյան խմբերը կողավորող ալելները): Ավելի լավ պատկերացնելու համար, թե ինչպես են երկու ծնողների տարբեր ալելներ համակցվում սերնդի մոտ, կառուցում են Պենետի ցանցը (եթե աուտոսոմ-դոմինանտ հատկանիշ է՝ aa = առողջ; Aa = հիվանդ):

հայրական / մայրական	a	a
A	aa	aa
A	Aa	Aa

Պենետի աղյուսակ՝ մեկ գենի երկու ալելների համար: Այն կարող է ավելի բարդ լինել, եթե ներգրավված են մի քանի գեներ և ալելներ, օրինակ՝ բազմագեն ժառանգման դեպքում (Գլուխ 4.2.2.բ):

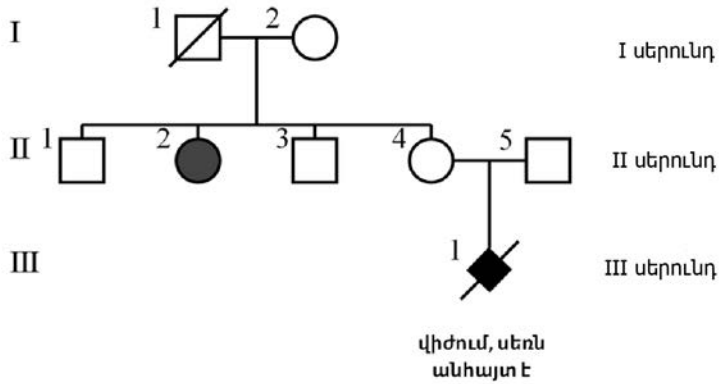
Ուսումնասիրվող գեները կարող են տեղակայված լինել մարդու 22 աուտոսոմ քրոմոսոմների կամ սեռական քրոմոսոմների վրա: Այսպիսով՝ տարբերում են նաև աուտոսոմային և գոնոսոմային ժառանգականություն:

Տոհմաբանական ծառի կառուցման նպատակով կիրառվում են տարբեր նշաններ: Դատարկ օղակ՝ իգական սեռի համար, դատարկ քառակուսին՝ արական, ռոմբաձև՝ անհայտ սեռի դեպքում, ներկված օղակ կամ ներկված քառակուսի՝ հիվանդի համար և այլն (նկար 1):



Նկար 1. Տոհմաբանական ծառի կառուցման համար կիրառվող հիմնական նշաններ

Նկար 2-ում պատկերված է երեք սերունդների վերլուծությամբ տոհմաբանական ծառի օրինակ:



Նկար 2. 3 սերնդից կազմված տոհմաբանական ծառ:
I/1 և III/1 անհատները հիվանդ են:

Տոհմաբանական ծառի վերլուծությունը մանրամասնորեն ներկայացված է «*Մարդու գենետիկայի մեթոդներ*» (*Ջալինյան, Կիրակոսյան, 2014*) գրքում:

4.2. Ժառանգականության տեսակները

Դեռևս հին դարերից հայտնի էր, որ ժառանգական հիվանդությունը կարող է առկա լինել ընտանիքում, սակայն ծնողներից չփոխանցվել

իրենց երեխաներին: Ավելի լավ պատկերացնելու համար, թե ինչպես է դա տեղի ունենում, ժառանգական հիվանդությունները դասակարգվում են երկու խոշոր խմբում՝ մենդելյան և ոչ մենդելյան, որոնցից յուրաքանչյուրը համապատասխանաբար ներառում է հինգ և չորս ենթախումբ:

4.2.1. Մենդելյան ժառանգականություն

ա) Աուտոսոմ-դոմինանտ

Նկարագրիչներ

+ Հիվանդ անհատները հաջորդում են միմյանց յուրաքանչյուր սերնդում:

+ Հիվանդությունը հանդիպում է և՛ կանանց, և՛ տղամարդկանց մոտ:

+ Եթե տոհմաբանական ծառում որևէ մեկի մոտ բացակայում են հիվանդության ֆենոտիպային դրսևորումները, ապա տվյալ անհատը և իր երեխաները (բարձր հավանականությամբ) առողջ կլինեն:

+ Հիվանդ անհատի մոտ տվյալ հիվանդությամբ տառապող երեխայի ծնվելու հավանականությունը կազմում է 50 %:

+ Հիվանդությունն առաջանում է աուտոսոմ քրոմոսոմում (քրոմոսոմներ՝ #1-#22) տեղակայված գենի մուտացիայի պատճառով:

+ Եթե հիվանդությունը դրսևորվել է ֆենոտիպում, ապա գենոտիպը կլինի Aa կամ AA (AA գենոտիպի դեպքում հիվանդությունը դրսևորվում է ավելի վաղ և բարդ ախտանիշներով՝ համեմատած Aa-ի հետ):

+ Մուտացիայի ենթարկված գենը դոմինանտում է նորմալ տարբերակին:

Չափանիշ 1. Տոհմաբանական ծառում հիվանդի ծնողներից մեկը պարտադիր հիվանդ է տվյալ հիվանդությամբ:

Բացառություններ

1) Առողջ ծնողների գամետներում նոր մուտացիայի առաջացում:

2) Պենետրանտությունը կազմում է <100 %, օրինակ՝ պենետրանտության 80 %-ի դեպքում հիվանդությունը ֆենոտիպորեն կդրսևորվի տվյալ մուտացիան կրողների միայն 80%-ի մոտ, գենը կրողը չունի ֆենոտիպային դրսևորում, սակայն դրսևորվում է սերնդի մոտ:

3) Սինչև ախտանիշների դրսևորումը (օրինակ՝ Հանթինգթոնի հիվանդություն) մահանալու հետևանքով անհնարին է պնդել՝ արդյոք տվյալ անհատը հիվանդ էր, թե ոչ:

4) Փոփոխական էքսպրեսիվություն. ընտանիքում հիվանդությունը դրսևորվում է ոչ լիարժեք կերպով, որի դեպքում առանց ախտանիշների հիվանդը կարող է փոխանցել հիվանդությունը հաջորդ սերնդին՝ բոլոր ախտանիշների դրսևորումներով:

Չափանիշ 2. Հիվանդ անհատի յուրաքանչյուր երեխայի մոտ հիվանդությունը կարող է դրսևորվել 50 % հավանականությամբ:

Բացառություններ

- Տե՛ս 1/2՝ պենետրանտություն:

Չափանիշ 3. Ֆենոտիպորեն նորմալ ընտանիքի անդամները չեն փոխանցում մուտացիայի ենթարկված գենը:

Բացառություններ

- Տե՛ս 1/1՝ նոր մուտացիա:
- Տե՛ս 1/2՝ պենետրանտություն:
- Տե՛ս 1/3՝ մահ:
- Տե՛ս 1/4՝ թույլ դրսևորում:
- Ծնողի մոտ գոնադային մոզաիկություն:

Չափանիշ 4. Կանայք և տղամարդիկ հիվանդանում են միևնույն հաճախականությամբ:

Բացառություններ

Որպես կանոն, բացակայում են:

Սակայն ֆենոտիպի ձևավորմանը մասնակցում են բազմաթիվ գեներ (Գլուխ 17), հետևաբար ֆենոտիպում երբեք չի հանդիպում 100 % նմանություն ոչ անհատների և ոչ էլ սեռերի միջև:

Օրինակ 1: 2-րդ տիպի հիպերխոլեստերինեմիա

Լիպիդների մետաբոլիզմի խաթարմամբ պայմանավորված հիվանդություն, որի դեպքում հիվանդների մոտ բարձրանում է արյան խոլեստերինի մակարդակը (>200 մգ/դլ): Հիվանդությունն առաջանում է ցածր

խտությամբ լիպոպրոտեինի ընկալիչը կոդավորող գենի մուտացիայի արդյունքում (քրոմոսոմ 19q13.2): Հետերոզիգոտների մոտ արյան մեջ ցածր խտությամբ լիպոպրոտեինների կոնցենտրացիան կազմում է 270-550 մգ/դլ, իսկ հոմոզիգոտների մոտ՝ 650-1000 մգ/դլ:

Ախտանիշները մաշկում ճարպի կուտակումներն են, ինչը հանգեցնում է քսանթոմոնաս և մի շարք այլ հիվանդությունների առաջացմանը: Հիվանդների մոտ բարձր է սիրտանոթային համակարգի հիվանդությունների զարգացման հավանականությունը: Հանդիպում է 1:500 (Aa) և 1:1.000.000 (AA) հաճախականությամբ:

Օրինակ 2: Ախոնդրոպլազիա

Ախոնդրոպլազիան հանգեցնում է անհամաչափ թզուկության, հատկապես ախտահարվում են երկար ոսկրերը: *FGFR3* (ֆիբրոբլաստների աճի գործոնի ընկալիչ 3) գենի (քրոմոսոմ 4p16.3) մուտացիան արգելակում է խոնդրոցիտների բաժանումը և հանգեցնում աճառային հյուսվածքի զարգացման խաթարումների: Հիվանդներն ունենում են 120-148 սմ հասակ՝ կանգնած վիճակում: Հանդիպում է 1:40.000 հաճախականությամբ:

Օրինակ 3: Հանթինգթոնի հիվանդություն (նախկինում Սուրբ Վիտուսի պար)

Հանթինգթոնի հիվանդությունը նեյրոդեգեներատիվ անբուժելի հիվանդություն է, որի առաջին ախտանիշները դրսևորվում են 30-ից մինչև 60 տարեկան հասակում, իսկ մահն առաջանում է ~15 տարի անց: Ախտանիշները ներառում են ատաքսիա և հոգեկան խանգարումներ: Ինչպես բնորոշ է աուտոսոմ-դոմինանտ հիվանդություններին, հոմոզիգոտների մոտ առաջին ախտանիշները դրսևորվում են ավելի վաղ և սուր, քան հետերոզիգոտների մոտ: Պենետրանտությունը կազմում է 100 %՝ հանթինգթին գենի մուտացիայի դեպքում (քրոմոսոմ 4p16.3): Հանդիպում է 1:20.000 հաճախականությամբ:

Օրինակ 4: 1-ին տիպի նեյրոֆիբրոմատոզ կամ Ռեկլինգհաուզենի հիվանդություն

Նեյրոֆիբրոմին գենի մուտացիան 17q11.2 քրոմոսոմում հանգեցնում է մաշկում և նյարդային համակարգում տարբեր ախտանիշների դրսևորմանը: Նոր մուտացիաների առաջացման հաճախականությունը խիստ բարձր է, քանի որ մեծ գեն է (350 կնգ): Հիվանդների մաշկի վրա

հանդիպում են բաց շագանակագույն պիգմենտավորումներ (Café-au-lait), մաշկի բարորակ ուռուցքներ, ինչպես նաև նեյրոֆիբրոմաներ (Ծվանի բջիջների ուռուցքներ): Էքսպրեսիան կարող է լինել խիստ փոփոխական, հանդիպում է 1:3.000 հաճախականությամբ:

բ) Աուտոսոմ-ռեցեսիվ

Նկարագրիչներ

+ Առաջին սերնդում երկու ծնողներն առողջ են, սակայն հետերոզիգոտ են՝ ըստ որոշակի գենի մուտացիայի առկայության:

+ Երկրորդ սերնդում հիվանդության դրսևորման հավանականությունը կազմում է 25 %:

+ Հետերոզիգոտները հանդիպում են 66.7 % հավանականությամբ, հետևաբար սերնդի 2/3-ը առողջ կլինի:

+ Հիվանդությունն առաջանում է աուտոսոմային քրոմոսոմում տեղակայված գենի մուտացիայի պատճառով:

+ Հիվանդությունը ֆենոտիպորեն դրսևորվում է միայն գենի հոմոզիգոտ (aa) կրողների մոտ:

+ Նորմալ գենը (A) դոմինանտում է հիվանդություն առաջացնող գենի տարբերակի նկատմամբ (a):

Չափանիշ 1. Հիվանդները չեն հանդիպում հաջորդ երկու սերունդներում:

Բացառություններ

1) Մոտ ազգակցական ամուսնություն:

2) Հիվանդությունը հոմոզիգոտ կրողների մոտ թույլ է դրսևորվում (թույլ էքսպրեսիվություն):

3) Պոպուլյացիայում ալելային հաճախականությունը բարձր է, հետևաբար կարող է առաջանալ փսևդո-դոմինանտություն 1/2-ի հետ միասին:

Չափանիշ 2. Կանայք և տղամարդիկ հիվանդանում են նույն հաճախականությամբ:

Բացառություններ

Որպես կանոն, բացակայում են, սակայն պետք է նկատի ունենալ պենետրանտությունն ու էքսպրեսիվությունը:

Չափանիշ 3. Առողջ, բայց հետերոզիգոտ ծնողների երեխաների մոտ հիվանդության դրսևորման հավանականությունը կազմում է 25 %:

Չափանիշ 4. Մոտ ազգակցական ամուսնությունների դեպքում աուտոսոմ-ռեցեսիվ հիվանդության դրսևորման հավանականությունը բարձրանում է:

Բացառությունները երկու չափանիշների դեպքում

1) Կարող է հանդիպել ավելի հաճախ, քան սպասվում է պոպուլյացիայում հետերոզիգոտների հանդիպման բարձր հաճախականության դեպքում, օրինակ՝ մուտանտ գենի հանդիպման հաճախականությունը >1:100 (այստեղ պոպուլյացիոն ռիսկը՝ q^2=1:10 . 000):

Օրինակներ

- ֆենիլկետոնուրիա – թուրքերի մոտ,
- β-թալասեմիա – միջերկրածովյան երկրներում,
- Թայ-Սաքսի հիվանդություն – աշքենազի հրեաների մոտ,
- մանգաղաբջջային անեմիա – աֆրիկացիների կամ աֆրոամերիկացիների մոտ → ռեզիստենտություն մալարիայի հարուցչի նկատմամբ,
- ցիստիկ ֆիբրոզ – սպիտակամորթների մոտ (միջին Եվրոպա) → ռեզիստենտություն խոլերայի նկատմամբ,
- Էլիս վան Կրեվելդի համախտանիշ – Փենսիլվանիայի (ԱՄՆ) համշենների մոտ (Գլուխ 16):

Առաջին զարմիկների միջև ամուսնության դեպքում հիվանդությամբ տառապող երեխայի ծնվելու հավանականությունը մոտ 6 անգամ բարձր է: Գերմանիայում մոտ ազգակցական ամուսնությունները հանդիպում են 0.1-0.3%, Թուրքիայի հարավում՝ 28 % հաճախականությամբ:

<u>Ի՞նչ է համակցված հետերոզիգոտությունը:</u>

Եթե աուտոսոմ-ռեցեսիվ հիվանդությունն առաջացել է երկու ալելներում միևնույն մուտացիայի հետևանքով, ապա այդ ալելները հոմոլոգ են միմյանց նկատմամբ: Եթե երկու ալելներում առկա են երկու տարբեր մուտացիաներ, որն ուղեկցվում է հիվանդության դրսևորմամբ, դա կոչվում է համատեղված հետերոզիգոտություն: Ֆենիլկետոնուրիայի կամ

ցիստիկ ֆիբրոզի ժամանակ այս երևույթն էականորեն ազդում է ֆենոտիպի վրա:

Օրինակ 1: Ֆենիլկետոնուրիա

Ֆենիլկետոնուրիան առաջանում է *PAH* (*ֆենիլալանին հիդրօքսիլազ*) գենի մուտացիայի հետևանքով (քրոմոսոմ 12q23.2), որի ժամանակ ֆենիլալանինի կենսափոխարկումը խաթարվում է: Այն կուտակվում է և վերափոխվում ֆենիլպիրուվատի, ֆենիլացետատի, ֆենիլլակտատի, ինչն էլ հանգեցնում է սուր մտավոր հետամնացության և ցնցումների: Ախտորոշումն իրականացվում է մեզում ֆենիլկետոնի հայտնաբերմամբ կամ պոլիմերազային շղթայական ռեակցիայի միջոցով:

Բուժումը: Սպիտակուցների ցածր քանակությամբ սննդի օգտագործում ողջ կյանքի ընթացքում: Հանդիպում է 1:8.000 հաճախականությամբ:

Օրինակ 2: Մուկովիսցիդոզ (լատիներեն mucus – լորձ, viscidus – կպչուն/մածուցիկ) կամ ցիստիկ ֆիբրոզ

Հիվանդությունն առաջանում է *CFTR* (*ցիստիկ ֆիբրոզի տրանսմեմբրանային հաղորդչականության կարգավորիչ*, քրոմոսոմ 7q31.2) գենի մուտացիայի հետևանքով, ինչը հանգեցնում է քլոր-իոնական անցուղիների կառուցվածքային փոփոխության և արտազատական գեղձերի բարձր մածուցիկությամբ արտազատուկի առաջացմանը: Ներկայումս նկարագրված է *CFTR* գենի գրեթե 1.000 մուտացիա:

Առողջ մարդկանց մոտ *CFTR* գենը կողավորում է քլոր-իոնական անցուղու սպիտակուց, որի միջոցով Cl^- իոնները դուրս են բերվում բջջից, որից հետո բջջից դուրս է գալիս նաև ջուրը, քանի որ արտաբջջային միջավայրում բարձրանում է աղերի կոնցենտրացիան: Ցիստիկ ֆիբրոզով տառապող երեխաների թոքերում կուտակվում է մածուցիկ լորձ, որը հանգեցնում է քրոնիկ հազի, հաճախակի առաջացող թոքային ինֆեկցիաների կամ սուր թոքաբորբի: Արտազատուկները բակտերիաների և վիրուսների համար բիոտոպ են: Ցիստիկ ֆիբրոզով տառապող նորածինների 10 %-ի մոտ առաջանում է աղիների խցանում (*meconium ileus*): Ցիստիկ ֆիբրոզի ավելի թույլ ախտանիշներով տեսակները գլխավորապես առաջացնում են արական անպտղություն: Հիվանդության հանդիպման հաճախականությունը տարբեր է մարդկանց տարբեր պոպուլյացիաներում: Եվրոպայում հանդիպում է 1:2.000 (հետերո-

զիգոտներն ունեն առավելություն), աֆրիկացիների մոտ՝ 1:17.000, իսկ ասիական երկրներում՝ 1:90.000 հաճախականությամբ:

Օրինակ 3: Ժառանգական հեմոքրոմատոզ

Ժառանգական հեմոքրոմատոզը նկարագրվում է աղիների կողմից սննդում պարունակվող երկաթի գերկլանմամբ, ինչի հետևանքով օրգանիզմում բարձրանում է երկաթի ընդհանուր կոնցենտրացիան: Հաճախ հանդիպող ախտանշաններն են հոգնածությունը, հողերի և ոսկրերի ցավը, լյարդի ցիրոզը և սրտային անբավարարությունը: Հեմոքրոմատոզի երկարատև ազդեցությունն այս օրգանների վրա կարող է հանգեցնել մահվան համապատասխան բուժման բացակայության դեպքում (հիվանդության պատճառ կարող են լինել հինգից ավել գեների մուտացիաներ): Բուժման նպատակով կիրառվում է թերապևտիկ ֆլեբոտոմիա (արյան հեռացում արյունատար համակարգից վենեսեկցիայի ճանապարհով):

Հիվանդությունը եվրոպական պոպուլյացիայում հանդիպում է 5-10 % հաճախականությամբ:

Օրինակ 4: Կայունություն ՄԻՎ-ի նկատմամբ

CCR5-դելտա 32 մուտացիան (C-C քեմոկինային ընկալիչ 5, քրոմոսոմ #3) հանգեցնում է ինֆեկցիոն հիվանդությունների նկատմամբ կայունության: Ենթադրվում է, որ այս մուտացիան ծագել և տարածվել է եվրոպական պոպուլյացիայում կարմրուկի ազդեցությամբ դրական ընտրության շնորհիվ: Եվրոպացիաների միայն 14 %-ն է կրում ռեցեսիվ մուտացիան, *Aa* հետերոզիգոտ կրողները մասնակիորեն ռեզիստենտ են ՁԻԱՀ/ՄԻԱՎ-ի նկատմամբ, իսկ *aa* կրողները՝ ամբողջությամբ: Հարկ է նշել, որ որոշ հոմոզիգոտ մուտացիա կրողների մոտ գրանցվել է ՄԻԱՎ:

գ) X և Y քրոմոսոմների մասին

X քրոմոսոմ

1890 թ. Հերման Հենքինգը *Pyrrhocoris* ցեղի միջատների սերմնաբանների բջիջներում բացահայտեց մնացած քրոմոսոմներից տարբերվող մի օբյեկտ (այն չէր մասնակցում մեյոզին), որը կոչեց X գործոն, քանի որ հայտնի չէր դրա էությունը: Հետագայում ցույց տրվեց, որ այս քրոմոսոմը պայմանավորում է սեռը, և X կոչվեց մարդու մեծ գոնոսոմը:

- X քրոմոսոմում տեղակայված է 1000-ից ավել սպիտակուց կոդավորող գեն:

- Հայտնաբերված են ավելի քան 100 հիվանդություններ՝ կապված X քրոմոսոմի հետ:

Y քրոմոսոմ

Y քրոմոսոմը բացահայտվել է Նետի Մարիա Սթիվենսի կողմից 1905 թ. և ստացել իր անվանումը՝ ելնելով նրանից, որ Y-ը հաջորդում է X-ին:

- Այստեղ տեղակայված է մոտ 400 գեն:
- Բացի սպերմատոգենեզի խաթարման հետ կապված պաթոլոգիաներից՝ Y քրոմոսոմի հետ կապված այլ գենետիկական հիվանդություններ չեն նկարագրվել:

Նույնիսկ եթե Ջեննի Գրեյվզը ճիշտ լիներ, և Y քրոմոսոմն անհետանար 5-10 միլիոն տարվա ընթացքում (*Nature 2002; 415:963*), արական և իգական սեռերը գոյություն կունենան: Դրա օրինակն է *Ellobius* կուրամուկը, որի արուների մոտ բացակայում են Y քրոմոսոմն ու *SRY* գենը (*Chromosome Res 2012; 20:191-9*):

դ) X-շղթայակցված ռեցեսիվ հիվանդություններ

Նկարագրիչներ

+ Տոհմաբանական ծառի առաջին սերնդի կնոջ X քրոմոսոմի գենում առկա է ռեցեսիվ մուտացիա (x):

+ X քրոմոսոմը (x) փոխանցվում է արական և իգական սեռի սերունդներին 50 % հավանականությամբ:

+ Տղաների 50 %-ին փոխանցվում է մուտացիան և ունենում ֆենոտիպային դրսևորում:

+ Աղջիկների 50 %-ին փոխանցվում է մուտացիա կրող X քրոմոսոմը (x) և մեկ նորմալ X քրոմոսոմ (X):

+ Հիվանդության պատճառ հանդիսացող գենը գտնվում է X քրոմոսոմում:

+ Հիվանդության պատճառ հանդիսացող գենը ռեցեսիվ է:

+ Մուտացված գենը ֆենոտիպորեն դրսևորվում է հոմոզիգոտ կանանց կամ հեմիզիգոտ տղամարդկանց մոտ (ներառյալ Տերների հիվանդությունը):

+ Հարկ է նկատի ունենալ նաև Լիոնիզացիայի երևույթը (Գլուխ 17):

Չափանիշներն այսպես նման են նկարագրիչներին, բացառությունն է միայն X քրոմոսոմի ինակտիվացման լիոնիզացիայի ազդեցությունը:

Օրինակ 1: Կարմիր-կանաչ գունային կուրություն (դիսքրոմատոպսիա)

Դիսքրոմատոպսիան առաջանում է ցանցաթաղանթում օպսին պիգմենտը կողավորող գեների (*OPN1LW* կամ *OPN1MW*, Xq28) մուտացիայի հետևանքով: Գենի մասնակի ակտիվության հետևանքով տղաների մոտ առաջանում է կարմիր-կանաչ կուրություն: Աղջիկների մոտ հիվանդությունը դրսևորվում է երկու X քրոմոսոմներում *OPN1LW* կամ *OPN1MW* գեների մուտացիայի հետևանքով: Եվրոպայում արական սեռի ներկայացուցիչների ~8 %-ը այս հիվանդության կրող է՝ 1:1.000 հաճախականությամբ:

Օրինակ 2: Հեմոֆիլիա A (հուսարեն aima հեմա – արյուն և φίλος ֆիլոս – սիրել, ընկեր)

Բավականին հայտնի օրինակ է ռուսական Ռոմանովների կայսերական ընտանիքի վերջին թագավորի որդին, որը հեմոֆիլիա A-ի կրող Անգլիայի Վիկտորիա թագուհու սերունդներից մեկն էր:

Հիվանդությունն առաջանում է արյան մակարդման գործոն VIII-ը կոդավորող գենի (քրոմոսոմ Xq28) մուտացիայի հետևանքով (հայտնի են ավելի քան 1300 մուտացիաներ), որն էլ հանգեցնում է կոագուլոպաթիայի: Մուտացիայի հետևանքով վնասված արյունատար անոթներում արյան մակարդելիությունն ընթանում է շատ դանդաղ կամ չի մակարդվում: Հնարավոր են նաև սպոնտան արյունահոսություններ, որոնք կարող են տեղի ունենալ առանց տեսանելի վնասվածքների առկայության, ինչն ունենում է մահացու ելք: Արական սեռի մոտ հիվանդության հանդիպման հաճախականությունը կազմում է 1:5.000 մինչև 1:10.000:

Օրինակ 3: Դյուշենի մկանային դիստրոֆիա

Դյուշենի մկանային դիստրոֆիան (ԴՄԴ) առաջանում է մարդու գենոմում ամենամեծ գենի (*)՝ դիստրոֆինի (քրոմոսոմ Xp21.2) մուտացիայի հետևանքով: Երեխաների մոտ հիվանդությունը սկսվում է դրսևորվել ստորին վերջույթներում, իսկ հասուն տարիքում ավարտվում է հիվանդի մահով, քանի որ ախտահարվում են սիրտն ու թոքերը:

ԴՄԴ-ի ժամանակ դիտվում են մկանային ֆիբրիլների վնասվածքներ, ինչի հետևանքով մկանային ֆերմենտ կրեատին կինազի մակարդակը բարձրանում է, մկանային բջիջները փոխարինվում են ճարպային բջիջներով՝ աղիպոցիտներով:

Հիվանդությունը հանդիպում է 1:5.000 հաճախականությամբ:

Բեկեր-Կիների մկանային դիստրոֆիա

Բեկեր-Կիների մկանային դիստրոֆիան առաջանում է դիստրոֆին գենի (քրոմոսոմ Xp21.2) մեկ այլ մուտացիայի հետևանքով, որի դեպքում մուտացիան առաջանում է գենի ծայրային հատվածում, և արդյունքում ձևավորվում է ավելի կարճ սպիտակուց, մինչդեռ ԴՄԴ-ի դեպքում ֆունկցիոնալ ակտիվությամբ սպիտակուցը լիովին բացակայում է: Բեկեր-Կիների հիվանդությունը սկսվում է նույն կերպ, ինչ ԴՄԴ-ն, սակայն ավելի ուշ և, որպես կանոն, մահացու ելք չի ունենում:

Հիվանդությունը հանդիպում է 1:60.000 հաճախականությամբ:

***** Դիստրոֆին սպիտակուցը կոդավորող գենի երկարությունը կազմում է 2.4 միլիոն նուկլեոտիդային զույգ (նզ) և ունի 79 էքզոն: Դիստրոֆին սպիտակուցը ստեղծում է սարկոլեմի և մկանային բջիջների բջջակմախքի միջև կապը, որը կարճացած է լինում Բեկեր-Կիների հիվանդության և բացակայում է ԴՄԴ-ի ժամանակ:

ե) X-շղթայակցված դոմինանտ հիվանդություններ

Նկարագրիչներ

+ Դոմինանտ մուտացիա կրող գենը գտնվում է տոհմաբանական ծառի առաջին սերնդի կնոջ X քրոմոսոմում (X):

+ X քրոմոսոմը (X) փոխանցվում է արական և իգական սեռերի սերունդներին 50 % դեպքերում, ինչը նշանակում է, որ սերունդների տղաների և աղջիկների 50 %-ը հիվանդ են:

+ Հիվանդ տղամարդու աղջիկները պարտադիր կրում են հիվանդության պատճառ հանդիսացող գենը:

+ Հիվանդ տղամարդու որդիներն առողջ են, քանի որ ժառանգում են Y քրոմոսոմը:

+ Հիվանդության պատճառ հանդիսացող գենը գտնվում է X քրոմոսոմում:

+ Հիվանդության պատճառ հանդիսացող գենը դոմինանտ է:

+ Ֆենոտիպորեն արտահայտվում է հետերոզիգոտ և հոմոզիգոտ կանանց և հեմիզիգոտ տղամարդկանց մոտ:

Չափանիշ 1. Հիվանդ տղամարդը կարող է ունենալ միայն հիվանդ աղջիկներ և առողջ տղաներ:

Չափանիշ 2. Հիվանդ կնոջ արական և իգական սեռի առողջ սերունդների ծնվելու հավանականությունը կազմում է 50 %:

Չափանիշ 3. Տեսականորեն կանայք հիվանդանում են կրկնակի ավելի հաճախ, քան տղամարդիկ: Առողջ X քրոմոսոմի Լիոնի էֆեկտի շնորհիվ իգական սեռի սերունդների մեծ մասի մոտ ախտանիշներն ավելի թույլ են արտահայտվում:

Չափանիշ 4. Հեմիզիգոտությունն արական սեռի և հոմոզիգոտությունն իգական սեռի մոտ կարող է ունենալ լետալ ելք:

Բացառություններ չկան:

Օրինակ 1: Բլոխ-Չուլցբերգերի պիգմենտային ինկոնտինենտիա (անպահություն)

IKBKG (*կորիզային գործոն կապպա-B կինազի կարգավորիչ ենթամիավորի արգելակիչ*) գենի (քրոմոսոմ Xq28) մուտացիայի հետևանքով առաջանում է Բլոխ-Չուլցբերգերի հիվանդությունը: Ախտանիշները ներառում են մաշկի պիգմենտավորման խաթարում, եղունգների, մազերի և ատամների աճի խանգարումներ և դիսմորֆիզմ, կենտրոնական նյարդային համակարգի խանգարումները հանգեցնում են կուրության և ցնցումների: Թզուկությունն (դվորֆիզմ) առաջանում է Լիոնիզացիայի և ակտիվ X քրոմոսոմում մուտացիայի կրող բջիջների մասնակի մահվան արդյունքում:

Հիվանդության հանդիպման հաճախականությունը (իգական սեռի մոտ) կազմում է 1:10.000:

Դիտվում է գինեկոտրոպիայի երևույթը. գործնականում հիվանդ արական սեռի սերունդները բացակայում են պրենատալ փուլում մահվան պատճառով:

Օրինակ 2: D-վիտամինի նկատմամբ կայուն ռիկեց (X-շղթայակցված հիպոֆոսֆատեմիա)

Ֆոսֆատային-կարգավորիչ էնդոպեպտիդազ (*PHEX*) գենի (քրոմոսոմ Xp22.1) մուտացիայի արդյունքում զարգանում է D վիտամինով բուժման նկատմամբ կայուն ռիկեց (ռախիտ) կամ հիպոֆոսֆատեմիա: Հիվանդության արդյունքում երիկամներում ֆոսֆատների հետներծծում տեղի չի ունենում և հեռացվում է օրգանիզմից, որն էլ հանգեցնում է ոսկրային հյուսվածքի զարգացման խաթարումների: Հիվանդների մոտ դիտվում են ոսկրերի ցավ, կոտրվածքներ, աճի խանգարումներ:

Բուժման նպատակով կիրառվում են ֆոսֆատային միացություններ և կալցիտրիոլ, երբեմն՝ վիրահատություններ:

Հիվանդությունը հանդիպում է 1:25.000 հաճախականությամբ, դիտվում է գինեկոտրոպիայի երևույթը. իգական սեռի մոտ հանդիպում է կրկնակի ավելի հաճախ (♀ : ♂ = 2:1):

գ) Y-շղթայակցված (հոլանդրիան) հիվանդություններ

Նկարագրիչներ

+ Մուտացիա կրող գենը տեղակայված է Y քրոմոսոմում:

+ Y քրոմոսոմը 100 % հաճախականությամբ փոխանցվում է արական սեռի սերնդին:

+ Հիվանդությունը դրսևորվում է արական սեռի 100 %-ի մոտ և չի դրսևորվում իգական սեռի սերունդներում:

Չափանիշ 1. Հիվանդության պատճառ հանդիսացող գենը տեղակայված է Y քրոմոսոմում:

Չափանիշ 2. Հիվանդ են միայն արական սեռի սերունդները:

Չափանիշ 3. Հատկանիշը փոխանցվում է հորից միայն որդուն:

Բացառություններ չկան:

Օրինակ 1: AZF լոկուսի (Yq11.2) մուտացիաները

Y քրոմոսոմում տեղակայված գեների մուտացիաները գլխավորապես հանգեցնում են անպտղության, որոնք ներկայումս կարող են փոխանցվել ICSI-ի (*) ճանապարհով: *AZF* (Azoospermia-factor) լոկուսի

մուտացիաները (գլխավորապես՝ միկրոդելեցիաներ) հանգեցնում են ազոոսպերմիայի (էյակուլյատում սպերմատոզոիդների բացակայություն) կամ սուր օլիգոզոոսպերմիայի (սպերմատոզոիդների ցածր կոնցենտրացիա), ինչն անհնարին է դարձնում բնական ճանապարհով հղիանալը:

* **Սպերմատոզոիդի ներցիտոպլազմային ներարկումը** (անգլերեն՝ Intracytoplasmic Sperm Injection – ICSI) արտամարմնային բեղմնավորման մեթոդներից մեկն է, որի ժամանակ սննդամիջավայրում գտնվող ձվաբջջի մեջ *in vitro* պայմաններում միկրոասեղի միջոցով ներարկում են սպերմատոզոիդը:

4.2.2. Ոչ մենդելյան ժառանգականություն

ա) Միտոքոնդրիումային

Միտոքոնդրիումները.

- Էուկարիոտ բջջի օրգանոիդներ են:
- Ունեն էլիպսաձև կառուցվածք, կրկնակի թաղանթ և 2-4 մկմ x 1 մկմ չափ:
- Մասնակցում են β-օքսիդացմանը, օրնիտինային և Կրեբսի ցիկլերին:
- Ունեն ներքին թաղանթ, որտեղ տեղակայված են շնչառական շղթայի սպիտակուցները:
- Ձևավորվել են էնդոսիմբիոզի տեսության համաձայն (Լին Մարգուլիս, 1967 թ.) (*), ռեպլիկացիան կախված չէ բջջային ցիկլից, ունեն տրանսլյացիայի համակարգ, տրիպլետային կոդ (տարբերվում է կորիզային գենոմից) և տրանսլյացիայի համար 22 տարբեր փՌՆԹ-ներ:
- Ունեն սեփական օղակաձև ԴՆԹ-ն (մտԴՆԹ), որը կազմված է 16.569 նգ, պարունակում է 37 գեն, ԴՆԹ 97 %-ը կոդավորող հաջորդականություններ են:

****Հետաքրքիր է***: Էնդոսիմբիոզի տեսությունն առաջին անգամ ներկայացվել է գերմանացի բուսաբան Անդրեաս Շիմփերի կողմից 1883 թ.՝ բույսերի քլորոպլաստների նկարագրության ժամանակ, որի հիման վրա

1905-1910 թթ. ռուս բուսաբան Կոնստանտին Մերեշկովսկին առաջարկել է միտոքոնդրիումների սիմբիոգենեզի տեսությունը: 1967 թ. ամերիկացի էվոլյուցիոն կենսաբան Լին Մարգուլիսը (հոդվածում՝ Լ. Սագան) տպագրեց "*On the Origin of Mitosing Cells*" (*J Theor Biol. 1967 Mar;14(3):255-74*) հոդվածը 15 հանդեսների կողմից մերժվելուց հետո: Համաձայն այս տեսության՝ «միտոզի էվոլյուցիայի ընթացքում ֆոտոսինթետիկ պլաստիդները (սկիզբ են առնում պրոկարիոտներից) սիմբիոզի ճանապարհով կլանվել են որոշ ամեոբոֆլագելատների կողմից, ինչի արդյունքում ձևավորվել են էուկարիոտ ջրիմուռները և կանաչ բույսերը»:

Բջջում, կախված հյուսվածքի տեսակից, կարող է գտնվել 10-500 միտոքոնդրիում, որոնցից յուրաքանչյուրը պարունակում է 3-6 մտԴՆԹ-ներ: Հասուն օոցիտը պարունակում է 50.000-100.000 միտոքոնդրիում, իսկ սպերմատոզոիդը՝ 22-75: Միտոքոնդրիումների նշված քանակների տատանումները պայմանավորված են դրանց հաճախակի առաջացող միաձուլմամբ (fusion) և կիսմամբ (fission): Բջջի բաժանման ժամանակ միտոքոնդրիումները բաշխվում են դուստր բջիջներում պատահականության սկզբունքով: Առաջացած դուստր բջիջներում միտոքոնդրիումները սկսում են կիսվել: Կիսումների ընթացքում կարող են կուտակվել պատահական մուտացիաներ, որոնք պայմանավորում են հետերոպլազմիան: Միտոքոնդրիումային հիվանդությունները դրսևորվում են այն դեպքում, երբ վնասակար մուտացիա կրող միտոքոնդրիումների թիվը հատում է «սահմանային էքսպրեսիայի» մակարդակը (տվյալ օրգանի կենսագործունեության համար անբավարար ԱԵՖ մակարդակ):

Միտոքոնդրիումային հիվանդությունների պատճառ հանդիսացող գեն(եր)ը գտնվում են մտԴՆԹ-ում, ոչ թե բջջի կորիզում:

Նկարագրիչներ

+ Առաջին սերնդի կինը օոցիտի միջոցով փոխանցում է մուտացիա կրող միտոքոնդրիումներն իր բոլոր սերունդներին:

+ Մուտացիա կրող միտոքոնդրիումները փոխանցվում են հաջորդ սերնդին միայն իգական սեռի սերունդների միջոցով:

Չափանիշ 1. Հիվանդ տղամարդու սերունդները չեն կրում տվյալ հիվանդությունը:

Բացառություններ

1) Հազվադեպ սպերմատոզոիդի միջոցով մուտացիա կրող միտոքոնդրիումը կարող է ներթափանցել օոցիտ, հետևաբար հիվանդությունը խիստ հազվադեպ է փոխանցվում արական սեռի միջոցով: Այս դեպքում հոմոպլազմիայի փոխարեն դրսևորվում է հետերոպլազմիա. հիվանդ անհատի մոտ հանդիպում են տարբեր միտոքոնդրիումային գենոտիպեր:

Չափանիշ 2. Հիվանդությունը դրսևորվում է հիվանդ կնոջ բոլոր սերունդների մոտ:

Չափանիշ 3. Միտոքոնդրիումային հիվանդությունների դեպքում գլխավորապես ախտահարում են գլխուղեղը, մկանները, սիրտը, լյարդը, երիկամներն ու ենթաստամոքսային գեղձի ներզատական ֆունկցիա իրականացնող բջիջները, քանի որ այս հյուսվածքներում օքսիդատիվ ֆոսֆորիլացման ռեակցիաներն առավել ակտիվ են ընթանում:

Չափանիշ 4. Հիվանդության ծանրության աստիճանը և ախտանիշները կախված են մուտացիայի տեսակից, յուրաքանչյուր բջջում և հյուսվածքում մուտացիա կրող միտոքոնդրիումների քանակից:

Բացառություններ (չափանիշներ 2-4) չկան:

Օրինակ 1: Էնցեֆալոմիոպաթիաներ (ավելի քան 10 տիպի)

Այս հիվանդությունները դանդաղ են զարգանում, առաջանում են մկանային թուլություն, կաթնաթթվային ացիդոզ: Դրսևորվում են կենտրոնական նյարդային համակարգի ախտահարման տարբեր ախտանիշներ (ներառյալ՝ ատաքսիա, ցնցումներ և ֆակուլտատիվ մտավոր դեգրադացում, տեսողական նյարդի ատրոֆիա, ցանցաթաղանթի պիգմենտների դեգրադացում, դեգեներատիվ նեյրոպաթիաներ, ներզատական համակարգի խաթարումներ, կարդիոմիոպաթիաներ) և զարգացման վաղ փուլերում՝ թզուկություն:

Օրինակ 2: Լեբերի ժառանգական օպտիկական նեյրոպաթիա

Հիվանդությունը կոչվել է դոկտոր Թեոդոր Լեբերի անունով (1840-1917 թթ.): Հիվանդության ժամանակ մտԴՆԹ-ում կետային մուտա-

ցիայի հետևանքով (հայտնի են երեքը) դիտվում է տեսողական նյարդի ատրոֆիա կամ դեգեներացում:

Դիտվում է անդրոտրոպիայի երևույթ. հիվանդությունը հանդիպում է արական սեռի մոտ հինգ անգամ ավելի հաճախ (♂ : ♀= 5:1):

Հիվանդության նախնական փուլում զարգանում է կարմիր և կանաչ գույների կենտրոնական սկոտոմա (տեսողական դաշտի ախտահարում), այնուհետև՝ տեսողության լրիվ կորուստ:

Հիվանդությունը դրսևորվում է 20-40 տարեկան հասակում, կենտրոնական տեսողության կորուստն աստիճանաբար զարգանում է առաջին 2 տարիների ընթացքում, այնուհետև տեղի է ունենում տեսողության ժամանակավոր վերականգնում:

Օրինակ 3: Մայրական ժառանգմամբ դիաբետ և խլություն

Հիվանդությունն առաջանում է մտԴՆԹ 3243 դիրքում Ա/Գ տրանզիցիայի պատճառով, որի հետևանքով զարգանում է պրոգրեսիվ երկկողմանի խլություն, այնուհետև՝ դիաբետ: Մուտացիան հանդիպում է նորածինների 0.14 %-ի, իսկ դիաբետով տառապող հիվանդների 0.2-3 %-ի մոտ: Հիվանդների 8 %-ի մոտ դիտվում է կետոացիդոզ (արյան մեջ կետոնների մակարդակի բարձրացում), իսկ 80 % դեպքերում՝ ցանցաթաղանթի վնասում, հաճախ դիտվում է մարմնի զանգվածի նվազում: Առավել հաճախ վնասվում են բարձր մետաբոլիկ ակտիվությամբ օրգանները (կմախքային մկաններ, սրտամկան, երիկամ և գլխուղեղ), ինչը կարող է հանգեցնել մկանային ցավերի, ստամոքսաղիքային ուղու խանգարումների, նեֆրոպաթիայի, կարդիոմիոպաթիայի և նյարդահոգեբանական ախտանիշների զարգացմանը: Հիվանդությունն առավել հաճախ դրսևորվում է 37-38 տարեկան հասակում:

Կետային մուտացիան առաջանում է *MTTL1* գենում, որը կոդավորում է լեյցինային փՌՆԹ, տեղի է ունենում փՌՆԹ դիմերիզացիա և ԱԵՖ սինթեզի ընկճում: Ենթաստամոքսային գեղձի Բ-բջիջներում ԱԵՖ/ԱԴՖ ճշգրիտ քանակն անհրաժեշտ է ինսուլինի ձերբազատումը կարգավորող $K_{(АТФ)}$ անցուղու բացման և փակման համար: Մուտացիայի արդյունքում հիվանդների մոտ դիտվում է ինսուլինի ցածր մակարդակ, որի հետևանքով զարգանում է դիաբետ:

Ենթադրվում է, որ խլության առաջացման պատճառը մուտացիայի հետևանքով կոխլեար համակարգում ձայնի փոխանցմանը մասնակցող իոնային պոմպերի թերֆունկցիան է (ԱԵՖ թերսինթեզ):

բ) Բազմագործոն և/կամ պոլիգեն հիվանդություններ

Բազմագործոն հիվանդություններն առաջանում են մի շարք գեների (հետերոգենիա) և/կամ միջավայրի գործոնների համակցության պայմաններում: Ժառանգականության տեսակն այս դեպքում շատ ավելի բարդ է ժառանգական այլ հիվանդությունների համեմատությամբ: Սակայն հիվանդի սերնդի մոտ միևնույն հիվանդության առաջացման հավանականությունը շատ ավելի ցածր է: Բացահայտված են բազմագործոն հիվանդությունների առաջացմանը նպաստող շրջակա միջավայրի առավել կարևոր գործոնները, այդ թվում՝ սննդակարգը (ճարպակալում և սրտային անբավարարություն), ճառագայթում կամ քիմիական գործոններ (քաղցկեղի դեպքում) կամ բույսերի ծաղկափոշին (ատոպիայի դեպքում):

Նկարագրիչներ

+ Առավել հաճախ հանդիպող գենետիկական հիվանդություններն են:

+ Հիվանդության առաջացմանը մասնակցում են բազմաթիվ գեներ:

+ Հնարավոր են հանդիպման հաճախականության մի քանի տարբերակներ:

+ Շրջակա միջավայրի գործոնները նպաստում են հիվանդության առաջացմանը և զարգացմանը:

+ Գենետիկական առանձնահատկությունները միայն հիվանդության առաջացման «սկզբնակետ» են:

Քանի որ բազմագործոն հիվանդությունների ժառանգականության տեսակի որոշումը խիստ բարդ է, գոյություն ունեն սահմանափակ թվով չափանիշներ այս հիվանդությունների նկարագրման համար և սակավաթիվ ու տարբեր բացառություններ, որոնք այստեղ չեն նշվում:

Չափանիշ 1. Հիվանդությունը կրկնվում է ընտանիքում, սակայն բացակայում է մոնոգեն հիվանդություններին բնորոշ օրինաչափ դրսևորումը: Հանդիպում է նաև մոնոգեն հիվանդության դրսևորումների «կրկնօրինակում» (օրինակ՝ լողության ժառանգական կորուստ):

Չափանիշ 2. Հիվանդ անհատի առաջին աստիճանի ազգականների մոտ հիվանդության առաջացման հավանականությունն ավելի բարձր է՝ համեմատած նորմալ պոպուլյացիայի հետ: Որքան ավելի ցածր է ռիսկը նորմալ պոպուլյացիայի համար, այնքան ավելի բարձր է առաջին աստիճանի ազգականների համար:

Չափանիշ 3. Հիվանդ անհատի երկրորդ աստիճանի ազգականների մոտ հիվանդության առաջացման հավանականությունն ավելի ցածր է, քիչ հավանական՝ հեռավոր ազգականների համար:

Չափանիշ 4. Առաջին երեխայի հիվանդ լինելու դեպքում բարձրանում է հաջորդ երեխայի մոտ միևնույն հիվանդության հանդիպման ռիսկը, եթե այդ հիվանդությամբ տառապում են ընտանիքի անդամներից մեկից ավելին:

Օրինակ: Միևնույն ընտանիքում երկու երեխայի մոտ հանդիպում է երկատված քիմք, ուստի հաջորդ երեխայի մոտ հիվանդության հանդիպման ռիսկը կազմում է ~10 %:

Չափանիշ 5. Որքան ավելի սուր են ախտանիշներն առաջին երեխայի մոտ, այնքան ավելի հավանական է դրանց առաջացումը երկրորդ երեխայի մոտ:

Օրինակ: Եթե առաջին երեխայի մոտ առկա է քիմքի բիլատերալ երկատում, ապա հաջորդ երեխայի մոտ միակողմանի երկատման ռիսկը կազմում է 6 %: Եթե երկրորդ երեխայի մոտ չի դիտվում քիմքի բիլատերալ երկատում, ապա հաջորդ երեխայի մոտ հիվանդության առաջացման ռիսկը կազմում է 2 %:

Չափանիշ 6. Եթե հիվանդը պատկանում է տվյալ հիվանդությամբ առավել հազվադեպ հիվանդացող սեռին, ապա նրա սերնդի մոտ հիվանդության դրսևորման ռիսկն ավելի բարձր է լինում (Կարտերի էֆեկտ):

Օրինակ: Պիլորիկ ստենոզը (ՊՍ – ստամոքսի և բարակ աղիքի միացման հատվածի լուսանցքի նեղացում) գլխավորապես դիտվում է արական սեռի երեխաների մոտ, քանի որ արական սեռի մոտ այդ հատկանիշի դրսևորմանը մասնակցում են քիչ թվով գեներ: Վիճակագրորեն արական սեռի կողմից հաջորդ սերնդին փոխանցվում է այդ հիվանդությանը մասնակցող գեների սակավաթիվ մասը, հետևաբար վերջիններիս մոտ ՊՍ զարգացման ռիսկը ցածր է:

Իգական սեռի մոտ ՊՍ զարգացման համար անհրաժեշտ է ավելի մեծ թվով գեների ներգրավվածություն: Հետևաբար ՊՍ-ով տառապող կնոջ երեխաներին հիվանդության առաջացմանը մասնակցող գեների փոխանցման ու հիվանդության առաջացման ռիսկն ավելի բարձր է:

ՊՍ զարգացման ռիսկը ՊՍ-ով տառապող

<u>տղամարդկանց.</u> աղջիկների մոտ՝ 2.4 %,
տղաների մոտ՝ 5.5 %,

<u>կանանց.</u> աղջիկների մոտ՝ 7.3 %,
տղաների մոտ՝ 19.4 %:

Չափանիշ 7. Եթե կոնկորդանտության (երկվորյակների մոտ տրված հատկանիշի դրսևորման հավանականությունը) հաճախականությունը երկզիգոտ երկվորյակների մոտ փոքր է 50 %-ից, ապա հատկանիշը չի կարող լինել աուտոսոմ-դոմինանտ: Եթե փոքր է 25 %-ից, ապա չի հանդիսանում աուտոսոմ-ռեցեսիվ, հետևաբար հատկանիշը պոլիգեն կամ բազմագործոն է:

Օրինակ: 2-րդ տիպի դիաբետի (նաև՝ «տարիքային դիաբետ») ժամանակ մոնոզիգոտ երկվորյակների մոտ կոնկորդանտությունը կազմում է 100 %, իսկ երկզիգոտ երկվորյակների մոտ՝ ~10 %:

Չափանիշ 8. Որքան մոտ է ծնողների ազգակցական կապը, այնքան ավելի բարձր է սերնդի մոտ պոլիգեն հիվանդության առաջացման ռիսկը:

Օրինակ 1: Սրտի կաթված կարող է առաջանալ հիվանդի մոտ 2-րդ տիպի դիաբետի, ճարպակալման, հիպերտոնիայի և սակավ ֆիզիկական ակտիվության համակցության դեպքում:

Օրինակ 2: Պոլիգեն բնածին արատների թվին են դասվում՝ քիմքի երկատումը, սրտի բնածին արատները, ծուռթաթությունը, նյարդային խողովակի զարգացման խաթարումները, անէնցեֆալիան, օմֆալոցելը (որովայնի խոռոչի որոշ օրգաններ գտնվում են մարմնից դուրս):

Օրինակ 3: Հաճախ հանդիպող հիվանդություններ, ինչպիսիք են դիաբետը, շիզոֆրենիան, հիպերտոնիան, ցնցումները, ռևմատոիդ արթրիտը, Մորբուս Կրոնի հիվանդությունը, նույնպես պոլիգեն են:

Օրինակ 4: Գաուսյան բաշխմամբ ֆենոտիպային հատկանիշները, ինչպիսիք են ինտելեկտը, մարմնի չափը, մազերի գույնը, արյան ճնշումը, մարմնի զանգվածը և այլն, բնութագրվում են բազմագործոն ժառանգականությամբ: Պոլիգեն ժառանգականությունն ու միջավայրի գործոններն ազդում են պոպուլյացիայում ֆենոտիպի դրսևորման վրա, ուստի ժամանակի ընթացքում կարող են առաջանալ բաշխման տատանումներ: Որքան մեծ թվով գեներ են ներգրավված տվյալ հատկանիշի դրսևորման մեջ, այնքան ավելի հավանական է Գաուսյան (նաև նորմալ) բաշխման համապատասխանությունը: Հիվանդության դեպքում հատկանիշը ֆենոտիպորեն դրսևորվում է, եթե որևիցե գործոն գտնվում է նորմայից դուրս (Գաուսյան կորի վերին կամ ստորին 3 %-ը): Այս դեպքում առաջանում է անոմալիա, օրինակ՝ ռաղիոթերապիայի նկատմամբ զերզգայնությունն ու կայունությունը:

Բազմագործոն հատկանիշների դեպքում էմպիրիկ արժեքները պետք է որոշվեն յուրաքանչյուր հատկանիշի համար:

Երբ համեմատում են երկու առանձնյակ՝ ըստ որոշակի հատկանիշների, կարելի է որոշել կորելյացիայի գործակիցը: 0 գործակիցը ցույց է տալիս կորելյացիայի բացակայություն, իսկ 1-ը՝ 100 % կորելյացիա հատկանիշների միջև: Այսպիսի տարբերությունների գենետիկական պատճառը, որպես կանոն, եզակի նուկլեոտիդային պոլիմորֆիզմները կամ SNPs (սնիփեր) են: Վերջապես, բազմագործոն հատկանիշները կարևոր նշանակություն ունեն դեղամիջոցների նկատմամբ գենետիկորեն պայմանավորված անհատական ռեակցիաների ձևավորման համար:

գ) Գենոմային իմփրինթինգ

Իմփրինթինգը առանձին գեների էքսպրեսիայի կախվածությունն է տվյալ ալելը կրող քրոմոսոմի ծնողական ծագումից (մայրական կամ հայրական):

Իմփրինթինգի հայտնի օրինակներ են տիգոնն (արու վագրի և էգ առյուծի հիբրիդ) ու լիգերը (արու առյուծի և էգ վագրի հիբրիդ):

Առաջին աուտոսոմ իմփրինթինգային գեները բացահայտվել են 1990-ական թվականներին: Ներկայումս հայտնի են ~100 իմփրինթինգի գեներ:

Նկարագրիչներ

+ Հիմքը ԴՆԹ էպիգենետիկական փոփոխություններն են (օրինակ՝ մեթիլացումը հանգեցնում է գեների ինակտիվացման, դեմեթիլացումը՝ ակտիվացման):

+ Իմփրինթինգի սայթերը ձևավորվում են ծնողական սեռական բջիջների զարգացման ընթացքում:

+ Կարող են առաջանալ կլինիկական խնդիրներ միածնողական դիսոմիայի (ՄԾԴ; անգլերեն՝ uniparental disomy – UPD) հետևանքով:

ՄԾԴ-ն առաջանում է այն օրգանիզմում, որը ժառանգում է երկու քրոմոսոմը կամ քրոմոսոմի հատվածը միայն մեկ ծնողից, միչդեռ մյուս ծնողի քրոմոսոմը բացակայում է: ՄԾԴ երևույթը կանխատեսվել էր պրոֆ. Էրիկ Էնգելի կողմից 1980 թ., սակայն առաջին հիվանդի մասին գիտական հրապարակումը կատարվել է 1987 թ.: Ներկայումս հայտնի են >3.600 ՄԾԴ դեպքեր:

Հանդիպման հաճախականությունը կազմում է 1:5.000:

ՄԾԴ-ն կարող է հանդիպել սեգմենտային կամ ամբողջական քրոմոսոմային տեսքով: Տարբերում են նաև իզոդիսոմիային և հետերոդիսոմային ՄԾԴ-ներ, որոնք կարող են հանգեցնել իմփրինթինգային հիվանդությունների: Սակայն իզոդիսոմային ՄԾԴ-ն առաջանում է, երբ սերունդը ժառանգում է մեկ ծնողի կրկնապատկված քրոմոսոմը: Միևչդեռ հետերոդիսոմային ՄԾԴ-ի դեպքում ժառանգվում է մեկ ծնողի հոմոլոգ քրոմոսոմների զույգը: Ուստի միայն իզոդիսոմային ՄԾԴ-ի դեպքում են դրսևորվում ռեցեսիվ գեներով պայմանավորված հատկանիշները:

Հանդիպում են նաև նորմալ կարիոտիպով գենոմային ՄԾԴ-ներ: Եթե առկա է միայն արական իմփրինթ (օրինակ՝ ամբողջական հիդա-

տիպ կամ կեղծ հղիություն, առաջանում է ԴՆԹ չպարունակող ձվաբջջի բեղմնավորման արդյունքում). զարգանում է նորմալ ընկերք, սակայն ոչ թե էմբրիոնը: Եթե առկա է լինում միայն իգական իմփրինք, ապա ընկերքը գրեթե չի զարգանում, մինչդեռ էմբրիոնը ձևավորվում է: Վերջինս կարող է հանգեցնել ձվարանների տեռատոմայի, որի ժամանակ առաջացած ցիստի խոռոչում կարող են հայտնաբերվել այլ հյուսվածքներ՝ մազեր, ատամներ, ոսկրեր, ճյարդային բջիջներ և այլն: Պատճառն այն է, որ տեռատոման առաջանում է տոտիպոտենտ բջջից, որը կարող է սկիզբ տալ ցանկացած հյուսվածքի: Հայրական և մայրական ՄԾԴ-ների կենսաբանական էֆեկտների միջև տարբերությունը կարելի է բացատրել էմբրիոնի զարգացման համար ծնողական գենոմների էվոլյուցիոն նշանակության տարբերություններով: Համաձայն այս մոտեցման՝ մայրական գենոմի համար առավել «ցանկալի» է մի քանի էմբրիոնի զարգացումը, և կենսաբանական գոծընթացներն ուղղված են լինում էմբրիոնի զարգացմանը՝ պահպանելով սննդային ռեսուրսներն իր սեփական օրգանիզմի համար: Հայրական գենոմի համար առավել «ցանկալի» է էմբրիոնի սնուցումը, ինչը հակադարձում է մայրական օրգանիզմի պահանջներին՝ նպաստելով ընկերքի զարգացմանը:

Հարկ է նշել, որ երկու մայրական և մեկ հայրական գենոմներ կրող տրիպլոիդ գենոմը ՄԾԴ-ի օրինակ չէ: Մարդկանց մոտ տրիպլոիդ էմբրիոնները մահանում են (բացառությամբ մոզաիկ դեպքերի), սակայն տրիպլոիդիան կամ տետրապլոիդիան հաճախ են հանդիպում ձկների, երկկենցաղների, սողունների կամ բույսերի մոտ:

ՄԾԴ-ն բացահայտվել է մարդու բոլոր քրոմոսոմների համար, սակայն առավել հաճախ դիտվում է ՄԾԴ(15), որի պատճառը բացահայտված չէ: ՄԾԴ-ի վեաբերյալ մանրամասին տեղեկատվություն կարելի է գտնել հետևյալ էլեկտրոնային հղումով՝ *http://upd-tl.com/upd.html*:

<u>ՄԾԴ-ով պայմանավորված հիվանդություններն են.</u>

- UPD(6)pat անցողիկ կամ ժամանակավոր նեոնատալ դիաբետ,
- UPD(7)mat Սիլվեր-Ռասելի համախտանիշ,
- UPD(7)pat Բեկվիտ-Վիդեմանի համախտանիշ,
- UPD(11)pat Բեկվիտ-Վիդեմանի համախտանիշ,
- UPD(11)mat Սիլվեր-Ռասելի համախտանիշ,
- UPD(14)mat Թեմփելի համախտանիշ,
- UPD(14)pat Կագամայի համախտանիշ,

- UPD(15)mat Պրադեր-Վիլլիի համախտանիշ (*),
- UPD(15)pat Անգելմանի համախտանիշ (*),
- UPD(20)mat Ներարգանդային զարգացման խաթարում,
- UPD(20)pat Փսևդոհիպոպարաթիրոիդիզմ:

* pat – paternal, mat – maternal; 15q11.2 քրոմոսոմային լոկուսում միկրոդելեցիաները նույնպես կարող են հանգեցնել Անգելմանի կամ Պրադեր-Վիլլիի համախտանիշների զարգացմանը, ինչը պայմանավորված է իմփրինթինգի խաթարմամբ:

Օրինակ 1: Պրադեր-Վիլլիի համախտանիշ

Պրադեր-Վիլլիի համախտանիշով տառապող նորածինների մոտ դիտվում են մկանային հիպոտոնիա, կերակրման խնդիրներ, ավելի հասուն տարիքում այս հիվանդներն ունենում են անհագուրդ սովի զգացողություն և տառապում են ճարպակալմամբ: Դիտվում է նաև միջին աստիճանի մտավոր հետամնացություն, թզուկություն, փոքր ձեռքեր և ոտքեր, հիպոգոնադիզմ, հիպոթիրեոիդիզմ և այլն: Որոշ հիվանդների մոտ հանդիպում են նաև ստամոքսաղիքային ուղու խաթարումներ՝ ստամոքսի դիլատացիա, աղիքի պատի վնասում:

Պարդեր-Վիլլիի համախտանիշի լոկուսն ունի 5-6 մեգա նշ (Մնշ) երկարություն: Առողջ օրգանիզմում մայրական 15q11.2 քրոմոսոմային լոկուսում գտնվող գեները էպիգենետիկորեն լռեցված են: Հիվանդությունն առաջանում է 15q11.2 քրոմոսոմային լոկուսում տեղակայված հայրական գեների էքսպրեսիայի բացակայության պատճառով, որն առաջանում է դելեցիայի (65-75 % դեպքեր) կամ մայրական ՄԾԴ-ի (20-30 % դեպքեր) հետևանքով (ժառանգվում են մայրական հոմոլոգ #15 քրոմոսոմները): Հիվանդությունը հազվադեպ կարող է առաջանալ տրանսլոկացիայի կամ իմփրինթինգը կարգավորող գենոմային լոկուսում մուտացիայի հետևանքով: Դելեցիա կրող հիվանդների մոտ դիտվում են նաև մազերի, աչքերի և մաշկի հիպոպիգմենտավորում (*OCA2* գենի դելեցիա):

15q11.2 քրոմոսոմային լոկուսում տեղակայված են մի շարք գեներ, այդ թվում՝ կորիզակային ՌՆԹ-ներ կոդավորող գեներ՝ *SNORD115* (48 կրկնօրինակ) և *SNORD116* (29 կրկնօրինակ): *SNORD116*-ը գլխավորապես էքսպրեսիայի է ենթարկվում գլխուղեղում, սակայն բացակայում է Պրադեր-Վիլլիի համախտանիշով հիվանդների մոտ: Պրադեր-Վիլլիի համախտանիշի մկների մոդելում, որոնց մոտ *SNORD116*-ը ենթարկված

է դելեցիայի, դիտվում են մարդու նման ախտանիշներ, ինչն ապացուցում է *SNORD116*-ի կապը հիվանդության հետ: Ենթադրվում է, որ *SNORD116*-ը կարող է մասնակցել ալտերնատիվ սփլայսինգին: Այնուամենայնիվ, մարդու մոտ դեռ չեն հայտնաբերվել այնպիսի գենային մուտացիաներ, որոնք լիովին կբացատրեին Պրադեր-Վիլիի համախտանիշին բնորոշ ֆենոտիպային բոլոր դրսևորումները: Հիվանդության հանդիպման հաճախականությունը կազմում է 1:10 . 000:

Օրինակ 2: Անգելմանի համախտանիշ

Անգելմանի համախտանիշը կոչվում է նաև «ուրախ տիկնիկի համախտանիշ», քանի որ հիվանդները ծիծաղում են առանց պատճառի և մշտապես ունենում են լավ տրամադրություն: Միևնույն ժամանակ տառապում են սուր մտավոր հետամնացությամբ, խոսքի բացակայությամբ, չկանոնակարգված քայլվածքով, ցնցումներով և միկրոցեֆալիայով:

Առողջ օրգանիզմում հայրական 15q11.2 քրոմոսոմային լոկուսում գտնվող ուբիքվիտին լիգազի (*UBE3A*) գենն էպիգենետիկորեն լռեցվում է և գործում է միայն մայրական ալելը: Հիվանդությունը գլխավորապես առաջանում է գլխուղեղի բջիջներում մայրական ալելում ~4 Մնզ դելեցիայի (70 % դեպքերում) կամ գենային մուտացիայի (11 % դեպքերում) արդյունքում: Առավել հաճախ մուտացիան հանդիսանում է *de novo*, այլ ոչ թե ժառանգվում: Անգելմանի համախտանիշը կարող է առաջանալ նաև, երբ ժառանգվում է միայն հայրական 15-րդ քրոմոսոմը: Անգելմանի համախտանիշով հիվանդների 10-15 % դեպքերում հիվանդության առաջացման պատճառը մնում է անհայտ: Դա կարող է պայմանավորված լինել այլ գենային և քրոմոսոմային մուտացիաներով: Որոշ դեպքերում դիտվում է նաև *OCA2* գենի դելեցիա, որի արդյունքում հիվանդներն ունենում են մազերի, աչքերի և մաշկի հիպոպիգմենտավորում:

Մկների մողելում, որոնց մոտ բացակայում է *UBE3A* մայրական գենը, դիտվում են հիպոկամպալ հիշողության խաթարումներ:

Հիվանդության հանդիպման հաճախականությունը կազմում է 1:16.000:

ՄԾԴ ուսումնասիրության նոր արդյունքներ

- Որոշ հետազոտություններում ցույց է տրվել ICSI արտամարմնային բեղմնավորման և իմփրինթինգային խաթարումների մակարդակի բարձրացման միջև կապ:

- Չեռքբերովի ՄԾԴ-ն կարևոր նշանակություն ունի որոշ ուռուցքների զարգացման համար: ԴՆԹ ռեպարացիայի արդյունքում կարող է առաջանալ քրոմոսոմների հոմոզիգոտացում:
- Մեկ սերնդում առաջացած էպիգենետիկական փոփոխությունները կարող են ազդել հաջորդող մի քանի սերունդների վրա: Ցույց է տրվել, որ 10 տարեկան հասակում (երբ սկսվում է սպերմատոզոիդների հասունացումը) պապի մոտ թերսնուցումը կարող է ազդել թոռների մոտ կյանքի տևողության և բարձրացնել դիաբետով (*J Epidemiol Community Health 2004; 58:517-22*) կամ քաղցկեղով հիվանդանալու ռիսկը (*Nat Commun 2018;9:5124*):

դ) Եռնուկլեոտիդային կրկնողությունների ամպլիֆիկացիա կամ էքսպանսիա

եռնուկլեոտիդ ATG TCA AGA ***CAG*** CTG TAA CTG

կրկնողություն ATG TCA AGA *CAG* ***CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG*** CTG TAA CTG

էքսպանսիա ATG TCA AGA ***CAG CAG CAG CAG***
CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG
CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG
CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG
CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG
CAG CAG CAG CAG CTG TAA CTG

Նկարագրիչներ

+Ատիպիկ մեխանիզմով մոնոգեն հիվանդությունները հաճախ կարող են ժառանգվել Մենդելյան օրենքներին համաձայն՝ X-շղթայակցված ռեցեսիվ կամ աուտոսոմ-դոմինանտ կերպով:

+Առաջացող հիվանդությունների ընդհանրությունները անկայուն, դինամիկ եռնուկլեոտիդային կրկնողություններն են:

+Հիվանդությունն առաջանում է անկայուն եռնուկլեոտիդային կրկնողությունների թվի զգալի ավելացման պատճառով:

+Որքան ավելի շատ են կրկնողությունները, այնքան ավելի վաղ և սուր են դրսևորվում հիվանդության ախտանիշները:

+Հատուկ դեպքերում եռնուկլեոտիդային հաջորդականությունների էքսպանսիան տեղի է ունենում ամպլիֆիկացիայի ճանապարհով, հետևաբար հիվանդության ախտանիշները դրսևորվում են ավելի վաղ և սուր կերպով, ինչը սպասելի է: Սա առավել հաճախակի հանդիպող խնդիր է, երբ հիվանդությունը փոխանցվում է «մեծ տարիք» ունեցող հոր կողմից:

+Մարդու գենոմում կրկնվող հաջորդականությունները հաճախ են հանդիպում և ստեղծում նախապայման մուտացիաների առաջացման համար, քանի որ բջջի բաժանման ժամանակ խաթարվում է հոմոլոգ քրոմոսոմների միջև քրոսինգօվերը: Այս հիվանդություններին բնորոշ է գամետոգենեզի ընթացքում կրկնվող հաջաորդականությունների թվի ավելացումը կամ դելեցիան:

1991 թվականից սկսած՝ հայտնաբերվել են, այսպես կոչված, «դինամիկ մուտացիաները», ինչպես նաև դրանց հետ կապված եռնուկլեոտիդային հաջորդականություններն ու ֆրագիլ սայթերը: Այս «դինամիկ մուտացիաները» (դոմինանտ կամ ռեցեսիվ) հանդիպում են գեների կոդավորող հատվածում կամ դրանցից դուրս և առաջացնում նյարդային համակարգի սուր հիվանդություններ նուկլեոտիդային կրկնողությունների թվի ավելացման հետևանքով:

Օրինակ: Ֆրագիլ X քրոմոսոմի համախտանիշ (*FRAXA*), միոտոնիկ դիստրոֆիա, Հանթինգթոնի հիվանդություն, նեյրոդեգեներատիվ այլ հիվանդություններ (սպինոցերեբելյար ատաքսիա՝ SCA1, 2, 3, 6, 7, 8, 10, 12, 17) և Ֆրիդռեյխսի ատաքսիա (FRDA):

Եռնուկլեոտիդային կրկնողությունների էքսպանսիայով պայմանավորված հիվանդություններն ունեն որոշակի ընդհանրություններ.

- գլխավորապես առաջանում է CAG կոդոնի կրկնողությունների ավելացում (պոլիգլյուտամին):
- նորմալ ալելներն ունենում են 27-35 CAG կրկնողություններ,
- գոյություն ունի «սահմանային կամ նախամուտացիոն» փուլ, երբ CAG կրկնողությունների թիվը կազմում է 36-39, կրողները երկար ժամանակ կամ ամբողջ կյանքի ընթացքում կարող են առողջ լինել:
- հայտնի են ~12 եռնուկլեոտիդային հիվանդություններ՝

→ 1-ին տիպ: Եռնուկլեոտիդային կրկնողությունը կոդավորող հաջորդականության մասն է:

→ 2-րդ տիպ: Եռնուկլեոտիդային կրկնողությունը գտնվում է գենի կոդավորող հաջորդականությանը մոտ:

Օրինակ 1: Հանթինգթոնի հիվանդություն

Հիվանդությունն առաջանում է 4p16 քրոմոսոմում տեղակայված հանթինգթին՝ *HTT* (*IT15, HD*) գենի մուտացիայի արդյունքում, որն ունի ~180 կնզ երկարություն և 67 էքզոն (CAG էքսպանսիան առաջանում է առաջին էքզոնում): Հանթինգթին սպիտակուցի ֆունկցիան հայտնի չէ. այն հայտնաբերվում է բոլոր հյուսվածքներում, դրա բացակայությունը մկների մոտ հանգեցնում է էմբրիոնալ մահվան: Առողջ մարդկանց մոտ CAG հաջորդականությունը կրկնվում է 7-35 անգամ, CAG >40 դեպքում զարգանում են հիվանդությանը բնորոշ ախտանիշները: Մուտացիայի արդյունքում առաջանում է երկար պոլիգլյուտամինային սպիտակուց, որի ագրեգացիաները խաթարում են աքսոնային տրանսպորտը, տրանսկրիպցիան, տրանսլյացիան, միտոքոնդրիումների և սինապսների ֆունկցիաները: Հանթինգթոնի հիվանդության ժամանակ առաջանում է մկանային դիստոնիա, դժվարությամբ է յուրացվում նոր ինֆորմացիան, խնդրի լուծման վրա կենտրոնանալու, առաջնային և երկրորդային խնդիրները տարբերելու անունակություն, դրսևորվում են իմպուլսիվ պահվածք և հոգեկան խաթարումներ: Մահն առաջանում է հիվանդության ախտորոշումից 10-30 տարվա ընթացքում:

HTT գենում CAG կրկնողություններն անկայուն են: Նորմալ ալելը կայուն է առողջ պոպուլյացիայի >99.9 % դեպքերում: Հիվանդների մոտ *HTT* ալելը դրսևորում է անկայունություն ~80% դեպքերում, այսպես՝

ձվաբջիջներում՝ + 0.4 CAG / մեյոզ,

սպերմատոզոիդներում՝ + 9 CAG / մեյոզ:

Սա կոչվում է գենետիկական անտիսիպացիա, որի ժամանակ յուրաքանչյուր հաջորդ սերնդում հիվանդության ախտանիշները ի հայտ են գալիս ավելի վաղ տարիքում և սուր ֆենոտիպով:

Որքան շատ է կրկնողությունների քանակը, այնքան ավելի վաղ են դրսևորվում հիվանդության ախտանիշները: Կրկնողությունները կարող են ավելանալ կամ ենթարկվել դելեցիայի՝ ԴՆԹ ռեկոմբինացիայի, ռեպլիկացիայի կամ ռեպարացիայի ժամանակ:

Հանթինգթոնի հիվանդության 5-10 % դեպքերում ախտանիշները դրսևորվում են 20 տարեկանից փոքր հասակում (Գլուխ 4.2.1.ա):

Օրինակ 2: Ֆրագիլ X քրոմոսոմի համախտանիշ

Ֆրագիլ X քրոմոսոմի համախտանիշը ժառանգական մտավոր հետամնացության առավել հաճախ հանդիպող տեսակ է: Մտավոր հետամնացությամբ տղամարդկանց 2-8 %-ը ախտորոշվում է այս հիվանդությամբ: CGG եռնուկլեոտիդային կրկնողությունների թվի ավելացումը դիտվում է Xq27.3 քրոմոսոմի *FMR1* գենում, որն ունի ~39 կնզ երկարություն և 17 էքզոն:

– նորմալ տարբերակ՝ մինչև 50 կրկնողություն,
– նախամուտացիա՝ 50-200 կրկնողություն,
– մուտացիա՝ >230-2.000 կրկնողություններ:

FMR1 գենը կոդավորում է FMRP սպիտակուցը, որն առավել հաճախ հայտնաբերվում է գլխուղեղում: *FMR1* գենի մուտացիայով մկների մոդելում բացահայտվել է, որ FMRP սպիտակուցի թերսինթեզը հանգեցնում է սինապսային ճկունության կորստի: Ցույց է տրվել, որ FMRP սպիտակուցը կարող է կապվել մՌՆԹ-ների հետ և կարգավորել տրանսլյացիան:

Հիվանդության ախտանիշներն են՝ միջին և ծանր աստիճանի մտավոր հետամնացություն, ուշադրության պակաս, գերակտիվություն, աուտիզմ, դիսմորֆիզմ (երկարացած դեմք՝ արտահայտված կզակով, մեծ և ցցված ականջներ) և հետպուբերտացիոն մակրոորքիդիզմ:

Կանանց մոտ այս մուտացիան կարող է հանգեցնել վաղ անպտղության սակավաթիվ ֆոլիկուլների ձևավորման պատճառով:

Հիվանդության հանդիպման հաճախականությունը տղամարդկանց մոտ կազմում է 1:4.000, իսկ կանանց մոտ՝ 1:8.000:

4.3. Գենետիկական խորհրդատվություն

Գենետիկական խորհրդատվությունն ու քրոմոսոմային վերլուծությունը մարդու գենետիկայի կարևորագույն ուղղություններն են:

Որո՞նք են գենետիկական խորհրդատվությանը դիմելու պատճառները: Դրանք կարող են լինել մի քանիսը.

- ընտանիքի պլանավորման նպատակով (օրինակ՝ ընտանիքում գենետիկական հիվանդության առկայություն),
- զույգի մոտ անպտղության առկայություն,
- արտամարմնային (in vitro) բեղմնավորում,

- հղիության ընթացքում որոշ թեստերի ցուցումներ (օրինակ՝ սոնոգրաֆիան),
- հիվանդ երեխայի ծնունդով պայմանավորված խորհրդատվության կարիք,
- հղիության արհեստական ընդհատում/վիժում, վաղաժամ ծննդաբերություն և խորհրդատվության կարիք,
- ժառանգական քաղցկեղներ (օրինակ՝ աղիքի քաղցկեղ, կրծքագեղձի քաղցկեղ),
- պրոգնոստիկ ախտորոշում (օրինակ՝ Հանթինգթոնի հիվանդություն, Ֆրիդրիխի ատաքսիա):

Գենետիկական խորհրդատվության սկզբունքները

Գենետիկական խորհրդատվության նպատակն է դարձնել հիվանդին սեփական առողջական խնդրի «մասնագետ», քանի որ խորհրդատվության դիմած անձը ինքնուրույն պետք է կայացնի իր բուժմանն առնչվող որոշումները, ուստի գենետիկական խորհրդատվությունը.

- բաց է և անաչառ,
- պարտադրող չէ,
- կամավոր է գիտակցված համաձայնության պայմաններում,
- կարող է ընդհատվել ցանկացած պահի, եթե խորհրդատվությանը դիմած անձը չի ցանկանում տեղեկացված լինել,
- արգելում է խորհրդատուին փոխանակվել տեղեկատվությամբ այլ անձանց հետ, նույնիսկ եթե հիվանդի ազգականների համար կա ռիսկի գործոն,
- նման չէ բժշկի և հիվանդի միջև «սովորական» խորհրդատվության, կարող է տևել 45-90 րոպե և ներառել մի քանի խորհրդատվություններ,
- պետք է իրականացվի հիվանդի համար հասկանալի կերպով և ներկայացվի խնդրին առնչվող արդի տեղեկատվություն,
- ներառում է գրավոր ամփոփագիր, որը տրվում է հիվանդին:

Ի՞նչ է ներառում գենետիկական խորհրդատվությունը:

- Ճշգրտվում են հիվանդի հարցերը և խորհրդատվության նպատակը:
- Կատարվում է տոհմաբանական ծառում սեփական և ընտանեկան անամնեզի վերլուծություն:

Տոհմաբանական ծառի վերլուծության ժամանակ կարող են առաջ գալ անորոշություններ.

- գենի պլեյոտրոպության հետևանքով (հետաքրքրող գենն ազդում է մեկից ավելի հատկանիշների վրա, օրինակ՝ Դյուշենի մկանային դիստրոֆիան կամ Բեկերի մկանային դիստրոֆիան),
- նախնիի վաղաժամ մահ/որդեգրում/այլ հայր,
- ցածր պենետրանտություն (օրինակ՝ հեմոքրոմատոզ),
- փոփոխական էքսպրեսիվություն (I տիպի նեյրոֆիբրոմատոզ),
- գենետիկական անտիսիպացիա (օրինակ՝ Հանթինգթոնի հիվանդություն, միոտոնիկ դիստրոֆիա),
- նոր մուտացիա (օրինակ՝ I տիպի նեյրոֆիբրոմատոզ, ախոնդրոպլազիա),
- սեռական բջիջների մոզաիկություն (օրինակ՝ փխրուն ոսկրերի հիվանդություն – *osteogenesis imperfecta*),
- իմփրինթինգ,
- բազմագենային ժառանգականություն (օրինակ՝ լսողության կորուստ):

- Բժշկի կողմից հիվանդության ուսումնասիրում՝ վերլուծելով հասանելի տեղեկատվությունը, հատկապես՝ բժշկական հաշվետվությունները:
- Հիվանդության մասին տեղեկատվության տրամադրում՝ նկատի ունենալով.
  - հատուկ գենետիկական ռիսկերի գնահատումը,
  - ընդհանուր գենետիկական ռիսկերի վերաբերյալ խորհրդատվությունը,
  - հիվանդի առողջության, կյանքի և ընտանիքի պլանավորման համար ստացված տեղեկատվության նշանակության վերաբերյալ խորհրդատվությունը:
- Հավանականությունների գնահատում:

Գենետիկական խորհրդատվությանը հաճախ դիմում են հետևյալ հիվանդությունների դեպքում:

Ժառանգական քաղցկեղներ

Սերնդի մոտ ուռուցքները, ինչպիսին է կրծքագեղձի քաղցկեղը, կարող են առաջանալ ծնողների սեռական բջիջներում օնկոգենների կամ սուպրեսոր գեների մուտացիայի հետևանքով: Գենետիկական խորհրդատվությունը թույլ է տալիս բացահայտել տոհմաբանական ծառում այսպիսի մուտացիաներ կրողներին (Գլուխ 9.6.):

Մտավոր հետամնացություն

Արևմտյան երկրներում մտավոր հետամնացությամբ և/կամ դիսմորֆիզմով երեխայի ծնվելու ռիսկը կազմում է 2-4 %: Բացի խնդրի առաջացման պատճառից՝ ծնողները ցանկանում են իմանալ հիվանդության կրկնման հավանականության, ինչպես նաև վաղ փուլում բուժման հնարավորությունների մասին: Համապատասխան դեպքերում ծնողներին առաջարկվում է անցնել գենետիկական հետազոտություն և գենետիկական խորհրդատվություն:

Արական անպտղություն

Անպտղությունը հղիության բացակայությունն է մեկ տարվա ընթացքում չպաշտպանված սեռական հարաբերություններ ունենալու դեպքում:

Անպտղությունն ախտորոշվում է զույգերի 15 %-ի մոտ, որոնցից 4 %-ն անբուժելի է: Անպտղության դեպքերի ~50 %-ը պայմանավորված է արական գործոնով, որոնցից 30 %-ի մոտ հիվանդության պատճառը գենետիկական խաթարումն է: Առավել հաճախ հանդիպում են օլիգոզոոսպերմիայով (սպերմատոզոիդների կոնցենտրացիան <15 մլն/մլ) կամ ազոոսպերմիայով (էյակուլյատում սպերմատոզոիդների բացակայություն) տառապող հիվանդներ: Անպտղության գենետիկական պատճառներից առավել հաճախ են հանդիպում Կլայնֆելտերի համախտանիշը (Գլուխ 7.2.), AZF լոկուսի միկրոդելեցիաները (Գլուխ 4.2.1.գ), *CFTR* գենի մուտացիաները (Գլուխ 4.2.1.բ), անդրոգենային ընկալիչ կոդավորող գենի մուտացիաները և այլն:

<u>Կլինիկական գենետիկայի վերաբերյալ օգտակար տեղեկատվություն պարունակող էլեկտրոնային տեղեկատարաններ.</u>

- *Pubmed: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed*
- *OMIM: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim*
- *HGQN: http://www.hgqn.org/*
- *EuroGenTest: http://www.eurogentest.org/*
- *GeneReviews: http://www.geneclinics.org/*
- *Genome Browser:*

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv/
http://genome.ucsc.edu/
http://www.ensembl.org/index.html

5. Բջջագենետիկա

Բջջագենետիկան ուսումնասիրում է քրոմոսոմները և դրանց կառուցվածքը: Առաջին բջջագենետիկական ուսումնասիրությունները իրականացվել են բույսերի մոտ: Հիմնական օբյեկտը սոխի արմատային մազիկների բջիջներն էին, որոնցում հեշտությամբ ուսումնասիրում են միտոզի տարբեր փուլերը: Մեյոզի ուսումնասիրման համար կիրառվում էին միջատների սեռական բջիջները:

Հսկա պոլիտեն (բազմաթելանի) քրոմոսոմները կարելի է տեսնել տարբեր միջատների թրթուրների թքագեղձերի բջիջներում: Պոլիտեն քրոմոսոմներն առաջանում են էնդոռեդուպլիկացիայի բազմակի ցիկլերի արդյունքում (շարունակաբար կրկնվում են G1 և S փուլերը), որոնց չի հաջորդում ցիտոպլազմայի կիսումը: Օրինակ՝ *Drosophila* պտղաճանճի մոտ մեկ հսկա քրոմոսոմը բաղկացած է էնդոմիտոզի արդյունքում ձևավորված 1024 քրոմատիդից: Արդյունքում հարյուրավոր անգամ ամպլիֆիկացվում են գեները, և բազմակի ավելանում է համապատասխան սպիտակուցների քանակը բջիջներում: Օրինակ՝ *Drosophila* պտղաճանճի թրթուրի թքագեղձերում պոլիտեն քրոմոսոմների առաջացման շնորհիվ սինթեզվում է մեծ քանակությամբ ադհեզիվ մուկոպրոտեին հարսնյակավորումից առաջ:

Միջատների պոլիտեն քրոմոսոմներում տարբերում են սև և մոխրագույն բենդեր և բաց՝ միջբենդային հատվածներ, ինչը պայմանավորված է ԴՆԹ փաթեթավորման մակարդակով: *Drosophila* պտղաճանճի մոտ բենդերի թիվը կարող է հասնել 3.500-5.000: Էուքրոմատինը պարունակում է ~120 Մնզ և 14.000 գեն:

Հսկա քրոմոսոմների մեկ այլ տեսակ են երկկենցաղների և թռչունների օոցիտներում հանդիպող լամպի խոզանակի տիպի քրոմոսոմները: Այս քրոմոսոմները 30 անգամ ավելի մեծ են, քան այս կենդանիների նորմալ քրոմոսոմները: Այս քրոմոսոմներում ԴՆԹ-ն գտնվում է ապափաթեթավորված վիճակում, որի հետևանքով ձևավորվում են լամպի խոզանակի տիպի քրոմոսոմները և քրոմոսոմի ողջ երկայնքով տեղի է ունենում ՌՆԹ ակտիվ տրանսկրիպցիա: Հետաքրքիր է, որ երկկենցաղների ձվաբջջի մեջ ներարկված մարդու քրոմոսոմները նույնպես կարող են վերածվել լամպի խոզանակի տիպի քրոմոսոմների:

Քրոմոսոմների թիվը տարբեր օրգանիզմներում

Յուրաքանչյուր տեսակի համար բնորոշ է քրոմոսոմների որոշակի թիվ.

	(2n)
Homo sapiens (մարդ)	46
Gorilla gorilla (գորիլա և այլ մեծ կապիկներ)	48
Zea mays (եգիպտացորեն)	20
Oryza sativa (բրինձ)	42
Ascaris megalocephala (կլոր որդ)	2
Stylonychia mytilus (միաբջիջ նախակենդանի)	~300
Gallus gallus domesticus (հավ)	78
Drosophila melanogaster (պտղաճանճ)	8
Lysandra atlantica (թիթեռ)	446
Felis catus (կատու)	38

Մարդու քրոմոսոմները

Մարդու օրգանիզմը կազմված է ~37 տրիլիոն բջջից, յուրաքանչյուրում՝ 46 քրոմոսոմ: Քրոմոսոմի կառուցվածքի 1/3 մասը կազմում է ԴՆԹ-ն, 1/3-ը՝ հիստոնային և 1/3 ոչ հիստոնային սպիտակուցները: ԴՆԹ-ն կազմված է ~3.2 միլիարդ նուկլեոտիդային զույգերից, ~19.900-22.000 սպիտակուց կոդավորող գենից (թիվը գրականության մեջ կարող է փոփոխվել ժամանակի ընթացքում), ~80.000 ՌՆԹ կոդավորող հաջորդականություններից (չհաշված փոքր ՌՆԹ-ները) և կոդավորում է ~100.000 սպիտակուց: ԴՆԹ 146 նզ 1.75 պտույտով փաթաթված է նուկլեոսոմի (առանցքային հիստոններ՝ H2A, 2B, H3, և H4, իսկ H1 լինքերային հիստոնը կայունացնում է ԴՆԹ կապն առանցքային հիստոնների հետ) շուրջը: Յուրաքանչյուր բջջում ԴՆԹ երկարությունը կազմում է 2մ, որը բաժանված է 46 մասի: Եթե բջիջը լիներ թենիսի գնդակի չափ, ապա ԴՆԹ երկարությունը կկազմեր 40 կմ: Մարդու գենոմի ~1.5-3 %-ն է հանդիսանում սպիտակուց կոդավորող, մնացած մասը կազմում են կարգավորիչ գործառույթ կատարող ՌՆԹ-ներ կոդավորող հաջորդականություններ և տարբեր չափ ունեցող կրկնողություններ: Ուստի ներկայումս «աղբային ԴՆԹ» (junk DNA) հասկացությունը արդիական չէ:

Հարկ է նշել, որ յուրաքանչյուր սոմատիկ բջջում առկա է 10-500 միտոքոնդրիում, որոնցից յուրաքանչյուրը կրում է օղակաձև ԴՆԹ 3-6 կրկնօրինակ:

ՄտԴՆԹ 16.569 նուկլեոտիդային հաջորդականության տառերը կարելի է տպել DINA4 ձևաչափով 5.5 էջի վրա, բակտերիալ ԴՆԹ 3.000.000 տառը՝ 1.000 էջ ունեցող գրքում, իսկ մարդու գենոմը տպագրելու համար անհրաժեշտ է 1.000 էջ ունեցող 1000 գրքից կազմված գրադարան:

5.1. Քրոմոսոմային պատրաստուկների ստացումը

Տեսականորեն մարդու քրոմոսոմները կարելի է ստանալ ցանկացած կենդանի ու բաժանվող բջջից, սակայն պետք է հիշել, որ քրոմոսոմները տեսանելի են միայն միտոզի փուլում, որը կազմում է բաժանվող բջջի ցիկլի տևողության 1/16-րդ մասը: Հյուսվածքների մեծ մասի մոտ բջիջները գտնվում են բջջային ցիկլի G0 փուլում (չեն բաժանվում):

Քրոմոսոմների պատրաստուկների ստացման համար առավել հաճախ կիրառվում են հետևյալ հյուսվածքները՝

- ծայրամասային կամ պորտալարի արյունը (*),
- մաշկի ֆիբրոբլաստներ,
- ամնիոնային հեղուկ,
- խորիոնային թավիկներ,
- ընկերք,
- քաղցկեղային բջիջներ:

** Առողջ մարդու արյան բջիջները չեն կիսվում, ուստի քրոմոսոմների ստացման համար T-լիմֆոցիտների կիսումը ստիմուլացվում է ֆիտոհեմագլյուտինինով (լոբուց ստացվող լեկտինային սպիտակուց՝ միտոգեն գործոն):*

Քրոմոսոմների պատրաստուկները ստացվում են հետևյալ փուլերով.

1. Կենդանի բջիջները կուլտիվացվում են ստանդարտ սննդամիջավայրում (օրինակ՝ RPMI-1640):
2. Բջիջներն աճեցվում են 3-14 օր, իսկ երբեմն՝ 21 օր 37°C և 5% CO_2 պայմաններում:
3. Ֆիքսումից 1-2 ժամ առաջ ավելացվում է կոլխիցինը կամ կոլցեմիդը՝ բաժանման իլիկի արգելակման նպատակով:

4. Բջիջները մշակվում են KCl-ի հիպոտոնիկ լուծույթով՝ քրոմոսոմները միմյանցից առանձնացնելու համար:
5. Բջիջները ֆիքսվում են մեթանոլ/քացախաթթվի լուծույթով (3:1 ըստ ծավալի, Կարնոյի ֆիքսատոր), ինչի ժամանակ բջիջները մահանում են և սուսպենզիան կարելի է պահել մի քանի տարի:
6. Բջջային սուսպենզիան կաթեցվում է սառը առարկայակիր ապակու վրա: Ապակու մակերեսից առաջինը գոլորշիանում է մեթանոլը՝ թողնելով հիգրոսկոպ քացախաթթուն: Դրա շնորհիվ ջրի մոլեկուլները կլանվում են մթնոլորտից, քրոմոսոմներն ուռչում և տարածվում են առարկայակիր ապակու վրա: Քացախաթթվից հետո գոլորշիանում է ջուրը:
7. Տրիպսինով մշակումը թույլ է տալիս քրոմոսոմներից հեռացնել սպիտակուցների մի մասը, ընդ որում, տրանսկրիպցիոն բարձր ակտիվությամբ հատվածներում ավելի շատ սպիտակուցներ են քայքայվում, քան ինակտիվ հատվածներում:
8. Գիմզայով ներկումից և լվացումից հետո տեսանելի են դառնում յուրաքանչյուր քրոմոսոմին բնորոշ մուգ (հետերոքրոմատին) և բաց (էուքրոմատին) շերտերը՝ բենդերը: Ինակտիվ կամ հետերոքրոմատինային հատվածները ներկվում են ավելի մուգ, քանի որ այս բենդերում սպիտակուցների ու ԴՆԹ խտությունն ավելի բարձր է, և ԴՆԹ-ն գտնվում է գերփաթեթավորված մակարդակում:

5.2. Դասական բջջագենետիկա

Բջջագենետիկան ուսումնասիրում է քրոմոսոմները, դրանց կառուցվածքային և քանակական փոփոխությունները՝ հիմնվելով քրոմոսոմների չափի, բենդերի բաշխման և ցենտրոմերի դիրքի վրա:

Տարբերում են տեղային և կետային ցենտրոմերներ: Տեղային ցենտրոմերները պարունակում են մեծ քանակությամբ ԴՆԹ և գտնվում են հետերոքրոմատինային վիճակում: Կետային ցենտրոմերներն ավելի փոքր են և կոմպակտ, խմորասնկերի մոտ այն ունի 125 նզ երկարություն և պարունակում է կինետոխորի հիմնական սպիտակուցների հետ փոխազդեցության համար երկու կոնսերվատիվ հաջորդականություն: Այստեղ տեղակայված է մեկ ցենտրոմերային նուկլեոսոմ, որի հետ փոխազդում է բաժանման իլիկի մեկ միկրոխողովակ:

Մարդու քրոմոսոմների ցենտրոմերային հատվածում ԴՆԹ-ն փոխազդում է ցենտրոմերային հիստոնի՝ CENP-A (*D. melanogaster* պտղաճանճի մոտ՝ CID) սպիտակուցի հետ, որը նուկլեոսոմի կառուցվածքում փոխարինում է հիստոն H3-ին և անհրաժեշտ է կինետոխորի հետ փոխազդեցության համար:

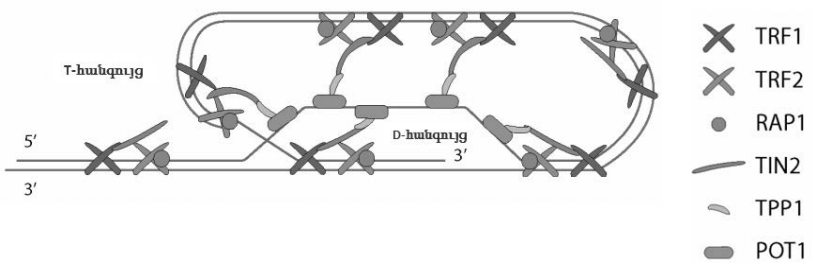
Մարդու քրոմոսոմներում ցենտրոմերը (տեղային ցենտրոմեր) կարող է ունենալ կենտրոնական կամ պերիֆերիկ տեղայնացում: Քրոմոսոմի երկայնքով, ցենտրոմերի դիրքից կախված, տարբերում են մետացենտրիկ (կենտրոնական դիրք), սուբմետացենտրիկ (կենտրոնից շեղված) և ակրոցենտրիկ (ծայրային հատվածին մոտ) քրոմոսոմներ: Յուրաքանչյուր քրոմոսոմ ունի նաև կարճ՝ p (ֆրանսերեն՝ petit – փոքր), և երկար՝ q (որպես p տառի հայելային արտապատկեր) ուսեր:

Ցենտրոմերային հատվածների մոտ կարող են լինել նաև կրկնվող հաջորդականություններից կազմված հետերոքրոմատինային տեղամասեր (առավել տեսանելի են #1, #9 և #16 քրոմոսոմներում և Y քրոմոսոմի q ուսի ծայրային հատվածում): Հետերոքրոմատինի տարբեր տեսակներ ձևավորում են ակրոցենտրիկ քրոմոսոմների p ուսերը (#13, #14, #15, #21 և #22 քրոմոսոմներ), որտեղ գտնվում է կորիզակի ձևավորման տեղամասը (NOR): Ակրոցենտրիկ քրոմոսոմների p ուսերը գրեթե իդենտիկ են, չեն կոդավորում սպիտակուց և յուրաքանչյուր բջջում առկա են 10 օրինակով: Դրա շնորհիվ այս հաջորդականությունների հետերոմորֆիզմները չեն առաջացնում բացասական ֆենոտիպային դրսևորումները:

Այսպիսով՝ p ուսի տարբեր փոփոխություններ կարելի է հայտնաբերել գրեթե յուրաքանչյուր անձի մոտ: Հարկ է նշել, որ ակրոցենտրիկ քրոմոսոմների p ուսերը կոչվում են նաև սատելիտային կամ արբանյակային, ինչը չպետք է շփոթել սատելիտային ԴՆԹ-ի հետ, որը կազմված է ալֆոիդ կրկնողություններից:

Քրոմոսոմների p և q ուսերի ծայրային հատվածներում գտնվում են թելոմերային (հունարեն՝ τέλος – ծայրային, μέρος – հատված) հաջորդականությունները: Առաջին անգամ հայտնաբերվել են Բարբարա ՄաքՔլինթոքի և Հերման Մալլերի կողմից 1930-ական թթ. ընթացքում: Թելոմերային հատվածները կանխում են քրոմոսոմների միաձուլումը, բջիջների վաղաժամ ծերացումը, պահպանում են գենոմային կայունությունը: Կաթնասունների թելոմերային հատվածը բաղկացած է հազարավոր TTAGGG կրկնողություններից, որոնք մարդու մոտ կարող են հասնել 9-15 կնզ երկարության երկշղթա հատվածում և մի քանի հա-

ոյուր նուկլեոտիդի երկարության՝ միաշղթա ծայրային հատվածում: Հետաքրքիր է, որ թելոմերների երկարությունները կարող են տարբերվել հոմոլոգ քրոմոսոմների, ինչպես նաև ոչ հոմոլոգ քրոմոսոմների միջև: Օրինակ՝ 17p քրոմոսոմային ուսի թելոմերի երկարությունը, որպես կանոն, ավելի կարճ է, քան մյուս քրոմոսոմներինը: Թելոմերների ծայրային 3′ հատվածը Գ-հարուստ, 35-600 նուկլեոտիդ երկարությամբ միաշղթա ԴՆԹ է, որին միանում է թելոմերազ ֆերմենտը: Գ-հարուստ միաշղթանի հատվածը պտտվում է հետ՝ դեպի քրոմոսոմը, և առաջացնում T-հանգույցը, որը պաշտպանում է քրոմոսոմի ծայրային հատվածը: T-հանգույցի կառուցվածքը պահպանվում է շելտերինային կոմպլեքսի միջոցով, որը ներկայացված է 6 սպիտակուցներով: TRF1 և TRF2 շելտերինային սպիտակուցները փոխազդում են թելոմերի երկշղթա հատվածի հետ, իսկ POT1-ը՝ միաշղթա հատվածի հետ: Մյուս երեք սպիտակուցներն (RAP1, TIN2, TPP1) առաջացնում են սպիտակուց-սպիտակուց կապեր (նկար 3):



Նկար 3. Թելոմերի կառուցվածքը, որը պահպանվում է 6 շելտերինային սպիտակուցների միջոցով (*Int J Mol Sci. 2018;19(1). pii: E294*):

Բջջի յուրաքանչյուր բաժանման արդյունքում թելոմերների երկարությունը կարճանում է ՌՆԹ-պրայմերի նուկլեոտիդային երկարությանը համապատասխան հատվածի չափով: Քաղցկեղային և բնային բջիջներում այդ կորուստը վերականգնվում է թելոմերազ ֆերմենտի միջոցով: Հետաքրքիր է, որ բարձրագույն կրթություն և բարձր IQ ունեցողների թելոմերների երկարությունը գերազանցում է միայն դպրոցական կրթություն և ցածր IQ ունեցողներին:

Մարդու ցենտրոմերները.

- քրոմոսոմի այն հատվածներն են, որոնց միանում է բաժանման իլիկի համակարգը միտոզի ժամանակ,
- կրում են ալֆոիդ ԴՆԹ երկար հատվածներ (մինչև մի քանի միլիոն նզ). ալֆա սատելիտային ԴՆԹ-ն հարուստ է ԱԹ հաջորդականություններով, որոնց 171 նզ-երի հազարավոր կրկնողություններից կազմված են ցենտրոմերները:

Մարդու թելորմերները.

- կայունացնում են քրոմոսոմների կառուցվածքը՝ կանխելով քրոմոսոմների միաձուլումը,
- ապահովում են ռեպլիկացիան (գրեթե) առանց ԴՆԹ կորստի,
- կանխում են բջջի սեփական ԴՆԹ դեգրադացումը,
- բարձր հաճախականությամբ կրկնվող հաջորդականություններ են և կազմված են 5'-TTAGGG-3' կրկնողություններից: Բջջի յուրաքանչյուր բաժանման հետևանքով քրոմոսոմների 5′ ծայրերի ԴՆԹ-ի հետ մնացող շղթան կորցնում է 50-100 թելոմերային նուկլեոտիդ, քանի որ բացակայում է ՌՆԹ պրայմերի մատրիցան Օկազակիի հաջորդ հատվածի միացման համար: Թելոմերային հաջորդականությունները կարող են վերականգնվել թելոմերազ ֆերմենտի միջոցով, որը սոմատիկ բջիջների հիմնական մասում գտնվում է ինակտիվ վիճակում: Այսպիսով՝ մարդու ֆիբրոբլաստները բջջային կուլտուրայում կարող են կիսվել 60 անգամ, որից հետո դառնում են սենեսենտ կամ ծերացած: Այս երևույթը կոչվում է Հեյֆլիկի սահման կամ լիմիտ, որը կապված է թելոմերների երկարության հետ:

1921 թ. Նոբելյան մրցանակակիր Ալեքսիս Կարելը պնդում էր, որ մարդու նորմալ բջիջները բջջային կուլտուրայում անմահ են *per se*, և եթե բջիջները մահանում են, ապա դրա պատճառը հետազոտողի սխալն է: Լեոնարդ Հեյֆլիկի՝ 1961 թ. (բազմաթիվ մերժումներից հետո) տպագրված հոդվածում նկարագրվում էր, որ մարդու մաշկից ստացված բջիջները 50 բջջային ցիկլից հետո դառնում են սենեսենտ և մահանում: Քանի որ ստացված արդյունքները չէին համոզում գիտական հանրությանը, Հեյֆլիկն ուղարկում է բջջային կուլտուրաները տարբեր լաբորատորիաներ և կանխատեսում բջիջների մահվան ժամանակը: Բազմաթիվ լաբորատորիաներում ստացված և վերարտադրվող նոր տվյալ-

ների շնորհիվ աստիճանաբար ընդունվեց Հեյֆլիկի տեսությունը, և հին դոգման մերժվեց:

5.3. Քրոմոսոմների ներկման մեթոդներ

Քրոմոսոմների ամբողջական ներկման համար կիրառվում են Գիմզայի կամ օրցեինի ներկանյութերը: Առաջին անգամ քրոմոսոմների բենդավորման մեթոդը մշակվել է Լոռ Ջեքի կողմից 1960-ական թվականներին և կոչվում է Q-բենդավորում (quinacrine - ֆլյուորեսցենտ ներկ):

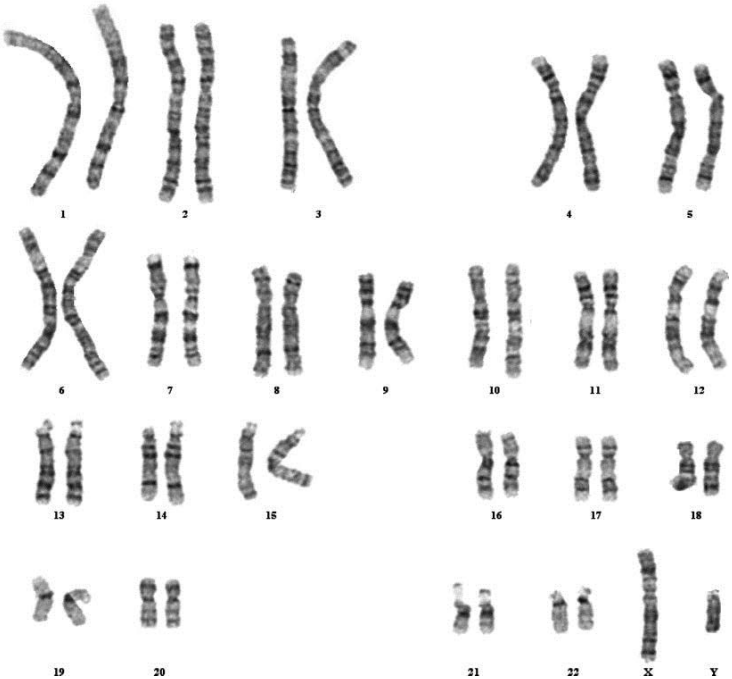
Ներկայումս լայնորեն կիրառվում են՝

- GTG (G-bands by trypsin using Giemsa) բենդավորում. G-բենդավորում՝ տրիպսինով և Գիմզայի ներկանյութով մշակելուց հետո, որի ժամանակ մուգ գույնով ներկվում են քրոմոսոմների AT հարուստ հատվածները:
- R-բենդավորում (անգլերեն՝ reverse – հակադարձ). R-բենդավորումը G-բենդավորման հակադարձ տարբերակն է, որի ժամանակ մուգ գույնով ներկվում են քրոմոսոմների GC հարուստ հատվածները:
- CBG (G-bands by Barium hydroxide using Giemsa) բենդավորում. C-բենդերի ստացում բարիումի հիդրօքսիդով և Գիմզայի ներկանյութով մշակելուց հետո, որը կիրառվում է հետերոքրոմատինային հատվածները (օրինակ՝ ցենտրոմերները) ուսումնասիրելու նպատակով:
- NOR (nucleolus organiser regions) բենդավորում. ներկվում են կորիզակի ձևավորման տեղամասերն ակրոցենտրիկ քրոմոսոմներում:

5.4. Մարդու քրոմոսոմների անվանակարգում

Մարդու 46 քրոմոսոմները խմբավորվում են ըստ իրենց չափերի. ամենամեծը #1 քրոմոսոմն է, իսկ ամենափոքրը՝ #22-ը (#21-րդ քրոմոսոմն ամենափոքրն է, սակայն այս սխալը մինչ այսօր չի ուղղվել): Քրոմոսոմների ամբողջական հավաքը կոչվում է կարիոտիպ, որտեղ քրոմոսոմները դասակարգվում են համապատասխան խմբերում (նկար 4):

Քրոմոսոմների խմբերն են.
խումբ A՝ #1-#3 (մեծ մետացենտրիկներ),
խումբ B՝ #4-#5 (մեծ սուբմետացենտրիկներ),
խումբ C՝ #6-#12 (միջին չափի սուբմետացենտրիկներ),
խումբ D՝ #13-#15 (միջին չափի ակրոցենտրիկներ),
խումբ E՝ #16-#18 (համեմատաբար փոքր (սուբ)մետացենտրիկներ),
խումբ F՝ #19-#20 (փոքր մետացենտրիկներ),
խումբ G՝ #21-#22 (փոքր ակրոցենտրիկներ),
գոնոսոմներ՝ X և Y:



Նկար 4. Մարդու կարիոտիպը՝ ներկված G-բենդավորման միջոցով (The Principles of Clinical Cytogenetics. 2013; pp 23-49):

Մարդու քրոմոսոմների բջջագենետիկական դասակարգումը, քրոմոսոմների նորմալ կառուցվածքը, քրոմոսոմների իդիոգրամները և բենդավորումը, հապավումներն ու նշանները, քրոմոսոմների քանակական և կառուցվածքային խաթարումների տեսակներն ու դրանց նկարա-

գրման կարգը ներկայացված են International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN) ուղեցույցում:

Բջջագենետիկայում հաճախ կիրառվող տերմիններ

Քրոմոսոմային բենդը քրոմոսոմի հատված է, որը տարբերվում է հարևան հատվածից մուգ կամ բաց գույնով: Տարբերում են բենդի մոխրագույն գունավորման հինգ երանգներ: Բենդերը համարակալվում են յուրաքանչյուր քրոմոսոմային ուսում ցենտրոմերից դեպի թելոմեր ուղղությամբ. ցենտրոմերը նշանակվում է p10 կամ q10: Բենդերն իրենց հերթին բաժանվում են ենթաբենդերի: Օրինակ՝ մարդու բջջագենետիկական քարտեզի վրա CFTR գենը գտնվում է 7q31.2 տեղամասում, ինչը նշանակում է, որ գենը տեղակայված է 7-րդ քրոմոսոմի երկար ուսի 3-րդ բենդի 1-ին ենթաբենդի 2-րդ ենթաբենդում:

ISCN-ում նշված քրոմոսոմային բենդերը ծառայում են քարտեզավորման և անվանակարգման նպատակին և չեն արտահայտում բենդերի բաժանման կենսաբանությունը (տե՛ս *Mol Cytogenet 2009;2:4*): Մեկ քրոմոսոմային բենդը հավասար է 5-10 Մնզ: G-դրական բենդերը AT-հարուստ և ուշ ռեպլիկացվող հատվածներ են, որոնք պարունակում են քիչ թվով գեներ, իսկ G-բացասական բենդերը GC-հարուստ, վաղ ռեպլիկացվող և գեներով հարուստ հատվածներ են:

Հավելյալ տերմիններ

Տեղանիշը յուրահատուկ բենդ է, որի միջոցով հեշտությամբ կարելի է տարբերել նորմալ քրոմոսոմը:

Տեղամասը երկու տեղանիշների միջև գտնվող հատվածն է:

ISCN-ի կանոնները

Ինչպես արդեն նշվեց, ISCN-ը սահմանում է կարիոտիպի նկարագրման կարգը:

1. Կարիոտիպի բանաձևում սկզբում տրվում է քրոմոսոմների ընդհանուր քանակը, որից հետո դրվում է ստորակետ, և գրվում մուտացիային մասնակցող սեռական քրոմոսոմը, եթե այդպիսին կա: Օրինակներ՝

   46,XX *(նորմալ կին),*
   46,XY *(նորմալ տղամարդ),*
   47,XX,+21 *(հիվանդ կին, տրիսոմիա #21)*:

2. Սեռական քրոմոսոմների խաթարումները նշվում են աուտոսոմներից առաջ, աուտոսոմները նշվում են թվաբանական կարգով՝ անկախ խաթարման տեսակից, խաթարումներն առանձնացվում են ստորակետով:
   Օրինակ՝ 47,XX,t(X;13)(q27;q12),inv(10)(p13q22),+21
   (իգական սեռի անհատ, տրիսոմիա #21, տրանսլոկացիա X և #13, պերիցենտրիկ ինվերսիա #10 քրոմոսոմում: Xq27, 13q12, 10p13 և 10p22 քրոմոսոմներում կտրվածքների առաջացման լոկուսներն են):

3. Քրոմոսոմային խաթարման տեսակը նշելուց հետո վնասված քրոմոսոմը գրվում է փակագծերում՝
   inv(2) – *ինվերսիա,*
   del(4) – *դելեցիա,*
   r(18) – *օղակաձև քրոմոսոմ*:

4. Միջակայքերով նշվում են մոզաիկների մոտ կլոնների թիվը:
   Օրինակ՝ mos 45,X[10]/46,XX[5]
   (իգական սեռի անհատ, ուսումնասիրվել է 15 բջիջ, որոնցից 10-ը պարունակում է Տերների համախտանիշին բնորոշ կարիոտիպ, իսկ 5-ը՝ նորմալ: Քիմերների դեպքում mos-ի փոխարեն նշվում է chi):

5. Կան բազմաթիվ այլ կանոններ և հապավումներ, օրինակ՝ pat = հայրական, mat = մայրական, dn = de novo և այլն (տե՛ս ISCN-ի տպագրված տարբերակը):

Մոզաիկներ և քիմերներ

Երբեմն նորմալ բջիջների կուլտիվացիայի ժամանակ կարող են հայտնաբերվել մոզաիկ բջիջներ, որոնք առաջանում են կուլտիվացման կամ քրոմոսոմային պատրաստուկների մշակման ընթացքում: Ուստի հարկավոր է տարբերել իրական մոզաիցիզմը փսևդոմոզաիցիզմից:

Մոզաիկներ

- Առաջանում են զիգոտի ձևավորումից հետո:
- Սինդրոմի անհատի տարբեր հյուսվածքներում մոզաիկ բջիջների տոկոսը կարող է տարբերվել: Ուստի եթե մեկ հյուսվածքում հայտնաբերվում է մոզաիցիզմ, այն կարող է դրսևորվել ֆենոտի-

պում, սակայն դրսևորումը չպետք է լինի պակաս ծանր, քան սպասվում էր:

- Երբեմն արագ բաժանվող հյուսվածքում աբեռացիա կրող բջիջները վերանում են կյանքի ընթացքում:
- Մոզաիկների հաճախականությունը կազմում է >2:1.000 նորածինների մոտ:
- Տարբերում են սոմատիկ և գոնադային մոզաիկներ, կարող են հանդիպել համակցություններ:
- Նորմալ կանայք մոզաիկներ են՝ ըստ X քրոմոսոմի, քանի որ X քրոմոսոմներից մեկը պատահականության սկզբունքով ինակտիվանում է (Գլուխ 17):
- Քաղցկեղով հիվանդները մոզաիկներ են, քանի որ կրում են նվազագույնը երկու տարբեր գենոմներ:
- Հյուսվածքների մոզաիկության հավանականությունը բարձրանում է մարդու տարիքին զուգընթաց, քանի որ ծերացման ընթացքում օրգանիզմում կուտակվում են մուտացիաներ կրող և քրոմոսոմային անկայունությամբ բջիջները:

Քիմերներ

Քիմերները տարբերվում են մոզաիկներից իրենց առաջացման մեխանիզմով.

- արգանդում երկու կամ ավելի զիգոտների միաձուլման հետևանքով առաջանում է մեկ առանձնյակ, որը կազմված է լինում միմյանցից տարբերվող գենոտիպով բջիջներից,
- ոսկրածուծի հետերոլոգ փոխպատվաստման արդյունքում ռեցիպիենտը դառնում է արհեստական քիմեր (հեմատոպոետիկ շարքի և մարմնի մյուս բջիջների գենետիկական ինֆորմացիան տարբերվում է),
- հղի յուրաքանչյուր կին քիմեր է, քանի որ տարբեր հյուսվածքներում պարունակվում են էմբրիոնի մնացորդային բջիջներ:

Հետերոմորֆիզմներ

ISCN-ի անվանակարգումը թույլ է տալիս նկարագրել նաև հետերոմորֆիզմները: Հետերոմորֆիզմների մասին մանրամասները, ինչպես նաև >400 հետերոքրոմատինային և էուքրոմատինային տարբերակների մասին տվյալներին կարելի է ծանոթանալ *http://ssmc-tl.com/HMs.html* կայքում:

Դրանց հայտնաբերումն ու նկարագրումը կարևոր են բջջագենետիկական ախտորոշման համար, քանի որ մի շարք հետերոմորֆիզմի տարբերակներ կարող են նմանացվել կլինիկական նշանակություն ունեցող քրոմոսոմային աբեռացիաներին: Բացի այդ՝ սատելիտային խաթարումները և ֆրագիլ սայթերը երբեմն դասակարգվում են որպես հետերոմորֆիզմներ:

Ֆրագիլ սայթերը մետաֆազային քրոմոսոմներում աքրոմատիկ հատվածներ կամ խզվածքներ են, որոնք առաջանում են ԴՆԹ ռեպլիկացիայի խաթարումների հետևանքով: Քրոմոսոմներում գեփեր (ռեպլիկացիայի արգելակման հետևանքով առաջացող չներկվող հատվածներ) կարելի է մակածել բջիջներն աֆիդիկոլինով մշակելուց կամ ճառագայթումից հետո *in vitro*: Սպոնտան գեփերը հազվադեպ են հանդիպում, նրանց կարելի է հայտնաբերել՝ վերլուծելով 10.000 բջիջ: Այնուամենայնիվ, դրանք խիստ հետաքրքիր են, քանի որ կարևոր նշանակություն ունեն էվոլյուցիայում և քաղցկեղի ու կլինիկական այլ դեպքերում դիտվող քրոմոսոմային վնասվածքների առաջացման համար:

Ըստ հանդիպման հաճախականության՝ տարբերում են հաճախ և հազվադեպ հանդիպող ֆրագիլ սայթեր: Հազվադեպ հանդիպող ֆրագիլ սայթերը (≤5 % պոպուլյացիայի) մակածվում են միայն բրոմդեզօքսիուրիդինով (CG-հարուստ սայթեր) և ֆոլաթթվով (AT-հարուստ սայթեր): Հաճախ հանդիպող ֆրագիլ սայթեր կարելի է մակածել աֆիդիկոլինի, 5-ազացիտիդինի և դիստամիցին-A-ի միջոցով: Ֆրագիլ սայթերի անվանակարգման ժամանակ գրվում է FRA, որից հետո՝ քրոմոսոմի համարը և անվանակարգման մեջ դիրքը որոշող տառը, օրինակ՝ FRA1A: Մարդու քրոմոսոմներում նկարագրվել է 125 ֆրագիլ սայթ, որտեղ գենետիկական անկայունությունը հանգեցնում է օնկոգենների և օնկոսուպրեսորների էքսպրեսիայի խաթարման օնկոգենեզի ինիցիացիայի նախնական փուլում: Քաղցկեղին բնորոշ գենոմային լոկուսներում տրանսլոկացիաները, դելեցիաները և ներքրոմոսոմային վերախմբավորումներն առաջանում են, երբ բջիջները *in vitro* պայմաններում մշակվում են ֆրագիլ սայթեր մակածող գործոններով: Այս սայթերում տեղի են ունենում նաև գենոմային անկայունությանը նպաստող էպիգենետիկական փոփոխություններ՝ հիստոնների հիպոացետիլացում և մեթիլացում: Օրինակ՝ FRA16D ֆրագիլ սայթում գտնվող *WWOX* օնկոսուպրեսորի մեթիլացումը կորելացվում է կրծքագեղձի, շագանակագեղձի և ձվարանների քաղցկեղների զարգացման հետ: Ֆրագիլ սայթերում տեղակայված են

ևան միկրոՌՆԹ-ներ կոդավորող գեներ, որոնք մասնակցում են բջիջների մահվան և մետաբոլիզմի կարգավորմանը (օրինակ՝ miR-218-1 և miR-218-2): Ֆրագիլ սայթերում գտնվում է 4921 սպիտակուց կոդավորող և 917 միկրոՌՆԹ կոդավորող գեն: Սպիտակուց կոդավորող գեներից 3669-ը կապված են տարբեր հիվանդությունների զարգացման հետ: Առավել շատ ֆրագիլ սայթեր գտնվում են #1 (13), #2 (13) և #7 (11) քրոմոսոմներում, ֆրագիլ սայթերում առավել մեծ թվով գեներ (1091) և միկրոՌՆԹ-ներ (193) տեղակայված են #19 քրոմոսոմում:

6. Պրենատալ բջջագենետիկական ախտորոշում

Համաձայն 1980-ական թվականների տվյալների՝ պտղի համար ինվազիվ պրենատալ ախտորոշման ժամանակ պտուղը կորցնելու ռիսկը կազմում էր 0.3-0.5 %: Հիմնվելով այս տվյալների վրա՝ սահմանվեց «մայրական տարիքային ռիսկ» հասկացությունը, որի համաձայն՝ ինվազիվ պրենատալ ախտորոշման հետևանքով երեխային կորցնելու հավանականությունն ավելի ցածր է, քան 21-րդ քրոմոսոմի տրիսոմիայով երեխա ունենալը: Ուստի 35 տարեկանից բարձր կանանց ցուցված էր ինվազիվ պրենատալ հետազոտությունը: Ներկայումս, ինվազիվ պրենատալ ախտորոշմամբ պայմանավորված, պտղի համար ռիսկը կազմում է 0.03-0.05%, երբեմն նույնիսկ պնդում են, որ այսօր իրական ռիսկ գոյություն չունի: Այնուամենայնիվ, 35-ից բարձր տարիքի կանայք դեռևս համարվում են մայրանալու համար բարձր տարիք ունեցողներ, ինչը, իհարկե, հնացած պատկերացում է:

Հարկ է նշել, որ մոր հղիանալու տարիքին զուգընթաց բարձրանում է նաև անէուպլոիդիայի առաջացման ռիսկը պտղի մոտ, հատկապես, եթե նախկինում գրանցվել է անէուպլոիդիայով ծնունդ կամ ծնողներից մեկը հավասարակշռված Ռոբերթսոնյան տրանսլոկացիայի կրող է: 21-րդ քրոմոսոմի տրիսոմիայով (Դաունի համախտանիշ) երեխայի ծնվելու ռիսկը ծննդաբերող մոր տարբեր տարիքային խմբերում կազմում է (տե՛ս աղյուսակը).

Ծննդաբերող մոր տարիքը	#21 քրոմոսոմի տրիսոմիայի ռիսկը	Քրոմոսոմային այլ խանգարումների ռիսկը
20	1:1480	1:525
25	1:1340	1:475
30	1:940	1:384
35	1:353	1:178
40	1:85	1:62
45	1:35	1:18

Carlson L. and Vora N. Obstet Gynecol Clin North Am. 2017;44(2):245-256.

Ներկայումս մշակվել են նաև ոչ ինվազիվ թեստեր, որոնք թույլ են տալիս կանխատեսել ռիսկերը և բացարձակապես ոչ մի վտանգ չեն ներկայացնում պտղի համար: Հարկ է նշել, որ ոչ ինվազիվ թեստավոր-

ման ժամանակ պտղին վնաս չի հասցվում, կամ պտղից ուղղակիորեն ասեղով նմուշ չի վերցվում: Հղի կնոջից արյուն վերցնելը չի համարվում «ինվազիվ»:

Պրենատալ բջջագենետիկական ախտորոշման ցուցումներն են.

- մոր բարձր տարիքը (>35-ից),
- առաջին եռամսյակում կենսաքիմիական և սոնոգրաֆիկ շեղումներ,
- եռակի կամ բազմակի մարկերների ցուցանիշների շեղումներ,
- հոգեբանական պատճառներ,
- քրոմոսոմային աբեռացիաներով նախկին հղիություն,
- դրական ընտանեկան անամնեզ (օրինակ՝ Դաունի համախտանիշ):

6.1. Ինվազիվ թեստեր

+ *Խորիոնային թավիկների բիոպսիա*

- Իրականացվում է 9-12 շաբաթական հղիության ժամանակահատվածում:
- Բիոպսիան իրականացվում է սոնոգրաֆիայի միջոցով վերահսկողության պայմաններում (նմուշառվում է ~15 մգ հյուսվածք):
- 16-32 բջջային փուլում սաղմը ձևավորվում է միայն մեկ բջջից, իսկ մնացած բջիջներից առաջանում է ամնիոնն ու տրոֆոբլաստների շերտը (= ընկերքը, ներառյալ խորիոնային թավիկները): Ուստի մոզաիկության ժամանակ, որը հայտնաբերվում է 2 % դեպքերում, սաղմն ու ընկերքի բջիջներն ունենում են տարբեր գենոտիպեր:
- Խորիոնային թավիկների բիոպսիայից հետո քրոմոսոմային պատրաստուկներ կարելի է ստանալ առանց բջիջները կուլտիվացնելու, արդյունքները պատրաստ են լինում մեկ օրից: Այսպիսի նմուշներում քրոմոսոմները կարճ են, և կառուցվածքային վնասվածքները կարող են բաց թողնվել:
- Ավելի բարձր որակ ունեցող քրոմոսոմային պատրաստուկներ ստանալու նպատակով բիոպսիայի միջոցով ստացված բջիջները կուլտիվացվում են 2-3 շաբաթ:

+ ***Ամնիոցենտեզ***

- Ամնիոցենտեզն իրականացվում է 14-20 շաբաթական հղիության ընթացքում:
- Ամնիոտիկ հեղուկը (~17մլ) ներմուծվում է սոնոգրաֆիայի միջոցով վերահսկողության պայմաններում:
- Ամնիոտիկ հեղուկը պարունակում է պտղի միզապարկի, մաշկի և աղիների բջիջներ:
- Քրոմոսոմային պատրաստուկներ կարելի է ստանալ նվազագույնը 2 շաբաթ կուլտիվացումից հետո:
- Այսպիսով՝ մոլեկուլային բջջագենետիկական կամ մոլեկուլային գենետիկական վերլուծության հիման վրա կատարվում է հավելյալ ախտորոշում՝ #13, #18, #21, X և Y քրոմոսոմների անէուպլոիդիաները բացառելու համար:

+ ***Կորդոցենտեզ***

- Կորդոցենտեզ (պտղի պորտալարից արյան ներմուծում) կարելի է իրականացնել հղիության 20-րդ շաբաթից հետո:
- Սոնոգրաֆիայի միջոցով վերահսկողության պայմաններում պտղի պորտալարից վերցվում է 2մլ արյուն:
- Քրոմոսոմային պատրաստուկները ստացվում են նորմալ լիմֆոցիտների կուլտուրայից 3 օր անց (Գլուխ 5.1.):
- Որպես կանոն, կորդոցենտեզն իրականացվում է պտղի մոտ հավանական գենետիկական խաթարումների առկայության բարձր ռիսկի դեպքում:

6.2. Ոչ ինվազիվ թեստեր

+ ***Սոնոգրաֆիա***

Պտղի զարգացման վերաբերյալ տեղեկատվության հիմնական մասը ստացվում է ուլտրաձայնային հետազոտության հիման վրա: Գերմանիայում սոնոգրաֆիայի երեք հետազոտությունները ստանդարտ պրենատալ թեստերի մի մասն են:

+ ***Առաջին եռամսյակային թեստավորում***

Առաջին եռամսյակում սոնոգրաֆիային զուգահեռ իրականացվում է նաև մայրական արյան կենսաքիմիական հետազոտություն (ß-HCG և

PAPP-A) և մոր տարիքային ռիսկի գնահատում: Պտղի զարգացման անոմալիաների 95 % դեպքերը կարելի է հայտնաբերել այս մոտեցմամբ:

+ ***Եռակի թեստ (նաև՝ Քեքևրհնգի թեստ)*** իրականացվում է հղիության երկրորդ եռամսյակում, սակայն օժտված է ավելի պակաս կանխորոշիչ հատկությամբ: Այս թեստերը հիմնված են մոր արյան մեջ ալֆա-ֆետոպրոտեինի (արտադրվում է սաղմի լյարդում), մարդու խորիոնային գոնադոտրոպինի (արտադրվում է ընկերքի բջիջների կողմից) և էստրիոլի (արտադրվում է ընկերքի բջիջների կողմից) քանակների գնահատման վրա: Երբեմն որպես օժանդակ թեստ կիրառվում է նաև ինհիբին A-ի մակարդակի գնահատման թեստը: Եռակի թեստի կեղծ-դրական արդյունքների հավանականությունը կազմում է 5 %: Դրական պատասխանը վկայում է պտղի մոտ քրոմոսոմային խաթարման (օրինակ՝ Դաունի համախտանիշ) առկայության բարձր ռիսկի մասին:

+ ***Մայրական արյան մեջ պարունակվող կորիզավոր էրիթրոցիտները*** բացառապես առաջանում են պտղից հղիության ընթացքում: Այս բջիջները ոչ ինվազիվ պրենատալ ախտորոշման համար արժեքավոր կենսաբանական նյութ են, սակայն դրանց քանակը խիստ ցածր է (~5-10 բջիջ՝ 20 մլ արյան մեջ), և ներկայումս բացակայում են այս բջիջների անջատման արդյունավետ մեթոդներ: Շրջանառվող կորիզավոր էրիթրոցիտներն առավել հաճախ հանդիպում են հղիության առաջին և երկրորդ եռամսյակների ընթացքում՝ ընկերքի անոթներում, որոնց թիվը նվազում է հղիության վերջին ամիսների ընթացքում: Ցույց է տրվել, որ մոր մոտ դիաբետի առկայության դեպքում բարձրանում է շրջանառվող կորիզավոր էրիթրոցիտների քանակը, ինչը պայմանավորված է հիպերինսուլինեմիայի հեմոպոետիկ ազդեցությամբ: Հետաքրքիր է, որ պտղի մոտ հիպօքսիայի դեպքում բարձրանում է մոր արյան մեջ կորիզավոր էրիթրոցիտների քանակը, որի պատճառը, սակայն դեռևս չի բացահայտվել:

+ ***Պտղի ազատ ԴՆԹ-ն*** մայրական արյան մեջ գլխավորապես ուսումնասիրվում է հաջորդ սերնդի սեքվենավորման միջոցով և լայնորեն կիրառվում է պրենատալ ախտորոշման նպատակով: Այս մոտեցման առավելությունն այն է, որ հղիության վաղ փուլերում (7-10 շաբաթ) մոր արյան մեջ կարելի է հայտնաբերել պտղի ազատ ԴՆԹ-ն (~200 նգ երկարությամբ), որն առաջանում է տրոֆոբլաստներից: Այն կիրառվում

է #13, #18 և #21 քրոմոսոմների տրիսոմիաների հայտնաբերման և պտղի սեռի որոշման նպատակով: Կարելի է հայտնաբերել նաև միկրոդելեցիաներն ու կետային մուտացիաները: Արդյունավետությունը տարբեր հիվանդությունների դեպքում կարող է տարբերվել:

Հիմնական թերություններ

1. Քանի որ ազատ ԴՆԹ-ն առաջանում է ընկերքի տրոֆոբլաստներից, 2 % դեպքերում հայտնաբերվում է նորմալ կարիոտիպ ընկերքի բջիջներում, սակայն պտղի մոտ առկա է լինում տրիսոմիա, կամ ընկերքի բջիջներում հայտնաբերվում է տրիսոմիա, որը բացակայում է պտղի մոտ (Գլուխ 6.1.):

2. Սինչև 6 % դեպքերում անհնարին է լինում իրականացնել ոչ ինվազիվ պրենատալ ախտորոշում մոր արյան մեջ ընկերքային կամ պտղի ազատ ԴՆԹ ցածր քանակի պատճառով: Ճարպակալմամբ տառապող մայրերի դեպքում այս ցուցանիշը կարող է հասնել մինչև 10 %-ի: Թեստը տևում է 1-2 շաբաթ, և արդյունքների բացակայության դեպքում առաջարկվում է թեստի անվճար կրկնում, որը նույնպես տևում է 1-2 շաբաթ: Կրկին տվյալների բացակայության դեպքում հիվանդը կորցնում է 4 շաբաթ:

3. Ոչ ինվազիվ թեստեր իրականացնողները հաճախ շահարկում են ինվազիվ թեստերի ռիսկերը՝ հին տվյալների մեջբերմամբ:

4. Ոչ ինվազիվ թեստերի համար վճարում է դիմողը. Կենտրոնական Եվրոպայում արժեքը կազմում է 250 €, Հարավային Եվրոպայում և Ամերիկայում՝ 600 € կամ ավելի:

6.3. Արտամարմնային բեղմնավորում. իրավական կարգավորումները

Առողջապահության համաշխարհային կազմակերպության սահմանմամբ անպտղությունը զույգի երեխա ունենալու անկարողությունն է 12 ամիս չպաշտպանված սեռական հարաբերություններ ունենալու պայմաններում: Հիվանդության բուժման նպատակով կիրառվում են օժանդակ վերարտադրողականության մեթոդներ՝ in vitro բեղմնավորում (անգլերեն՝ in vitro fertilization – IVF) կամ ICSI (սպերմատոզոիդի ներցիտոպլազմային ներարկում): IVF իրականացման նպատակով սպերմատոզոիդները տեղադրվում են ձվաբջջի հետ միևնույն սննդամիջա-

վայրում՝ Պետրիի թասիկի մեջ, որտեղ սպերմատոզոիդը բեղմնավորում է ձվաբջիջը: Այս մեթոդն առավել հաճախ կիրառվում է ֆալոպիան փողերի անանցանելիությամբ պայմանավորված իգական անպտղության բուժման նպատակով: ICSI իրականացման ժամանակ սպերմատոզոիդը միկրոասեղի միջոցով ներարկվում է in vitro պայմաններում գտնվող ձվաբջջի մեջ: ICSI-ն առավել հաճախ կիրառվում է արական անպտղության բուժման համար, երբ սպերմայի ցուցանիշները նորմայի սահմաններից ցածր են:

Անպտղության, ինչպես նաև ընտանիքում ժառանգական հիվանդության առկայության դեպքում զույգին խորհուրդ է տրվում իրականացնել նախաիմպլանտացիոն գենետիկական ախտորոշում (անգլերեն՝ preimplantation genetic diagnosis – PGD): Օժանդակ վերարտադրողականության միջոցով բեղմնավորումից հետո, որն առավել հաճախ կատարվում է ICSI-ի ճանապարհով, PGD-ն կարելի է կատարել էմբրիոնի տոտիպոտենտ մեկ բջջում կամ IVF-ի իրականացումից առաջ՝ բևեռային մարմնիկի մակարդակում:

PGD-ն և պրենատալ ախտորոշման իրավական խնդիրները յուրաքանչյուր երկրում կարգավորվում են համապատասխան օրենքներով: Օրինակ՝ Բրազիլիայում արգելվում են ինվազիվ պրենատալ ախտորոշումն ու հղիության բժշկական ընդհատումը, սակայն PGD-ն կարելի է իրականացնել: Գերմանիայում PGD-ն և պրենատալ ախտորոշումը կարգավորվում են օրենքի միջոցով, հղիության բժշկական ընդհատումը կարգավորում է §218 հոդվածով, որին զուգահեռ գործում է պտղի պաշտպանման օրենքը: §218 հոդվածը թույլ է տալիս հղիության բժշկական ընդհատում մինչև 12 շաբաթական հղիության դեպքում հղի կնոջ դիմումի և որակավորված բժշկական հաստատությունում խորհրդատվության անցկացման վերաբերյալ գրավոր փաստաթղթի հիման վրա: Հղիության բժշկական ընդհատում մինչև 22 շաբաթական հղիության դեպքում կարելի է իրականացնել, եթե հղիությունը սպառնում է կնոջ առողջությանը, առաջացել է հանցանքի հետևանքով, կամ պրենատալ ախտորոշման արդյունքում պտղի մոտ բացահայտվել են քրոմոսոմային խաթարումներ:

Հայաստանում հղիության բժշկական ընդհատման վերաբերյալ օրենքն ընդունվել է 1955 թ., որի համաձայն՝ հղիությունը կարելի է ընդհատել մինչև 12 շաբաթական փուլում, հատուկ դեպքերում՝ 12-22 շաբաթական փուլում: 2016 թվականից Հայաստանում գործում է սեռի հիման

վրա կամ ընտրողական հղիության ընդհատումն արգելող օրենքը, որը կանխում է տարեկան մոտ 1400 իգական սեռի սաղմերի ընտրողական ոչնչացումը:

Գերմանիայում բոլոր տեսակի գենետիկական ախտորոշումները կարգավորվում են «գենետիկական ախտորոշման օրենքով»: Այս օրենքի համաձայն՝

- գենետիկական ախտորոշում չի կարող իրականացվել առանց հիվանդի գրավոր համաձայնության, որը պետք է առկա լինի թեստավորումն իրականացնող լաբորատորիայում,
- միայն պատասխանատու բժիշկն է իրավասու տրամադրել հիվանդին գենետիկական թեստավորման արդյունքները,
- հիվանդից ձմուշառված կենսաբանական նյութը պետք է ոչնչացվի ախտորոշումից հետո,
- հիվանդի վերաբերյալ տեղեկությունները պետք է պահվեն մինչև 10 տարի, որից հետո ոչնչացվում են,
- արգելվում է առաջարկել պրենատալ ախտորոշում ուշ դրսևորվող հիվանդությունների դեպքում:

6.4. Հղիության ինքնաբերական ընդհատում

Հղիության ինքնաբերական ընդհատումը կամ վիժումը հաճախ հանդիպող երևույթ է (15-30 %): Վիժումների մեծ մասը (~80 %) առաջանում են վաղաժամ և հաճախ մինչ հղիության հաստատվելը:

Անէուպլոիդիաները հայտնաբերվում են բեղմնավորման վաղ փուլերում 30 %, իսկ առաջին եռամսյակում 10 % սաղմերի մոտ, և 0.6 % նորածինների մոտ: Չվաբջիջների 20 %-ում և սպերմատոզոիդների 10 %-ում նույնպես հայտնաբերվում են անէուպլոիդիաներ:

Անէուպլոիդիաները կարող են պայմանավորված լինել մարդու 24 քրոմոսոմներից յուրաքանչյուրով: Սակայն գեներով հարուստ քրոմոսոմների, ինչպիսիք են՝ #1 և #19 քրոմոսոմները, անէուպլոիդիաները խիստ հազվադեպ են և/կամ հանգեցնում են վիժումների՝ սաղմի զարգացման մի քանի բջջային փուլում:

Հարկավոր է հիշել, որ սակավաթիվ գեներով քրոմոսոմների և սեռական քրոմոսոմների տրիսոմիաները և X քրոմոսոմի մոնոսոմիան կենսունակ են: Սակայն այս էմբրիոնների մի մասը (օրինակ՝ տրիսոմիա 21) նույնպես հեռացվում են վիժումների տեսքով:

Թեև վիժումների պատճառ կարող են հանդիսանալ սաղմի և ընկերքի իմունոլոգիական և կառուցվածքային խաթարումները, այնուամենայնիվ գենետիկական պատճառները գերակշռողն են:

Վիժումների 2-5 %-ը կրկնվող են (ավելի քան 3 վիժում մեկ զույգի մոտ մինչև հղիության 20-րդ շաբաթը): Այս դեպքում հաջորդ հղիության ընթացքում վիժման կրկնվելու ռիսկն ավելի բարձր է: Առաջին հղիության վիժումից հետո երկրորդ վիժման ռիսկը կազմում է 15 %, երկրորդ և երրորդ վիժումներից հետո ռիսկը կազմում է համապատասխանաբար 25 % և 30-45 %: Կրկնվող վիժումների դեպքում զույգից որևիցե մեկի մոտ վիժման պատճառ հանդիսացող քրոմոսոմային խաթարման (օրինակ՝ տրանսլոկացիա) առկայության հավանականությունը կազմում է 3-8 %, ինչը 6 անգամ ավելի բարձր է՝ համեմատած նորմալ պոպուլյացիայի հետ:

Հղիության վաղ փուլերում վիժման ժամանակ սաղմի հյուսվածքներում հայտնաբերվում են տարատեսակ քրոմոսոմային խաթարումներ, մինչդեռ ուշ փուլերի վիժումները գլխավորապես պայմանավորված են լինում #13, #18 և #21 քրոմոսոմների տրիսոմիաներով: Պտղի մոտ սրտի զարկերի առաջացումից հետո անէուպլոիդիայի ռիսկը կազմում է <5 %: Հայտնի է, որ քրոմոսոմների տարամիտման խաթարումներն առավել հազվադեպ են արական գամետներում, սակայն XXY և XYY սեռական քրոմոսոմների տրիսոմիաների հիմնական մասը պայմանավորված են հայրական գամետներում տարամիտման խաթարմամբ: Կրկնվող վիժումներով զույգերի մոտ սեռական քրոմոսոմների դիսոմիայով սպերմատոզոիդներն առավել հաճախ են հանդիպում՝ համեմատած ստուգիչ խմբի հետ: Սեռական և #18 ու #21 քրոմոսոմների դիսոմիայով սպերմատոզոիդներ առավել հաճախ հանդիպում են օլիգոասթենոտեռատոզոոսպերմիայով տառապող հիվանդների մոտ՝ համեմատած նորմոզոոսպերմիայով տղամարդկանց հետ:

Կրկնվող վիժումների հաճախականությունն ավելի բարձր է մոտ ազգակցական ամուսնությունների դեպքում: Ցույց է տրվել դրական կորելյացիա կրկնվող վիժումների դեպքում հավասարակշռված քրոմոսոմային խաթարումների հաճախականության և մոտ ազգակցական ամուսնությունների միջև:

7. Պոստնատալ բջջագենետիկական ախտորոշում

7.1. Բջջագենետիկական թեստավորման ցուցումները և ուսումնասիրվող նմուշները

Պոստնատալ բջջագենետիկական ախտորոշումն իրականացվում է ծայրամասային արյան (Գլուխ 5.1.), մաշկի ֆիբրոբլաստների կամ վիրահատական այլ նմուշների կիրառմամբ:

Ցուցումներ քրոմոսոմների ուսումնասիրման համար.
ևորածինների և երեխաների մոտ՝

- պրենատալ և պոստնատալ աճի խաթարումներ,
- մտավոր հետամնացություն,
- բազմակի (ևվազագույնը՝ 3) դիսմորֆիզմներ,

դեռահասների և հասուն անհատների մոտ՝

- երկրորդային սեռական հատկանիշների բացակայություն,
- անպտղություն,
- կրկնվող սպոնտան վիժումներ,
- չարորակ հիվանդություններ:

7.2. Քրոմոսոմային աբեռացիաների տեսակները

Կառուցվածքային աբեռացիաներ

(Ենթա)քրոմոսոմային խաթարումները կարող են պայմանավորված լինել տարբեր կառուցվածքային փոփոխություններով:

Տարբերում են հավասարակշռված և չհավասարակշռված քրոմոսոմային աբեռացիաներ:

Հավասարակշռված աբեռացիաներ

+ Ինվերսիաները (պերիցենտրիկ կամ պարացենտրիկ) [հաճախականությունը՝ 1.3:10.000]: Մեյոզի ժամանակ կարող է առաջանալ ինվերսիոն օղակ, որի հետևանքով էլ՝ դելեցիաներ և դուպլիկացիաներ: Մարդկանց մոտ առավել հաճախ հանդիպում է պերիցենտրիկ ինվերսիա՝ inv(9)(p12q13), որը, որպես կանոն, չի ունենում ֆենոտիպային դրսևորում: Տարբեր էթնիկական խմբերում կատարված պրենատալ հետազոտությունների արդյունքում բացահայտվել է, որ 9-րդ քրոմոսոմի ինվեր-

սիան սնամորթների մոտ հանդիպում է 3.57 %, լատինական ազգությունների մոտ՝ 2.42 %, սպիտակամորթների մոտ՝ 0.73 %, ասիական ազգերի մոտ՝ 0.26 % հաճախականությամբ: Հետաքրքիր է, որ իգական սեռի սաղմերում հանդիպման հաճախականությունը 7 անգամ ավելի բարձր է, քան արական սեռի մոտ: Ցույց է տրվել, որ 9-րդ քրոմոսոմի պերիցենտրիկ ինվերսիան կարող է հանդիսանալ առաջնային անպտղության պատճառ:

+ Ինսերցիաներ (ներքրոմոսոմային կամ միջքրոմոսոմային) [հաճախականությունը՝ որոշված չէ]: Ներքրոմոսոմային ինսերցիաները խիստ հազվադեպ են հանդիպում և ներկայումս նկարագրվել են միայն 30 ընտանիքներում: Ներքրոմոսոմային ինսերցիաները լինում են պարացենտրիկ (նույն քրոմոսոմային ուսում) և պերիցենտրիկ (նույն քրոմոսոմի մյուս ուսում): Կախված ցենտրոմերի նկատմամբ դիրքից՝ ինսերցիաները կարող են լինել ուղիղ կամ հակադարձ: Միջքրոմոսոմային ինսերցիաները պատկանում են բարդ քրոմոսոմային խաթարումների շարքին, քանի որ առաջանում են երկու և ավելի քրոմոսոմային վնասվածքներ: Հավասարակշռված խաթարման դեպքում կրողի մոտ կլինիկական խնդիրներ չեն առաջանում, սակայն մեյոզի ժամանակ նորմալ քույր քրոմատիդի հետ քրոսինգօվերի հետևանքով կարող են առաջանալ դուպլիկացիաներ կամ դելեցիաներ: Ինսերցիաները կարող են ունենալ բացասական ազդեցություն, քանի որ առաջացնում են կողոնի ընթերցման շրջանակի խաթարում:

+ Տրանսլոկացիաներ (ներառյալ Ռոբերթսոնյան տրանսլոկացիաները) [հաճախականությունը՝ 1:700]: Որպես կանոն, հավասարակշռված տրանսլոկացիաները չեն ունենում ֆենոտիպային դրսևորում կրողի մոտ, սակայն սերնդի մոտ կարող են առաջանալ չհավասարակշռված քրոմոսոմային խաթարումներ՝ 2:2, 3:1 կամ 4:0 բաշխմամբ: Բացահայտվել է, որ անպտղության ռիսկը հավաստիորեն ավելի բարձր է Ռոբերթսոնյան տրանսլոկացիա կրող զույգերի մոտ՝ համեմատած ստուգիչ խմբի հետ:

Բոլոր հավասարակշռված քրոմոսոմային աբեռացիաները կարող են հանգեցնել սերնդի մոտ միածնողական դիսոմիայի (Գլուխ 4.2.2.c): Քանի որ նշված բոլոր հավասարակշռված քրոմոսոմային խաթարումների ժամանակ ԴՆԹ-ում առաջանում են խզումներ, դրա հետևանքով կարող է խախտվել գենի ամբողջականությունը, ինչը հաճախ դիտվում է քաղցկեղի ժամանակ:

Չհավասարակշռված աբեռացիաներ

+ Դելեցիաներ (տերմինալ կամ ինտերստիցիալ) [հաճախականությունը՝ 1:10.000]: Հայտնի են ~200 միկրոդելեցիաների համախտանիշներ (*) (Գլուխ 11): Առավել հաճախ հանդիպում են 4p (Վոլֆ-Հիրշհորնի համախտանիշ), 5p (Cri-du-chat – կատվի մլավոց համախտանիշ) դելեցիաների, ինչպես նաև Պրադեր-Վիլլիի և Անգելմանի համախտանիշները: Հետաքրքիր խումբ են կազմում սուբթելոմերային լոկուսներում առաջացող (միկրո)դելեցիաները, որոնք, որպես կանոն, հանգեցնում են մտավոր հետամնացության և բնածին արատների զարգացման:

+ Դուպլիկացիաներ (ուղիղ կամ տանդեմային և հետադարձ) [հաճախականությունը՝ 1:25.000]: Հայտնի են ~80 միկրոդուպլիկացիաների համախտանիշներ (*) (Գլուխ 11): Դուպլիկացված հատվածը կարող է տեղակայվել ելային հաջորդականությանը կից, ինչպես նաև տվյալ քրոմոսոմի կամ մեկ այլ քրոմոսոմի որևիցե հատվածում: Դուպլիկացիաները մոլեկուլային էվոլյուցիայի ընթացքում նոր գեների առաջացման հիմնական ճանապարհն են: Հետաքրքիր է, որ սերունդների ընթացքում դուպլիկացված գեները կուտակում են ավելի մեծ թվով մուտացիաներ՝ համեմատած մեկ օրինակով ներկայացված գեների հետ, ինչի արդյունքում տեղի է ունենում նեոֆունկցիոնալիզացում (նոր ֆունկցիայի ձեռքբերում): Դրա օրինակ է Անտարկտիդայում տարածված ձկների մոտ հակասառցային հատկանիշի ձեռքբերումը սիալաթթվային սինթազ գենի դուպլիկացիայի և մուտացիայի արդյունքում:

+ Օղակաձև քրոմոսոմներ [հաճախականությունը՝ որոշված չէ, խիստ հազվադեպ են]: Առաջանում են քրոմոսոմի ծայրերի վնասվելու և հետագայում միաձուլվելու արդյունքում: Առավել հաճախ օղակաձև քրոմոսոմներ դիտվում են ճառագայթման արդյունքում, սակայն կարող են առաջանալ նաև սպոնտան ճանապարհով: Օղակաձև քրոմոսոմներ նկարագրվել են բոլոր քրոմոսոմների դեպքում, անկայուն խաթարումներ են, որոնք կարող են լինել ժառանգական կամ սպորադիկ (de novo): Սերնդի մոտ կարող են դիտվել մտավոր հետամնացություն, կարճահասակություն, միկրոցեֆալիա, վարքագծի խնդիրներ: Ախտանիշների սրությունը կախված է նաև մոզաիկության աստիճանից:

+ Փոքր-երկրորդային մարկեր քրոմոսոմներ [հաճախականությունը՝ 3:10.000]: Հավելյալ քրոմոսոմներ են, որոնք կարող են առաջանալ ցանկացած քրոմոսոմից: Ներկայումս փոքր-երկրորդային մարկեր քրոմոսոմները հայտնաբերված են 3 մլն մարդկանց մոտ, որոնցից 30 %-ի

մոտ հանդիպում են քրոմոսոմային խաթարումներ: Գրեթե 70 % դեպքերում մարկեր քրոմոսոմները de novo մուտացիաներ են, 20 % դեպքերում ժառանգվում են մորից, իսկ 10 % դեպքերում՝ հորից: Մարկեր քրոմոսոմներ հայտնաբերվում են կատվի աչք համախտանիշի, Էմանուելի, Պալիստեր-Կիլիանի, Տերների և այլ համախտանիշների ժամանակ: Մարկեր քրոմոսոմների ~86 %-ն առաջանում է ակրոցենտրիկ քրոմոսոմներից:

+ Իզոքրոմոսոմներ [հաճախականությունը՝ որոշված չէ, խիստ հազվադեպ են] (*): Իզոքրոմոսոմները կազմված են միմյանց հայելային արտապատկերը հանդիսացող քրոմոսոմային ուսերից: Տերների համախտանիշի 15 % դեպքերում հիվանդությունն առաջանում է X իզոքրոմոսոմի ձևավորման արդյունքում, որը կազմված է լինում երկու *q* ուսերից:

* Այս աբեռացիաները կարող են առաջանալ նաև չհավասարակշռված տրանսլոկացիաների, ինսերցիաների և ինվերսիաների արդյունքում:

Չհավասարակշռված քրոմոսոմային աբեռացիաների բացասական ազդեցությունները կարող են պայմանավորված լինել.

1. դոզայի էֆեկտով (օրինակ՝ X քրոմոսոմի վրա աուտոսոմային քրոմոսոմի հատվածի տրանսլոկացիան և ընտրողական ինակտիվացումը, ինչպես նաև 1q12 լոկուսի տրանսլոկացիան այլ քրոմոսոմի վրա, ինչը հանգեցնում է հետերոքրոմատինիզացման),
2. գենի ամբողջականության խաթարմամբ (խզումներ),
3. իմփրինթինգով,
4. գենի դիրքի էֆեկտով, որն առաջանում է փոփոխված գենետիկական միջավայրի ազդեցությամբ (օրինակ՝ Ֆիլադելֆյան քրոմոսոմը):

Քանակական աբեռացիաներ

<u>Անէուպլոիդիայի</u> տեսակներն են.

<u>Նուլիսոմիա</u> (քրոմոսոմային զույգի բացակայություն, մարդկանց մոտ առաջացնում է բջջի մահ):

<u>Մոնոսոմիա</u> (քրոմոսոմի կորուստ, օրինակ՝ Տերների համախտանիշը):

<u>Տրիսոմիա</u> (քրոմոսոմային զույգի փոխարեն առկա է երեք քրոմոսոմ):

Էուպլոիդիայի տեսակներն են.

Մոնոպլոիդիա

(մարդու մոտ՝ սպերմատոզոիդներն ու ձվաբջիջները, բնության մեջ՝ արու կրետները),

Դիպլոիդիա

(մարդու մոտ՝ նորմալ սոմատիկ բջիջներ),

Պոլիպլոիդիա

(3n, 4n, և այլն – ուռուցքային բջիջներ):

Անէուպլոիդիաներ հանդիպում են նորածինների 0.6 %-ի մոտ: Առավել հաճախ հավելյալ քրոմոսոմն ունենում է մայրական ծագում (տե՛ս աղյուսակը):

Քրոմոսոմային աբեռացիա	Հայրական ծագում [%]	Մայրական ծագում [%]
տրիսոմիա 13	15	85
տրիսոմիա 18	5	95
տրիսոմիա 21	10	90
45,X	80	20
47,XXX	5	95
47,XXY	45	55
47,XYY	100	0

Անէուպլոիդիաների ժամանակ հավելյալ կամ բացակայող քրոմոսոմի ծնողական ծագումը:

7.3. Անէուպլոիդիայով պայմանավորված համախտանիշներ

X քրոմոսոմի մոնոսոմիա (Տերների համախտանիշ)

[Հաճախականությունը՝ 1:2.500]:

Տերների համախտանիշով տառապող հիվադներին բնորոշ են կարճահասակությունը, պարանոցի կողքային հատվածներում մաշկային ծալքերի առկայությունը, դաշտանային ցիկլի բացակայությունը, անպտղությունը: Հիվանդության քրոմոսոմային պատճառը բացահայտվել է 1959 թ. Չ. Ֆորդի կողմից: 45,X կարիոտիպով 98 % դեպքերում առաջանում է վաղ վիժում, ուստի ծնվածների մեծամասնության մոտ աբեռացիան առաջանում է հետզիգոտային փուլում, և նրանք մոզաիկներ են՝ կրելով նաև նորմալ կարիոտիպով բջիջներ: Եթե Տերների համախտանիշով տառապող կնոջ գոնադներում 46,XX կարիոտիպով բջջային

պոպուլյացիան կազմում է մեծամասնություն, այդպիսի կանայք կարող են լինել ֆերտիլ: Տերների համախտանիշի 6 % դեպքերում սաղմը ի սկզբանե կրում է 46,XY կարիոտիպ: Այդպիսի հիվանդների 20 %-ի մոտ գոնադային հյուսվածքում կարող է առաջանալ գոնադոբլաստոմա (գոնադային բջիջներից կազմված նորագոյացություն): Քիչ են հանդիպում նաև արական Տերների համախտանիշով հիվանդներ՝ 45,X/46,XY մոզաիկ կարիոտիպով (խառը գոնադային դիսգենեզիա):

Տերների համախտանիշով հիվանդների մոտ հաճախ զարգանում են միջին ականջի ինֆեկցիաներ (քրոնիկ օտիտ), հատկապես վաղ տարիքում: Նկարագրվել են նաև սիրտանոթային և իմունային համակարգերի խաթարումներ:

Տերների համախտանիշով հիվանդների ~75-80 % դեպքերում նորմալ X քրոմոսոմն ունենում է մայրական ծագում, ընդ որում, X քրոմոսոմի ծնողական ծագումը կարող է ազդել վարքագծի և բուժման ելքի վրա: Հայրական ծագում ունեցող (45,Xpat) հիվանդները սոցիալապես ավելի լավ են հարմարված և ավելի հեշտությամբ են յուրացնում խոսքը, քան մայրական ծագում ունեցող (45,Xmat) հիվանդները: Դա թույլ է տալիս ենթադրել, որ X քրոմոսոմում տեղակայված է իմփրինթինգային տեղամաս, որտեղ գեների էքսպրեսիան տեղի է ունենում ծնողներից միայն մեկի X քրոմոսոմից: Սակայն իգական օրգանիզմում երկու X քրոմոսոմներից մեկի ինակտիվացումը տեղի է ունենում պատահական սկզբունքով, ինչն անհրաժեշտ է նկատի ունենալ իմփրինթինգային լոկուսի առկայությունը քննարկելիս:

Եռակի X-ի համախտանիշ («սուպերկին», 47,XXX)

[Հաճախականությունը՝ 1:1.000]:

Հաճախ այսպիսի կարիոտիպով կանայք չեն բացահայտվում ախտանիշների սակավության կամ բացակայության պատճառով: Սակայն 3-ից ավել X քրոմոսոմների առկայության դեպքում դիտվում է մտավոր հետամնացություն ակտիվ փսևդոաուտոսոմային տեղամասերի (Գլուխ 17) առկայության պատճառով:

Կլայնֆելտերի համախտանիշ (47,XXY)

[Հաճախականությունը՝ 1:700]:

47,XXY կարիոտիպով հիվանդների մոտ դիտվում է սոմատոմեգալիա (միջինում ~10 սմ-ով ավելի բարձրահասակ են ընտանիքի մյուս անդամներից), հիպոգոնադիզմ (թերզարգացած արտաքին սեռական օր-

գաններ), կանացի տիպի մազակալում, մարմնի ձև և ճարպի բաշխում, անպտղություն (ազոոսպերմիա):

Հիվանդության ախտորոշման դեպքում անհրաժեշտ է.

- (հետ)սեռական զարգացման ընթացքում հորմոնների փոխարինման թերապիա,
- օստեոպորոզի դեմ դեղամիջոցների օգտագործում,
- մինչև 30 տարեկան հասակը կատարել սերմնարանների բիոփսիա՝ նորմալ սպերմատոզոիդների բացահայտման և ICSI իրականացման համար, ուստի այս հիվանդները կարող են ունենալ երեխաներ:

21-րդ քրոմոսոմի տրիսոմիա (Դաունի համախտանիշ)

Առաջին անգամ նկարագրվել է բրիտանացի բժիշկ Ջոն Լենգդոն Դաունի կողմից (1828-1896 թթ.):

Պրենատալ կլինիկական ախտանիշներն են՝

– սաղմի օձիքային տարածության լայնացումը,
– քթի ոսկրերի ուշ զարգացումը,
– սրտի արատը:

Պոստնատալ կլինիկական ախտանիշներն են՝

–կլոր դեմքը և աչքերի էպիկանթալ հյուսվածքի առկայությունը,
–ափի սիմիան ծալքի առկայությունը,
–ոտքի 1-ին և 2-րդ մատների միջև լայն տարածության առկայությունը,
– հնարավոր է մանկական լեյկեմիան,
– Ալցհեյմերի հիվանդություն ~35 տարեկանում,
– կյանքի կարճ տևողությունը,
– IQ 25-50,
– արական անպտղությունը:

Ներկայումս ստանդարտ պրենատալ ախտորոշում իրականացնող երկրներում Դաունի համախտանիշով տառապող երեխաներ ծնվում են 5-10 % դեպքերում: 30-45 տարիքային խմբի կանանց մոտ 21-րդ քրոմոսոմի տրիսոմիայով երեխայի ծնվելու ռիսկը կտրուկ բարձրանում է համապատասխանաբար ~1 %-ից մինչև ~35 %: Հետագայում այդ ռիսկը գրեթե չի մեծանում և մնում է միևնույն մակարդակում: Ենթադրվում է, որ մայրական տարիքի էֆեկտի պատճառը մեյոզի փուլում օոցիտների եր-

կար ժամանակ գտնվելն է: Իգական սեռի սաղմում բջիջներն անցնում են 1-ին մեյոզը և տասնամյակներով պահպանվում այդ փուլում, մինչդեռ արական սեռի մոտ սպերմատոզոիդների մեյոզը տևում է ավելի կարճ (մինչ հասունացումը):

Տրիսոմիաներն ավելի հաճախ են հանդիպում արևմտյան երկրներում, որտեղ մայրանալու տարիքն աստիճանաբար շեղվում է 20-ական տարիքային խմբից դեպի 30-ական կամ նույնիսկ 40-ական խմբերը:

Բջջագենետիկորեն տարբերում են Դաունի համախտանիշի երեք տարբերակներ, որոնք կարելի է հայտնաբերել G-բենդավորման կամ մոլեկուլային բջջագենետիկայի մեթոդներով.

+ առավել հաճախ հանդիպում է ազատ 21-րդ քրոմոսոմի տրիսոմիան (դեպքերի 95 %), որն առաջանում է մեյոզի ընթացքում քրոմոսոմների տարամիտման խաթարման արդյունքում,

+ տրանսլոկացված 21-րդ քրոմոսոմի տրիսոմիան (դեպքերի 4%) (*),

+ և 21-րդ քրոմոսոմի տրիսոմիայի մոզաիկ տարբերակը (դեպքերի 1 %), որն առաջանում է միտոզի ընթացքում քրոմոսոմների տարամիտման խաթարման արդյունքում,

+ Նաև խիստ հազվադեպ հանդիպում են հիվանդներ, որոնց մոտ առկա է «Դաունի համախտանիշի համար անհրաժեշտ տեղամասի» դուպլիկացիա (21q22.2):

* Տրանսլոկացիոն տրիսոմիան առավել հաճախ առաջանում է Ռոբերթսոնյան տրանսլոկացիայի արդյունքում՝ t(14;21)(q10;q10), որն առավել հաճախ է հանդիպում: t(14;21) տրանսլոկացիան բարձրացնում է նաև 14-րդ քրոմոսոմի միածնողական դիսոմիայի հավանականությունը:

Խիստ հազվադեպ հանդիպում է նաև 45,XN,t(21;21)(q10;q10) կարիոտիպը, որի դեպքում կրողը կարող է ունենալ միայն Դաունի համախտանիշով հիվանդ երեխա: Սակայն մեկ ընտանիքում, որտեղ բացահայտվել է t(21;21)(q10;q10) տրանսլոկացիան, և գրանցվել են >10 վիժումներ, ծնվել է երեխա 46,XN կարիոտիպով սաղմի մոնոսոմիկ «փրկման» շնորհիվ: Սա կրկին ապացուցում է Սթիվեն Սփիլբերգի «*Jurassic Park*» ֆիլմից հայտնի արտահայտությունը. «Կյանքը միշտ գտնում է իր ելքը»…:

Տրիսոմիա 13 (Պատաուի համախտանիշ) և տրիսոմիա 18 (Էդվարդսի համախտանիշ)

Երկու համախտանիշների առաջին նկարագրությունը տրվել է 1960 թ.: Այս համախտանիշներով տառապող հիվանդների մոտ ախտանիշներն ավելի սուր են, քան 21-րդ քրոմոսոմի տրիսոմիայի դեպքում: Այս հիվանդները տառապում են գլխուղեղի և նյարդային համակարգի, տեսողական, լսողական, հոտառական, շնչառական, սիրտանոթային, մկանային և սեռական համակարգերի մի շարք խաթարումներով: Հիվանդների հիմնական մասի կյանքի տևողությունը կազմում է 10-14 օր, 18-20 %-ի մոտ՝ 3 ամիս, իսկ 8-10 %-ի մոտ՝ մինչև մեկ տարի կամ ավելի: Պատաուի և Էդվարդսի համախտանիշներով երեխայի ծնվելու հավանականությունը կորելացվում է մոր բարձր տարիքի հետ: Եթե ծնողներից մեկը տրանսլոկացված տարբերակի կրող չէ, այդպիսի զույգի մոտ Պատաուի կամ Էդվարդսի համախտանիշներով երեխայի ծնվելու հավանականությունը կազմում է ~1 %:

7.4. Դասական բջջագենետիկա. ամփոփում

Քրոմոսոմային վերլուծությունը թույլ է տալիս ուսումնասիրել մարդու գենոմն առանձին բջիջների մակարդակում, որի թույլտվությունը կազմում է 5-10 Մնզ: Հետևաբար դասական բջջագենետիկան թույլ է տալիս բացահայտել միայն խոշոր և մանրադիտակի տակ տեսանելի քրոմոսոմային աբեռացիաները:

Չեն բացահայտվում.

- ենթամանրադիտակային փոփոխությունները,
- ԴՆԹ հաջորդականությունների փոփոխությունները,
- էպիգենետիկական փոփոխությունները (ՄԾԴ),
- գենետիկական պատճառներով չպայմանավորված խաթարումները (Գլուխ 14):

Բջջագենետիկական խաթարումներին վերաբերող էլեկտրոնային օգտակար հղումներ

- *http://ssmc-tl.com (heteromorphisms, marker chromosomes, uniparental disomy in connection with chromosomal changes)*
- *http://www.cydas.org/index.html to control karyograms*

- https://decipher.sanger.ac.uk/application/ collected many chromosomal aberrations

- http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman summarizes all described tumor cytogenetic aberrations

- http://www.kumc.edu/gec/prof/cytogene.html - overview on a collection of cytogenetic related web pages.

8. Մոլեկուլային բջջագենետիկա

Մոլեկուլային բջջագենետիկան ներառում է մոլեկուլային կենսաբանության և բջջագենետիկայի մեթոդները, որոնց տարբեր համակցությունները թույլ են տալիս ուսումնասիրել ենթամանրադիտակային քրոմոսոմային խաթարումները, քրոմոսոմների էվոլյուցիան, ինչպես նաև առանձին բջիջներում քարտեզավորել գեները: Մոլեկուլային բջջագենետիկայի զարգացման սկզբնական փուլերում կիրառվում էին երկու հիմնական մեթոդներ՝ պրայմերով միջնորդված in situ հիբրիդիզացիան (անգլերեն՝ primed in situ labeling – PRINS) և ֆլյուորեսցենտ in situ հիբրիդիզացիան (անգլերեն՝ fluorescence in situ hybridization – FISH): Այսօր PRINS մեթոդն օգտագործվում է սակավաթիվ լաբորատորիաներում, իսկ FISH մեթոդը կիրառվում է պրենատալ, պոստնատալ քաղցկեղների ախտորոշման (ներառյալ հյուսվածքների պարաֆինային կտրվածքները), ինչպես նաև գիտական տարբեր նպատակներով:

Համեմատական գենոմային հիբրիդիզացիան (ՀԳՀ) մշակվել է որպես FISH մեթոդի տարատեսակ, որի հիման վրա հետագայում մշակվել է չիպ-ՀԳՀ-ն (Գլուխ 10.4.): ՀԳՀ մեթոդը հիմնված է հետևյալ սկզբունքի վրա. հիվանդի ամբողջական գենոմային ԴՆԹ-ն (ներկվում է կանաչ ֆլյուորոքրոմով) նորմալ ստուգիչի (ներկվում է կարմիր ֆլյուորոքրոմով) հետ միասին հիբրիդիզացվում են նորմալ մետաֆազի հետ: Հավասար քանակով կարմիր և կանաչ ֆլյուորոքրոմների վերադրումից առաջանում է դեղին գույնը: Եթե հիվանդի մոտ առկա է 21-րդ քրոմոսոմի տրիսոմիա, ապա կանաչ գույնի զոնդերի քանակը կգերակշռի: Եթե հիվանդը արական սեռի է, իսկ ստուգիչը՝ իգական, ստուգիչի X քրոմոսոմի ավել լինելու հետևանքով կգերակշռի կարմիր գույնը, հետևաբար X քրոմոսոմը դեղինի փոխարեն կլինի կարմրավուն: ՀԳՀ-ի միջոցով վերլուծվող հիվանդի ԴՆԹ-ում ամպլիֆիկացիաները կբացահայտվեն որպես կանաչ, իսկ դելեցիաները՝ կարմիր ֆլյուորոքրոմի ավելցուկով: Քանի որ քրոմոսոմների վերլուծության վրա հիմնված ՀԳՀ թույլտվությունը կազմում է 5-10 Մնզ, մշակվել է չիպ-ՀԳՀ մեթոդը, որի թույլտվությունը շատ ավելի բարձր է: ՀԳՀ-ն հաճախ կիրառվում է ուռուցքային բջիջներում խոշոր դելեցիաների և դուպլիկացիաների հայտնաբերման նպատակով, իսկ չիպ-ՀԳՀ-ն՝ մտավոր թերզարգացածությամբ հիվանդների և նորմալ մարդկանց կարիոտիպի ուսումնասիրման ժամանակ:

ՀԳՀ-ն ու չիպ-ՀԳՀ-ն ունեն մի քանի սահմանափակումներ.

(1) աբեռացիան պետք է հանդիպի փորձանմուշի 20-50 % բջիջներում,

(2) կարելի է բացահայտել միայն չհավասարակշռված խաթարումները,

(3) թույլ չի տալիս բացահայտել պոլիպլոիդիան,

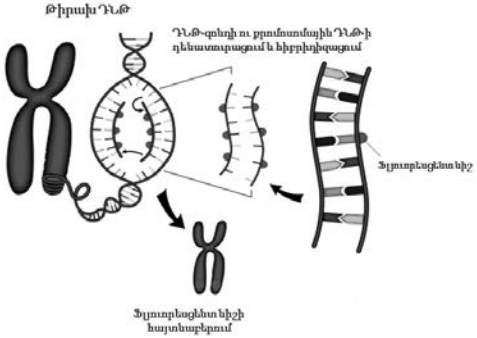
(4) թույլ չի տալիս ուսումնասիրել հետերոքրոմատինային հատվածները,

(5) չիպ-ՀԳՀ-ի կիրառման ժամանակ կարելի է ուսումնասիրել միայն այն քրոմոսոմային հատվածները, որոնք առկա են չիպի վրա:

Բացառությամբ ՀԳՀ-ի և չիպ-ՀԳՀ-ի՝ բջջագենետիկական բոլոր մեթոդները կիրառվում են առանձին բջիջների մակարդակում, ինչի շնորհիվ հնարավոր է դառնում բացահայտել մոզաիկ տարբերակները: Ի տարբերություն դասական բջջագենետիկայի՝ FISH մեթոդը թույլ է տալիս ուսումնասիրել նաև ինտերֆազային կորիզները (Գլուխ 8.3.):

8.1. FISH-զոնդեր

FISH մեթոդի իրականացման նպատակով կիրառվում են ԴՆԹ կամ պեպտիդ-նուկլեինաթթվային (անգլերեն՝ PNA) զոնդեր: ԴՆԹ զոնդը գենոմի որոշակի հաջորդականությանը կոմպլեմենտար միաշղթանի ԴՆԹ հաջորդականություն է, որին միացած է ֆլյուորոքրոմ: Ուստի ԴՆԹ զոնդի ճշգրիտ հիբրիդիզացիայի հավանականությունը կախված է կոմպլեմենտարության աստիճանից (նկար 5):



Նկար 5. Ֆլյուորեսցենտ in situ հիբրիդիզացիայի սխեման (*American Journal of Neuroradiology March 2007, 28 (3) 406-410*):

Ներկայումս մշակվել են նաև ՌՆԹ զոնդեր, որոնք թույլ են տալիս բացահայտել կոմպլեմենտար ՌՆԹ-ները բջիջներում և հյուսվածքային կտրվածքներում, հետևաբար գնահատել գեների էքսպրեսիան: Զոնդերը կարող են պատրաստվել մոլեկուլային-գենետիկական ճանապարհով կամ էլ ձեռք բերվել ստանդարտ կոմերցիոն զոնդերի տեսքով:

Տարբերում են մի քանի տեսակի ԴՆԹ զոնդեր.

- *Լոկուս-սպեցիֆիկ զոնդեր* (LSP, զոնդի չափը՝ նվազագույնը 20 կնզ, առավելագույնը՝ մի քանի Մնզ): Ներկայումս LSP զոնդերը ստանում են բակտերիաների արհեստական քրոմոսոմներում (BAC) կլոնավորած սպեցիֆիկ ԴՆԹ հաջորդականություններից: Բացի այդ՝ կիրառվում են նաև պլազմիդներ, կոսմիդներ, P1-կլոններ կամ խմորասնկերի արհեստական քրոմոսոմներ (YAC), որոնք ստացվում են մոլեկուլային-գենետիկական կլոնավորման ճանապարհով: Լոկուս-սպեցիֆիկ զոնդերը կիրառվում են գեների դելեցիաների, ամպլիֆիկացիաների, տրանսլոկացիաների, ինչպես նաև քրոմոսոմում գենի տեղակայման հայտնաբերման նպատակով:

- *Կրկնողություններից կազմված կամ ալֆոիդ զոնդերը* (զոնդի չափը՝ 6 նզ-ից մինչև ~171 նզ) կարող են օգտագործվել քրոմոսոմների ցենտրոմերային հատվածների (100-ից մինչև 10.000 անգամ կրկնվող ~171 նզ չափ ունեցող հաջորդականություններ՝ սատելիտային ԴՆԹ, կամ թելոմերային հաջորդականությունների ներկման նպատակով (Գլուխ 5.2.): Այսպիսի զոնդերը կլոնավորված են լինում պլազմիդներում կամ էլ պեպտիդ-նուկլեինաթթվային տիպի են: Ալֆոիդ կամ ցենտրոմերային զոնդերը կիրառվում են քրոմոսոմների թիվը որոշելու նպատակով, իսկ LSP զոնդերի հետ համակցումը թույլ է տալիս տարբերել գենային և քրոմոսոմային դելեցիաները:

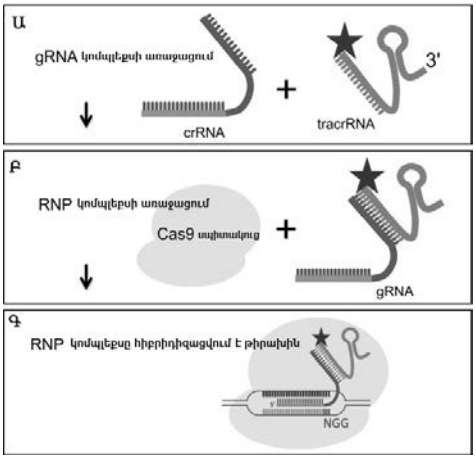
- *Ամբողջական-քրոմոսոմային զոնդերը (*WCP*)* պատրաստվում են քրոմոսոմների հոսքային տարանջատման (նման է բջիջների հոսքային տարանջատմանը) կամ քրոմոսոմների միկրոդիսեկցիայի մեթոդներով (*): WCP զոնդերը ավելի փոքր զոնդերի համակցումներ են, որոնցից յուրաքանչյուրը հիբրիդիզացվում է տվյալ քրոմոսոմի տարբեր հատվածներին: Այսպիսի զոնդերը կիրառվում են սպոնտան և մուտագեններով (օրինակ՝ ճառագայթմամբ) մակածված տրանսլոկացիաների բացահայտման նպատակով: Ներկայումս մշակվել է յուրաքանչյուր քրոմոսոմին բնորոշ գույնով ներկման համար M-FISH մեթոդը: Այդ նպատակով յուրաքանչյուր քրոմոսոմ հիբրիդիզացվում է մի քանի զոնդերի

համակցության հետ, որոնք ունեն տարբեր ֆլյուրորոքրոմներ: Հինգ առանձին ֆլյուրորոքրոմների տարբեր համակցությունների շնորհիվ հնարավոր է լինում ներկել մարդու բոլոր քրոմոսոմներն իրենց համապատասխան գույնով: Այս մեթոդի վրա հիմնված է սպեկտրալ կարիոտիպավորումը:

- *Մասնակի-քրոմոսոմային զոնդերը* (PCP) պատրաստվում են միայն քրոմոսոմների միկրոդիսեկցիայի միջոցով (*):

* Միկրոդիսեկցիայի ժամանակ առանձնացվում են ուսումնասիրվող քրոմոսոմի հատվածին համապատասխան ԴՆԹ պիկոգրամներ, ինչն ամպլիֆիկացվում է ՊՇՌ-ի միջոցով: ՊՇՌ-ի ընթացքում ամպլիֆիկացվում է փորձանոթում առկա ամբողջ ԴՆԹ-ն, ինչը հնարավոր է DOP-ՊՇՌ իրականացման շնորհիվ (կիրառվում են ոչ սպեցիֆիկ պրայմերներ):

- *CRISPR-FISH զոնդերը* թույլ են տալիս իրականացնել FISH մեթոդն առանց ԴՆԹ/քրոմոսոմների ջերմային դենատուրացիայի: Այդ նպատակով կիրառվում են ֆլյուորոքրոմ կրող տրանսակտիվացնող-CRISPR ասոցացված ՌՆԹ-ին միաձուլված ուղեկցող ՌՆԹ-ներ, որոնք ուղղորդում են dCas9 սպիտակուցը դեպի ԴՆԹ կոմպլեմենտար հատվածը: dCas9-ն առաջացնում է ԴՆԹ ապապարուրում և ՌՆԹ հիբրիդիզացիա (նկար 6):



Նկար 6. CRISPR-FISH զոնդի ստացում և ԴՆԹ-ի հետ հիբրիդիզացում: (Ա) Ուղեկցող ՌՆԹ-ի (gRNA) սինթեզ՝ ֆլյուորոքրոմ կրող տրանսակտիվացնող ՌՆԹ-ի (tracrRNA) հետ միացման արդյունքում, (Բ) որին միանում է Cas9 սպիտակուցն ու (Գ) հիբրիդիզացվում ԴՆԹ-ին (*New Phytol. 2019;222(3):1652-1661*):

Հիմնվելով կիրառվող զոնդերի և քրոմոսոմների մշակման տարատեսակների վրա՝ տարբերում են FISH մեթոդի մի քանի մոդիֆիկացիաներ:

- *Ֆայբեր-FISH*-ը թույլ է տալիս բազմակի անգամ բարձրացնել մեթոդի զգայնությունը և նույնականացնել մինչև հազար նուկլեոտիդային երկարություն ունեցող հատվածները: Այդ նպատակով ինտերֆազային քրոմոսոմները կցվում են առարկայակիր ապակուն այնպես, որ ունենան երկարաձգված ձև, ինչը ստացվում է քրոմոսոմների կառուցվածքում հիստոնային սպիտակուցների ամբողջական քայքայման ճանապարհով:

- *Քանակական FISH* մեթոդը գլխավորապես կիրառվում է թելոմերների երկարության մոլեկուլային-բջջագենետիկական ուսումնասիրման ժամանակ: Այդ նպատակով կիրառվում են PNA զոնդեր և համակարգչային ծրագիր: Այս մեթոդի մոդիֆիկացված տարբերակը կիրառվում է նաև ԴՆԹ կրկնողությունների թվի սպռնտան և մականված փոփոխությունների գնահատման համար:

- *Հոսքային FISH* մեթոդն իրականացվում է հոսքային ցիտոմետրի կիրառմամբ, որը թույլ է տալիս ուսումնասիրել քրոմոսոմների և ԴՆԹ կրկնողությունների թվի փոփոխությունները բջջային պոպուլյացիաներում:

8.2. FISH-զոնդերի պատրաստում

Մարդու քրոմոսոմների ուսումնասիրման համար մշակվել են տարբեր ֆլյուորոքրոմներով ներկված ստանդարտ FISH զոնդեր: Հակառակ դեպքում զոնդերը կարելի է ներկել դիգօքսիգենինով կամ բիոտինով (հապտեններ), որոնք հայտնաբերվում են ֆլյուորոքրոմին կցված համապատասխան հակամարմիններով: Կորիզային գենոմի ԴՆԹ նմուշները ստացվում են BAC-երի գրադարանից կամ քրոմոսոմների միկրոդիսեկցիայի ճանապարհով: Արտակորիզային գենոմի (միտոքոնդրիումային ԴՆԹ) FISH-զոնդերի պատրաստման նպատակով միտոքոնդրիումներից անջատվում է ԴՆԹ-ն, որն ամպլիֆիկացվում է պրայմերների հավաքածուներով կամ սպեցիֆիկ պրայմերների զույգով, այնուհետև նիշավորվում հապտենի կամ ֆլյուորոքրոմի միջոցով: Այս մոտեցումը կիրառելի է գենոմի ցանկացած հաջորդականության նկատմամբ, սակայն առավել արդյունավետ է քիչ թվով կրկնողություններ պարունակող

ԴՆԹ հատվածների համար: ԴՆԹ զոնդերին կարելի է կցել ֆլյուորոքրոմ կամ հապտեն երկու մեթոդով.

1. ՊՇՌ իրականացման ժամանակ թիմիդին եռֆոսֆատը (dTTP) փոխարինվում է հապտենին կցված նուկլեոտիդով:

2. Նիք-տրանսլյացիայի միջոցով՝ կիրառելով ԴՆԹ միաշղթա վնասվածքներ (անգլերեն՝ nicks) առաջացնող ԴՆԹազ: ԴՆԹ-պոլիմերազը կիրառում է առաջացած միաշղթա վնասվածքները ԴՆԹ-ին միանալու համար: ԴՆԹ-պոլիմերազն ունի էքզոնուկլեազային և էնդոնուկլեազային ակտիվություն, որը ԴՆԹ կոմպլեմենտար շղթային միացնում է ֆլյուորոքրոմին կցված նուկլեոտիդներ:

8.3. FISH-ախտորոշման կենսաբանական օբյեկտները

FISH-ախտորոշում կարելի է իրականացնել արյան, ոսկրածուծի կամ ֆիբրոբլաստների մետաֆազային և/կամ ինտերֆազային բջջային սուսպենզիաների կիրառմամբ: Կարող են կիրառվել նաև ինտերֆազային կորիզներ ունեցող ցանկացած հյուսվածքային կտրվածքներ, օրինակ՝ պարաֆինապատ հյուսվածքների նմուշներ, կրիոֆիքսացիայով ստացված նմուշներ, բերանի խոռոչի լորձաթաղանթից և մեզից անջատված բջիջներ, մազարմատների բջիջներ և այլն:

Կիրառվում են նաև ամնիոնի ինտերֆազային բջիջները, ինչը թույլ է տալիս ստանալ արդյունքները 12-24 ժամվա ընթացքում: Ներկայումս երկրորդ եռամսյակում առավել հաճախ հանդիպող քանակական քրոմոսոմային աբեռացիաների հայտնաբերման համար կիրառում են ինչպես FISH մեթոդը, այնպես էլ այլ մոլեկուլային-գենետիկական մեթոդներ:

Ինտերֆազային FISH-ը ստանդարտ մոտեցում է քաղցկեղների մոլեկուլային-բջջագենետիկական ախտորոշման համար, որի միջոցով գնահատում են օնկոսուպրեսոր գեների դելեցիաները, օնկոգեների ամպլիֆիկացիաները և/կամ տրանսլոկացիաները, ինչպես նաև ոսկրածուծի փոխպատվաստման արդյունքները (Գլուխ 9):

8.4. FISH մեթոդի կիրառումը բժշկական գենետիկայում

Դասական բջջագենետիկայի արդյունքները կարելի է գնահատել և հաստատել FISH մեթոդով: GTG-բենդավորման միջոցով ստացված նորմալ կարիոտիպում FISH մեթոդով կարելի է բացահայտել միկրոդելեցիաները (Գլուխ 11) և նկարագրել դերեվատիվ կամ մարկերային քրոմոսոմները:

Մարկերային քրոմոսոմի բացահայտման նպատակով կիրառվում է multiplex-FISH կամ սպեկտրալ կարիոտիպավորումը: Այդ նպատակով մարդու 24 *WCP* զոնդերը ներկվում են հինգ ֆլյուորոքրոմների տարբեր համակցություններով, որի արդյունքում ստանում են յուրաքանչյուր քրոմոսոմի համար բնորոշ փսևդոգունավորում: Քրոմոսոմների կտրվածքների ավելի մանրամասն ուսումնասիրման նպատակով մշակվել են FISH-բենդավորման տարբեր մոտեցումներ (օրինակ՝ multicolor banding) և լոկուս-սպեցիֆիկ զոնդեր (*Expert Rev Mol Diagn 2013; 13:251-255*):

Առանձին խումբ են կազմում փոքր երկրորդային-մարկեր քրոմոսոմ (անգլերեն՝ small supernumerary marker chromosomes – sSMCs) կրող հիվանդները, ինչը կարելի է ուսումնասիրել համապատասխան FISH մեթոդով (տե՛ս *http://ssmc-tl.com/Start.html*): sSMC-ով պայմանավորված հիվանդությունները պատկանում են հազվադեպ հիվանդությունների շարքին, քանի որ ամբողջ աշխարհում այս երևույթը՝ sSMC, բացահայտվել է միայն ~3 միլիոն մարդու մոտ, որոնցից ընդամենը ~1 միլիոնի մոտ է դրսևորվել հիվանդության տեսքով (*Expert Rev Mol Diagn 2009;9: 317-24*): sSMC-ի գենետիկական նկարագրման ժամանակ անհրաժեշտ է պատասխանել հետևյալ հարցերին.

- ո՞ր քրոմոսոմից է առաջացել sSMC-ն,
- արդյո՞ք կրում է էուքրոմատինային նյութ,
- de novo մուտացիա՞ է,
- արդյո՞ք առկա է միածնողական դիսոմիա sSMC-ի նորմալ քույր քրոմոսոմներում,
- արդյո՞ք մոզաիկ տարբերակ է:

8.5. FISH մեթոդի կիրառումը գեների քարտեզավորման համար

«Մարդու գենոմ» ծրագրի իրականացումը թույլ տվեց քրոմոսոմներում քարտեզավորել մարդու գեների մեծ մասը: Սակայն բազմաթիվ գեներ դեռևս լիարժեքորեն չեն քարտեզավորվել: Այստեղ FISH մեթոդն ունի խիստ կարևոր նշանակություն, քանի որ հաջորդ սերնդի սեքվենավորման արդյունքների ճշգրիտ վերլուծությունը պահանջում է մոլեկուլային-բջջագենետիկական տվյալների զուգահեռ կիրառում (*Cell 2015; 163:1527-1538*):

8.6. FISH մեթոդի կիրառումը կարիոտիպի էվոլյուցիայի ուսումնասիրման համար

Տարբեր տեսակների գենոմների հիբրիդիզացիան թույլ է տալիս ուսումնասիրել կարիոտիպի և կենդանի օրգանիզմների էվոլյուցիան: Մարդն ունի 46 քրոմոսոմ, մինչդեռ շիմպանզեն, գորիլան և օրանգուտանը՝ 48: Կարիոտիպի այսպիսի տարբերությունը պայմանավորված է նրանով, որ մարդու 2-րդ քրոմոսոմն առաջացել է մարդու և մեծ կապիկների ընդհանուր նախնու երկու քրոմոսոմների միաձուլման արդյունքում:

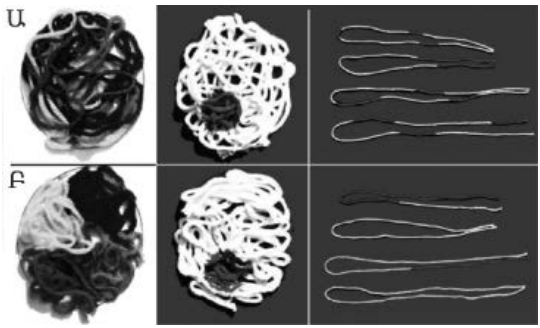
FISH մեթոդի կիրառմամբ ցույց է տրվել նաև, որ էվոլյուցիոն առումով կոնսերվատիվ ԴՆԹ խզումների կետերը 70 %-ով համընկնում են քրոմոսոմների ֆրագիլ հատվածների հետ:

8.7. FISH մեթոդի կիրառումը քրոմոսոմների տարածական ուսումնասիրության համար

«Քրոմոսոմային տարածքներ» տերմինն առաջին անգամ կիրառել է Թ. Բովերին 1909 թ.՝ ուսումնասիրելով ասկարիդի բլաստոմերներում քրոմոսոմների դասավորությունը: Սակայն քրոմոսոմային տարածքների մասին առաջին մոդելն առաջարկվել էր դեռ Կ. Ռաբլի կողմից 1885 թ., որի համաձայն՝ յուրաքանչյուր քրոմոսոմի ԴՆԹ-ն կորիզում զբաղեցնում է որոշակի ծավալ և վերածածկվում է միայն իր անմիջական հարևան քրոմոսոմների հետ («քրոմոսոմային համբույր»): Երկրորդ մո-

դելը ենթադրում էր, որ տարբեր քրոմոսոմների ԴՆԹ շղթաները կորիզում ունեն պատահական դասավորվածություն, հետևաբար ունեն խառը կծիկի տեսք («սպագետիի» մոդել):

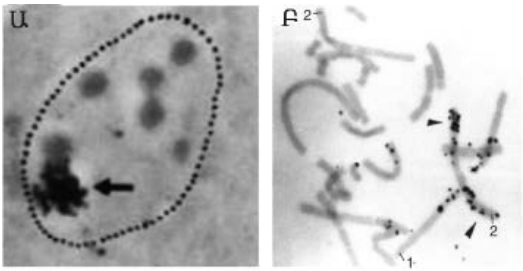
1980-ական թթ. գերմանացի գիտնականներ Թ. Կրեմերն ու իր եղբայրը՝ Ք. Կրեմերը, փորձարկեցին քրոմոսոմային տարածքների մոդելների համապատասխանությունը: Եթե կորիզում քրոմոսոմները զբաղեցնում են սահմանափակ ծավալ, ապա այդպիսի ծավալի նիշավորումը կազդի սակավաթիվ, միմյանց մոտ դասավորված քրոմոսոմների վրա: Մյուս կողմից, եթե քրոմոսոմները կորիզում դասավորված են խառը կծիկի տեսքով, կորիզի փոքր ծավալի նիշավորումը կազդի մեծ թվով քրոմոսոմների վրա, քանի որ բազմաթիվ տարբեր քրոմոսոմների թելիկները կանցնեն նիշավորված հատվածով (նկար 7):



Նկար 7. Կորիզում քրոմոսոմների տարածական դասավորվածության մոդելները: (Ա) Խառը կծիկի տեսքով դասավորված քրոմոսոմների նիշավորումն ազդում է տարբեր քրոմոսոմների վրա, (Բ) մինչդեռ սահմանափակ ծավալ զբաղեցնելու դեպքում նիշավորումն ազդում է սակավաթիվ քրոմոսոմային հատվածների վրա (*Cold Spring Harb Perspect Biol. 2010;2(3):a003889*):

Փորձնական ապացույցներ ստանալու համար մշակվեց լազեր, որը կարող էր ճառագայթել ուլտրամանուշակագույն ճառագայթներով (λ = 257 nm) G1 փուլում գտնվող բջիջների կորիզի փոքր հատված: Ճառագայթման արդյունքում առաջանում էին ԴՆԹ վնասվածքներ, որոնց ռեպարացիայի արդյունքում ռադիոակտիվ նիշ կրող նուկլեոտիդները ներկառուցվում էին ԴՆԹ շղթաների մեջ: Այնուհետև միտոզի փուլում գտնվող քրոմոսոմներն ուսումնասիրում էին ավտոռադիոգրաֆիայի միջոցով (նկար 8): Այսպես բացահայտվեց, որ միկրոճառագայթումը վնասում է քրոմոսոմների սակավաթիվ մասը, հետևաբար Թ. Բովերիի են-

թաղրությունը կորիզում հստակ քրոմոսոմային տարածքների գոյության մասին ճիշտ էր:



Նկար 8. Միկրոճառագայթված CHO բջջի կորիզը և քրոմոսոմները: (Ա) Սլաքով ցույց է տրված կորիզի միկրոճառագայթման հատվածը (Բ) քրոմոսոմներ 1 և 2 ճառագայթումից 40 ժամ անց, քրոմոսոմների վնասված հատվածները ռեպարացիայի արդյունքում ներկվում են մուգ գույնով (*Cold Spring Harb Perspect Biol. 2010;2(3):a003889*):

Ուղղակի ճանապարհով քրոմոսոմների տարածական կառուցվածքը կարելի է ուսումնասիրել միայն FISH մեթոդով 3D պայմաններում գտնվող կորիզներում: Այսպես, ցույց է տրվել, որ բջջային ցիկլի ընթացքում քրոմոսոմները պահպանում են իրենց հիմնական կառուցվածքը, ինչպես նաև կորիզում քրոմոսոմների տարածական դասավորվածության և տարբեր հիվանդությունների (օրինակ՝ 2q37-դելեցիոն համախտանիշ) միջև կապը (*EMBO J 2018; 37: e96257*): Ուստի կորիզում քրոմոսոմների եռաչափ դասավորվածությունը պետք է դիտարկել որպես գեների էքսպրեսիայի էպիգենետիկական կարգավորման մեխանիզմներից մեկը: Մարդու սպերմատոզոիդների կորիզում քրոմոսոմների տարածական դիրքը նկարագրվել է ԵՊՀ գենետիկայի և բջջաբանության ամբիոնի ու Յենայի մարդու գենետիկայի ինստիտուտի միջև համագործակցության շրջանակում (*Mol Cytogenet. 2008;1:25*): Հեղինակները կիրառել են բազմագույն քրոմոսոմային բենդավորման ու 3D FISH-ի համադրություն և առաջին անգամ նկարագրել մարդու բոլոր քրոմոսոմների եռաչափ դիրքը սպերմատոզոիդների կորիզում: Կորիզում քրոմոսոմների զբաղեցրած տարածությունները պայմանավորված են երկու հիմնական սկզբունքով.

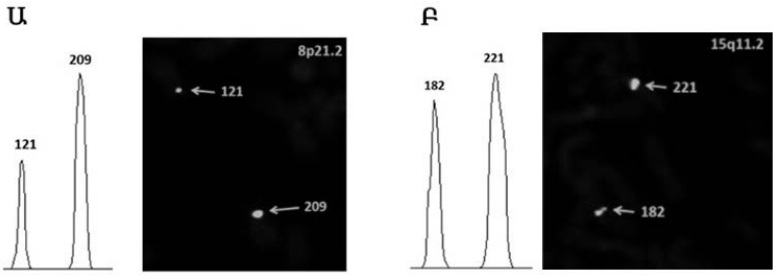
- քրոմոսոմների դասավորվածությունը՝ ելնելով դրանց չափից (մեծ քրոմոսոմները դասավորված են կորիզի պերիֆերիկ հատվածում, փոքր քրոմոսոմները՝ կենտրոնում),

- քրոմոսոմներում գեների խտությունից (գեներով հարուստ քրոմոսոմները գտնվում են կենտրոնում, իսկ գեներով աղքատ քրոմոսոմները՝ պերիֆերիայում):

Էվոլյուցիոն ճնշման պայմաններում այս դասավորվածությունը կարող է փոփոխվել: Օրինակ՝ բացահայտվել է, որ գիշերային կենսակերպ վարող կաթնասունների հետմիտոզային ցուպիկավոր ֆոտոընկալիչներում էուքրոմատինը գլխավորապես դասավորված է լինում կորիզի ծայրամասային հատվածներում, մինչդեռ հետերոքրոմատինն ունի կենտրոնական դասավորվածություն (*Genetika 2010;46:1159-1163*):

8.8. FISH մեթոդի կիրառումը ԴՆԹ կրկնողությունների թվի փոփոխության ուսումնասիրության համար

2004 թ. երկու անկախ գիտական խմբերի կողմից հրապարակվեցին տվյալներ այն մասին, որ առողջ մարդկանց գենոմներում առկա են ԴՆԹ կրկնողությունների թվի փոփոխություններ՝ CNV-ներ: Գենոմային հիբրիդիզացիայի մեթոդների հետագա զարգացումը թույլ տվեց բացահայտել, որ CNV-ները կազմում են մարդու գենոմի 4.5-9.5 %-ը և պոլիմորֆիզմների ու տարբեր հիվանդությունների պատճառ են: 2008 թ. Յենայի (Գերմանիա) մարդու գենետիկայի ինստիտուտի մոլեկուլային բջջագենետիկայի լաբորատորիայում Weise և համահեղինակների կողմից մշակվեց POD-FISH մեթոդը, որը թույլ է տալիս նկարագրել CNV-ները մարդու առանձին բջիջներում, ինչպես նաև դրանց հաճախականությունը (*Int J Mol Med. 2008;21(2):189-200*): Այդ նպատակով կիրառվում են CNV-ների համար սպեցիֆիկ BAC-զոնդեր: Հետագայում ԵՊՀ գենետիկայի և բջջաբանության ամբիոնի հետ համատեղ մշակվեց մակածված CNV-ների ուսումնասիրման մոլեկուլային-բջջագենետիկական ստանդարտ մոտեցում (*Mol Cytogenet. 2019;12:18.*) (նկար 9):



Նկար 9. Աֆլատոքսին B1-ով մակածված CNV-ների ուսումնասիրում (Ա) 8p21.2 և (Բ) 15q11.2 քրոմոսոմային լոկուսներում POD-FISH մեթոդով (*Mol Cytogenet. 2015;8:25*):

Մակածված CNV-ները բացահայտելու նպատակով ստուգիչ և մուտագենով մշակված տարբերակներում վերլուծում են ավազագույնը 50 մետաֆազային թիթեղներ: BAC-զոնդերի ֆլյուորեսցենցիայի ինտենսիվությունները չափվում են ImageJ ծրագրի միջոցով: Ստացված տվյալները թույլ են տալիս գնահատել CNV-ների երկարության փոփոխությունները:

9. Ուռուցքների (բջջա)գենետիկան

Ուռուցքների (բջջա)գենետիկայի զարգացման հիմքը մի քանի կարևոր հայտնագործություններ են.

1879 թ. – ուռուցքային բջիջներում միտոզի խաթարումների հայտնաբերում,

1914 թ. – Թեոդոր Բովերիի կողմից ուռուցքների զարգացման քրոմոսոմային տեսության ձևակերպում,

1947 թ. – ուռուցքային բջջային գծերում բջջագենետիկական փոփոխությունների նկարագրում,

1960 թ. – Ֆիլադելֆյան քրոմոսոմի նույնականացում քրոնիկ միելոլեյկոզով հիվանդների մոտ,

1962 թ. – արտաքրոմոսոմային ամպլիֆիկացված ԴՆԹ (double minutes) հայտնաբերում ուռուցքային բջիջներում,

1978 թ. – հոմոգեն ներկվող հատվածների բացահայտում:

Քանի որ ուռուցքային բջիջները դժվարությամբ են աճում բջջային կուլտուրայում, դրանց հատկությունների վերաբերյալ գիտելիքների հիմնական մասը ստացվել են բջջային գծերից: Այս բջջային գծերը կուլտիվացման երկար տարիների ընթացքում սկսել են փոփոխվել և այժմ տարբերվում են սկզբնական ուռուցքի բջիջներից: Քանի որ ուռուցքների հիմնական մասը հայտնաբերվում է մի քանի տարիների աճից հետո, դրանք արդեն ձեռք են բերած լինում մի շարք գենետիկական խաթարումներ: Ուստի հիվանդությունն առաջացնող առաջնային պատճառի հայտնաբերումը բավականին բարդանում է: Ուռուցքները բաժանվում են երկու խմբի՝ բարորակ (առանց ինվազիվ աճի) և չարորակ (ինվազիվ աճ, մետաստազավորում):

Ուռուցքների դասական տեսության համաձայն՝ բջիջներում աստիճանաբար առաջանում են մեկական մուտացիաներ, որոնք տալիս են ընտրողական առավելություն աճի համար: Որքան շատ մուտացիաներ են կուտակվում, այնքան բարձրանում է քաղցկեղի հավանականությունը: Քաղցկեղային բջիջներն ունեն նաև ավելի բարձր մետաբոլիկ ակտիվություն՝ համեմատած նորմալ բջիջների հետ, որոնք կուտակում են հավելյալ՝ առավելություն ընձեռող հատկանիշներ և աստիճանաբար դառնում ուռուցքներ: Այս տեսությունը սահմանվել է Բերթ Վոգելշտայնի կողմից և կոչվում է Վոգելշտայնի մոդել:

Քաղցկեղի հանգեցնող մուտացիաները օնկոգենների ակտիվացման (նորմալ բջիջների աճի և զարգացման համար պատասխանատու գեներ), քաղցկեղային սուպրեսոր գենների անջատման և քանակական քրոմոսոմային խաթարումների (ԴՆԹ ռեպարացիայի և գենոմի կայունությունն ապահովող գենների մուտացիայի հետևանքով) համակցություն են: Վերջերս քրոմոտրիփսիսը՝ քրոմոսոմների մեկանգամյա ջախջախումն ու վերակառուցումը, առաջարկվել է որպես ուռուցքների զարգացման բջջագենետիկական նոր մեխանիզմ (*Trends Cell Biol 2017; 27:917-930*): Այսպիսով՝ բացահայտվեց, որ օնկոգենեզի ընթացքում քրոմոսոմային մուտացիաներն առաջանում են ոչ միայն աստիճանաբար, այլև մեկանգամյա իրադարձության արդյունքում:

9.1. Պրոտոօնկոգեններ և օնկոգեններ

Պրոտոօնկոգենները կարգավորում են նորմալ բջջային ցիկլը (ներառյալ բջիջների բաժանումը), բջիջների մահվան ուղիները, մեծ մասը մարդու նորմալ բջիջներում ակտիվ է էմբրիոնալ զարգացման ընթացքում: Հաճախ պրոտոօնկոգեներում առաջանում են ակտիվացնող մուտացիաներ (անգլերեն՝ gain of function): Եթե մուտացիայի ենթարկված ալելը մակածում է բջջի բաժանում, ապա այն «դոմինանտ մուտացիա» է (օնկոգեն):

Կոնստիտուցիոն օնկոգենային մուտացիաները, որպես կանոն, բջջի համար ունենում են լետալ ելք: Ուստի նմանատիպ մուտացիայով պայմանավորված ժառանգական քաղցկեղները, համախտանիշներն ու հիվանդությունները սակավաթիվ են: Օրինակ՝

- *RET*-գենի մուտացիան հանգեցնում է 2-րդ տիպի էնդոկրին նեոպլազիայի,
- *RAF* գենի մուտացիան առաջացնում է կարդիոդիմամաշկային համախտանիշ, որի ժամանակ վնասվում է սրտամկանը, առաջանում են դիսմորֆիզմներ և մաշկի ու մազերի վնասում,
- *h-RAS* գենի մուտացիան առաջացնում է Կոստելոյի համախտանիշ,
- TP53 գենի մուտացիան հանգեցնում է Լի-Ֆրաումենի համախտանիշի զարգացմանը:

Գոյություն ունեն օնկոգենների առաջացման երեք հիմնական մեխանիզմներ՝

- պրոտոօնկոգենում (կամ կարգավորիչ լոկուսում) կետային մուտացիայի, դելեցիայի կամ ինսերցիայի առաջացում, որը հանգեցնում է գենի գերակտիվ էքսպրեսիայի կամ կարգավորման կորստի,
- պրոտոօնկոգենի տրանսլոկացիան ակտիվ պրոմոտորի մոտ, որը հանգեցնում էգենի գերէքսպրեսիայի կամ առաջանում է նոր ֆունկցիա ունեցող միաձուլված գեն,
- պրոտոօնկոգենի ամպլիֆիկացիան՝ որպես քրոմոսոմի հոմոգեն ներկվող հատված կամ արտաքրոմոսոմային ԴՆԹ:

Առաջին օնկոգենը հայտնաբերվել է քաղցկեղածին ռետրովիրուսներում 1911 թ. Փեյթոն Ռաուսի կողմից, ինչի համար 1966 թ. արժանացել է Նոբելյան մրցանակի: Ռաուսը հավերի սարկոմայից անջատել էր ֆիլտրատ, որն առողջ հավերին ներարկելիս առաջացնում էր ուռուցքներ: Բջջային տրանսֆորմացիա առաջացնող գործոնը Ռաուսի սարկոմայի վիրուսն էր (RSV): Հետագայում Նոբելյան մրցանակակիրներ Մ. Բիշոփն ու Հ. Վարմուսը բացահայտեցին, որ Ռաուսի սարկոմայի վիրուսի տրանսֆորմացնող գենը՝ *src*-ն, ունի բջջային ծակում: Ուստի տարբերում են *v*-օնկոգեններ (v-onc – վիրուսային) և *c*-օնկոգեններ (c-onc – բջջային):

9.2. Ուռուցքային սուպրեսոր գեներ

Քանի դեռ ուռուցքների սուպրեսոր գենները գտնվում են ֆունկցիոնալ վիճակում, դրանք ճնշում են բջիջների պրոլիֆերացիան: Այս գեները կարող են ինակտիվանալ մուտացիայի հետևանքով (անգլերեն՝ loss of function): Սակայն քաղցկեղն առաջանում է սուպրեսոր գեների երկու ալելների մուտացիայի և դրանց ինակտիվացման արդյունքում: Դա կարելի է դիտարկել որպես «ռեցեսիվ մուտացիա» (Կնուդսոնի մոդել):

Օնկոսուպրեսորներում կոնստիտուցիոնալ մուտացիաները կարող են հանգեցնել ժառանգական քաղցկեղի համախտանիշների զարգացմանը: Օնկոսուպրեսորային գեների խմբին են պատկանում «գրպանային սպիտակուցներ» կոդավորող գեները՝ *RB1, p107* և *p130*: *RB1* գենի երկու ալելների մուտացիայի հետևանքով վաղ տարիքում առաջանում է ռետինոբլաստոմա: Այս երևույթը բացահայտվել էր դեռևս 1950-ական թթ. և հաստատեց Կնուդսոնի երկու մուտացիաների մոդելը: pRb սպի-

տակուցը բջջային ցիկլը կարգավորող սպիտակուցներից մեկն է, որն արգելափակում է բջիջը G1-S փուլում՝ կապվելով E2F տրանսկրիպցիայի ակտիվատոր գործոնների հետ: Ցիկլին D-CDK4/6 և ցիկլին E-CDK2 սպիտակուցային համակարգերի կողմից ֆոսֆորիլացվելու արդյունքում pRb-ն չի կարողանում փոխազդել E2F տրանսկրիպցիայի գործոնի հետ, ինչի հետևանքով բջիջներն անցնում են G1-ից S փուլ: *RB1* գենի մուտացիայի արդյունքում չի սինթեզվում pRb սպիտակուցը, ինչի արդյունքում բջիջները սկում են անկանոն կերպով բաժանվել:

9.3. Մուտատոր գեներ/ռեպարացիայի գեներ

Մուտատոր գեները մասնակցում են ԴՆԹ ռեպարացիային, հետևաբար պահպանում են գենոմի ամբողջականությունը: Այս գեներում առաջացող մուտացիաները գլխավորապես ինակտիվացնող կամ «ռեցեսիվ» տիպի են: Ռեպարացիային մասնակցող գեներում (օրինակ՝ *BRCA1/2*) ինակտիվացնող մուտացիաները բարձրացնում են պրոտոօնկոգեներում և օնկոսուպրեսորներում մուտացիաների առաջացման հավանականությունը: Ժառանգական քաղցկեղի համախտանիշները կարող են առաջանալ այս գեների մուտացիայի արդյունքում (տե՛ս 9.1.-ը, *TP53*): Ժառանգական քաղցկեղի առաջացման պատճառներից են *BRCA1/2* գեների մուտացիաները (~1800 մուտացիա): Այս գեները մասնակցում են ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքների հոմոլոգիական ռեպարացիային, որոնց ժառանգական մուտացիան բարձրացնում է կրկնքագեղձի քաղցկեղի առաջացման ռիսկը 50-80 %, իսկ արգանդի վզիկի քաղցկեղի ռիսկը՝ 30-50 %: Ներկայումս մի շարք երկրներում իրականացվում է *BRCA1/2* գեների անվճար վերլուծություն բարձր ռիսկային խմբում գտնվող մարդկանց մոտ, ինչը թույլ է տալիս համապատասխանաբար նվազեցնել կրծքագեղձի և արգանդի վզիկի քաղցկեղների ռիսկը 95 % և 80 %:

9.4. Արյան քաղցկեղ (լեյկեմիա)

Լեյկեմիան կարելի է բաժանել չորս հիմնական խմբի՝

- սուր միելոիդ լեյկեմիա (ՍՄԼ),
- քրոնիկ միելոիդ լեյկեմիա (ՔՄԼ),
- սուր լիմֆատիկ լեյկեմիա (ՍԼԼ),

- քրոնիկ լիմֆատիկ լեյկեմիա (ՔԼԼ):

Ներկայումս տարբերում են արյան քաղցկեղի բազմաթիվ ենթախմբեր գլխավորապես քաղցկեղային բջիջներում de novo բջջագենետիկական խաթարումների հիման վրա: Ենթախմբերի վերաբերյալ մանրամասն տեղեկատվություն կարելի է գտնել հետևյալ հղումով՝ *http://atlasgeneticsoncology.org/index.html*:

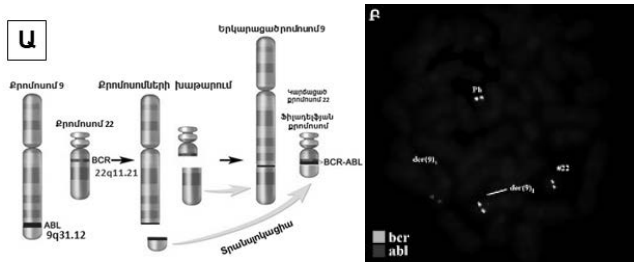
Քրոնիկ միելոիդ լեյկեմիա (ՔՄԼ)

Առավել լավ ուսումնասիրված և նկարագրված լեյկեմիայի տեսակը ՔՄԼ-ն է, որի բուժման բացակայության դեպքում տարբերում են զարգացման 3 փուլ՝

- քրոնիկ կայուն,
- աքսելերացիայի կամ տրանսմիսիայի,
- բլաստային կամ տերմինալ:

Հաճախականությունը կազմում է տարեկան 1-2 նոր հիվանդ՝ 100.000 մարդկանցից: Առավել հաճախ հանդիպում է 50-60 տարեկան անձանց մոտ և կազմում է բոլոր ախտորոշված լեյկոզների 20 %-ը: Հիվանդանալու հավանականությունը բարձրացնող գործոններից են իոնիզացնող ճառագայթումը, բենզենը, ալկիլացնող մուտագենները և/կամ ցիտոստատիկ միացությունները: ՔՄԼ-ով տառապող հիվանդների 95% -ի մոտ հայտնաբերվում է 9 և 22 քրոմոսոմների միջև հավասարակշռված տրանսլոկացիայի արդյունքում ձևավորվող Ֆիլադելֆյան քրոմոսոմը: 9-րդ քրոմոսոմում տեղակայված է *ABL1* գենը, իսկ 22-րդ քրոմոսոմում՝ *BCR* գենը: Տրանսլոկացիայի արդյունքում ձևավորվում են երկարացած #9 և կարճացած #22 (Ֆիլադելֆյան կամ Ph) քրոմոսոմներ (նկար 10): Ընդ որում, #22 քրոմոսոմում ձևավորվում է *BCR-ABL* քիմերային օնկոգենը, որը կոդավորում է կոնստիտուտիվ էքսպրեսիայի ենթարկվող թիրոզին կինազային ակտիվությամբ սպիտակուց: Կախված *BCR* գենում կտրվածքի առաջացման և *ABL1* գենի միաձուլման հատվածից՝ տարբերում են p185, p210 և p230 սպիտակուցները: *BCR-ABL* թիրոզին կինազն իրականացնում է աուտոֆոսֆորիլացում, ինչի շնորհիվ ակտիվորեն փոխազդում է ցիտոպլազմայում բջջային ցիկլը կարգավորող սպիտակուցների SH2-խմբերի հետ: Այս սպիտակուցների խմբին են պատկանում միտոգեն-ակտիվացվող պրոտեին կինազը (MAPK), ինչի հետևանքով բջիջները սկսում են անկառավարելի կերպով կիսվել և սկիզբ տալիս քաղցկեղային բջիջների կլոններին:

Բուժման մեթոդներն են ոսկրածուծի փոխպատվաստումը կամ Գլիվեկ (Իմատինիբ) դեղամիջոցի կիրառումը: Վերջինս թիրախային կերպով արգելակում է t(9;22)-ի արդյունքում ձևավորված *BCR-ABL* քիմերային թիրոզին կինազը:



Նկար 10. (Ա) Ֆիլադելֆյան քրոմոսոմի առաջացման սխեման և (Բ) FISH մեթոդով դրա հայտնաբերումը (*https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/philadelphia-chromosome; Mol Cytogenet. 2015;8:59*):

9.5. Քաղցկեղի առաջացման տեսությունները

Գոյություն ունեն քաղցկեղի առաջացման բազմաթիվ տեսություններ (հումորալ, բլաստեմայի, քրոնիկ բորբոքային, տրոֆոբլաստային, դասական, քաղցկեղային բնային բջիջների և այլն), որոնցից առանձնացնում են երկու հիմնականը՝ էպիգենետիկական և գենետիկական: Վերջինս բաժանվում է գենային և գենոմային ենթախմբերի, որտեղ տարբերում են ժառանգական և ձեռքբերովի տեսակները:

Քաղցկեղի առաջացման մասին տեսությունների, դրանց առավելությունների ու թերությունների և մի շարք այլ հարցեր մանրամասնորեն նկարագրված են Հենրի Հենգի «*Debating cancer, The paradox in cancer research*» գրքում, որից մի քանի հատվածներ քննարկվում են այս գլխում:

Քաղցկեղի մասին տեսությունը պետք է բացատրի բոլոր այն հատկանիշները, որոնք հանդիպում են քաղցկեղի ախտորոշման ժամանակ: Այն պետք է բացատրի կանցերոգենեզի համար անհրաժեշտ ժամանակահատվածը, քրոմոսոմային անկայունությունը և քաղցկեղի այլ հատկանիշները, ինչպիսիք են դեղամիջոցների նկատմամբ կայունությունն ու Վարբուրգի էֆեկտը:

Վարբուրգի էֆեկտն այն է, որ աերոբ պայմաններում քաղցկեղային բջիջներում էներգիայի սինթեզն իրականանում է գլիկոլիզի ճանապարհով, որի արդյունքում ձևավորվում է կաթնաթթու, մինչդեռ նորմալ բջիջների հիմնական մասը նախընտրում է օքսիդատիվ ֆոսֆորիլացման ուղին՝ միտոքոնդրիումների միջոցով: Չարորակ, արագ աճող ուռուցքային բջիջներում գլիկոլիզի ակտիվությունը ~200 անգամ ավելի բարձր է՝ համեմատած այդ բջիջների նորմալ հյուսվածքի հետ, ինչը դիտվում է նույնիսկ թթվածնի հասանելիության պայմաններում: Վարբուրգի էֆեկտի վրա է հիմնված պոզիտրոնային էմիսիոն տոմոգրաֆիան, որի դեպքում օրգանիզմ են ներարկում ռադիոակտիվ գլյուկոզի անալոգ՝ ֆլյուորոդեզօքսիգլյուկոզ: Վերջինս կլանվում է քաղցկեղային բջիջների կողմից ավելի ակտիվորեն՝ համեմատած նորմալ հյուսվածքների հետ, ինչը թույլ է տալիս հայտնաբերել մետաստազները:

2002 թ. կատարված լայնածավալ հետազոտության արդյունքում հեղինակները եկել են հետևյալ եզրակացության. *«Քաղցկեղային բջիջներում սահմանափակ թվով գենետիկական և կենսաքիմիական դեպերմիանավրների բացահայտման փոխարեն մարդու քաղցկեղային բջիջների վերլուծությունը հանգեցրեց այդպիսի գործոններից բաղկացած բարդ ցանցի բացահայտմանը»* (*Hahn WC, Weinberg RA. N Engl J Med 2002; 347:1593-1603*):

Այս եզրահանգումը կատարվել է հետևյալ արդյունքների հիման վրա.

- վերլուծվել են 10.000 ուռուցքներ,
- հայտնաբերվել են 10 միլիոն մուտացիաներ, ինչը նշանակում է միջինում 1000 մուտացիայի առկայություն յուրաքանչյուր ուռուցքում:

Հարկավոր է նաև նկատի ունենալ, որ քաղցկեղային բջիջներում բացահայտվող ոչ բոլոր (էպի)մուտացիաներն ունեն կլինիկական նշանակություն:

Դեյվիդ Ռազնիկը նշում է, որ ուռուցքներում դիտվող բազմաթիվ ֆենոտիպային փոփոխություններն անհնարին է բացատրել միայն գենային մակարդակում:

«Մկների գեների գրեթե 99 %-ն ունի հոմոլոգ մարդու գենոմում: 96 % դեպքերում հոմոլոգ գենը գտնվում է մարդու գենոմի միևնույն կոնսերվատիվ հատվածում»: (*Mouse Genome Sequencing Consortium. Nature 2002; 420:520*)

Այլ կերպ ասած՝ էվոլյուցիան տեղի է ունեցել ոչ թե կետային մուտացիաների, այլ գենոմային դուպլիկացիաների, գենոմի վերախմբավորման և ԴՆԹ կրկնողությունների թվի փոփոխության հաշվին: Այս գաղափարը կիրառելի է նաև ուռուցքների նկատմամբ:

Քաղցկեղի դեմ դեղամիջոցների սինթեզման աշխատանքներում միլիոնավոր մկների օգտագործման պատճառը մարդու և մկների գենոմների բարձր նմանությունն է: Այնուամենայնիվ, կրծողների մոդելներում ստացված տվյալներն ի վերջո հանգեցրել են որոշ դեղերի մշակման անհաջողության և մարդկանց մոտ տոքսիկ էֆեկտների առաջացման, ինչը հանգեցնում է «զարմանալի» եզրակացության, որ մկները մարդ չեն:

Ընդհանուր առմամբ Ռազնիկն ու համահեղինակները պնդում են, որ գենոմային անկայունությամբ և սպիտակուցների գերսինթեզով են պայմանավորված քաղցկեղային հետևյալ ֆենոտիպերը՝

- ուռուցքին բնորոշ հակածինների առաջացումը,
- ինվազիան ապահովող և կոնտակտային արգելակումը խաթարող սպիտակուցների բարձր ակտիվությամբ սինթեզը,
- Վարբուրգի էֆեկտը,
- քաղցկեղի պրոգրեսիայի և դեղերի նկատմամբ կայունությունն ապահովող քրոմոսոմային անկայունությունը,
- և կանցերոգենեզի զարգացման տևողությունը:

Սպոնտան, ժառանգական հիվանդությունների և քաղցկեղի ժառանգական համախտանիշների ախտորոշման տվյալները հաստատում են, որ մուտացիաները բարձրացնում են ուռուցքների առաջացման նախահակվածությունը (Գլուխ 9.6.): Այս եզրահանգումները բխում են քաղցկեղների առաջացման անէուպլոիդիայի և պանանէուպլոիդիայի տեսություններից, սակայն չեն բացատրում քրոմոսոմային անկայունության նախապատճառները: Նախապայմաններից մեկը կարող են լինել մուտատորային մուտացիաները, որոնք բարձրացնում են գենետիկական խաթարումների հավանականությունը: Քաղցկեղային բջիջները, որոնք կրում են այդպիսի մուտացիաներ, դրսևորում են մուտատորային ֆենոտիպ: Այսպիսի փոփոխությունները հանգեցնում են բարորակ և չարորակ ուռուցքների առաջացմանը, վերջիններս կուտակում են գենետիկական և էպիգենետիկական հավելյալ խաթարումներ:

Կանցերոգենեզում առանցքային նշանակություն ունեցող գեները բաժանվում են երեք հիմնական խմբի՝

- բարձր պենետրանտությամբ գեներ,
- միջին պենետրանտությամբ գեներ,
- ցածր պենետրանտությամբ գեներ:

Բարձր պենետրանտությամբ գեների մուտացիաները գլխավորապես պայմանավորում են տարիքից կախված քաղցկեղի առաջացման ռիսկը: Այս մուտացիաները քիչ են հանդիպում նորմալ պոպուլյացիայում, խիստ կարևոր են քաղցկեղի առաջացման համար, ինչի շնորհիվ կիրառվում են որպես կանցերոգենեզի ռիսկի գենետիկական մարկերներ: Այդպիսի գեներ են՝ *RB1*, *TP53*, *APC*, *WT*-1, *BRCA1*, *BRCA2*, և *HMSH2*:

Միջին պենետրանտության գեները նկարագրվել են միայն կրծքագեղձի քաղցկեղի դեպքում: Այս խմբի գեներում (օրինակ՝ *CHEK2*, *RAD50*, *ATM*) մուտացիաները 4 անգամ բարձրացնում են կրծքագեղձի քաղցկեղի առաջացման ռիսկը՝ համեմատած նման մուտացիաներ չունեցող պոպուլյացիայի հետ:

Ցածր պենետրանտությամբ գեները կողավորում են քաղցկեղի երկրորդային հատկանիշները՝ ԴՆԹ ռեպարացիան, անգիոգենեզը կամ քսենոբիոտիկների նկատմամբ կայունությունը պայմանավորող սպիտակուցներ: Այս գեներում մուտացիաները ստեղծում են անհատականացված բուժման հիմքը:

Ուռուցքների առաջացմանն առնչվող ձեռքբերովի սոմատիկ մուտացիաները.

- զարգանում են անհատի կյանքի ընթացքում,
- կարող են բջջի համար լինել չեզոք, որոշ մուտացիաներ՝ հանգեցնել սենեսենսի (բջջային ծերացման) կամ ապոպտոզի,
- կարող են բերել սպորադիկ ուռուցքների առաջացմանը,
- չեն փոխանցվում հաջորդ սերնդին և չեն հանդիպում բոլոր բջիջներում:
- չեն առաջացնում ժառանգական հիվանդություններ:

Ուռուցքների առաջացմանն առնչվող սեռական բջիջների ժառանգական մուտացիաները.

- առկա են լինում կամ առաջանում են սեռական բջիջներում,
- կարող են փոխանցվել հաջորդ սերունդներին,
- առկա են լինում սերնդի բոլոր բջիջներում,

- կարող են պայմանավորել բազմագործոն հիվանդությունների նկատմամբ նախահակվածությունը:

Վերջին տարիներին կանցերոգենեզում նկարագրվել է նոր մեխանիզմ՝ նումայտոգենեզ, որը պայմանավորված է կորիզային գենոմում միտոքոնդրիումային ԴՆԹ de novo ինտեգրացիայով:

9.6. Ժառանգական քաղցկեղի համախտանիշներ

Ժառանգական քաղցկեղի համախտանիշներն առաջանում են սեռական բջիջներում մեկ օնկոգենի, մեկ օնկոսուպրեսորի կամ մեկ մուտատոր գենի մուտացիայի արդյունքում: Այս համախտանիշների զարգացմանը մասնակցող գեները 100 % դեպքերում պայմանավորում են նաև սպորադիկ քաղցկեղների զարգացումը:

Ժառանգական քաղցկեղի համախտանիշները խիստ հազվադեպ են, որոնց դեպքում տվյալ ընտանիքի անդամների մոտ ուռուցքներն առաջանում են ավելի վաղ, քան նույն տիպի ուռուցքներն ընդհանուր պոպուլյացիայում:

Միևնույն անհատի մոտ միաժամանակ և բազմիցս կարող են առաջանալ մեկից ավելի առաջնային ուռուցքներ:

Ժառանգական քաղցկեղի համախտանիշների մեծ մասը ժառանգվում են աուտոսոմ-դոմինանտ կերպով, որի դեպքում հիվանդի առաջին աստիճանի հարազատների (ծնող, երեխա, այլ ազգական) մոտ առկա է հիվանդության պատճառ հանդիսացող մուտացիան կրելու 50 % ռիսկ:

Օրինակ 1: Հաստ աղիքի քաղցկեղ (ՀԱՔ)

ՀԱՔ-ը տղամարդկանց և կանանց մոտ 3-րդ ամենահաճախ հանդիպող քաղցկեղն է: Գերմանիայում յուրաքանչյուր տարի գրանցվում է ~60.000, իսկ Հայաստանում՝ ~1000 նոր հիվանդ, որոնցից մեծ մասի մոտ հիվանդությունը բազմագործոն ազդեցության հետևանք է: Ուստի 94 %-ը սպորադիկ դեպքեր են:

ՀԱՔ-ի 1 % դեպքերում հիվանդությունն առաջանում է #5 քրոմոսոմում գտնվող *APC* գենի մուտացիայի արդյունքում, որը հանգեցնում է Գարդների համախտանիշի: *APC* գենը բազմաֆունկցիոնալ օնկոսուպրեսոր է, որը կարգավորում է բջջային աղիեզիային մասնակցող սպիտակուցների՝ β-կատենինի և E-կադերինի կոնցենտրացիան բջջում՝ փոխազդելով դեստրուկցիայի կոմպլեքսի սպիտակուցների հետ: Հետևա-

բար կարգավորում է բջիջների բազմացումը, միգրացիան հյուսվածքի սահմաններում, ինչպես նաև փոխազդեցությունը արտաբջջային մատրիքսի և հարևան բջիջների հետ: Ընտանեկան ադենոմատոզ պոլիպոզով հիվանդների ընտանիքներում նկարագրվել է *APC* գենի ավելի քան 700 մուտացիա, որոնցից մեծ մասը հանգեցնում է կարճ, ոչ ֆունկցիոնալ սպիտակուցի առաջացմանը: *APC* գենի ինակտիվացնող մուտացիայով անձանց մոտ հաստ աղիքի քաղցկեղի առաջացման հավանականությունը մինչև 40 տարեկան հասակը կազմում է 100 %: ՀԱՔ-ի այլ ժառանգական դեպքերի 1-4 %-ի մոտ զարգանում են պոլիպներ (Փոյց-Յեգերի, Քաուդենի համախտանիշներ): Եվս 2-5 %-ի մոտ առաջանում է ժառանգական ոչ պոլիպային ՀԱՔ կամ Լինչի համախտանիշ:

Սպորադիկ ՀԱՔ-ի մեծ մասը ադենոկարցինոմաներ են (գեղձային էպիթելի քաղցկեղներ) և հանդիպում են 50 տարեկանից բարձր անձանց մոտ (առավել հաճախ 70-80 տարեկանում): Ռիսկի գործոն են սննդային թելիկներով աղքատ և ճարպերով հարուստ սննդակարգը, ինչպես նաև աղիքային քրոնիկ բորբոքային հիվանդությունները:

Ժառանգական ՀԱՔ-ի պոլիպային տարբերակի դեպքում խիստ հավանական են սեռական բջիջներում *APC*, *LKB1*, *PTEN*, *MAD4* (աուտոսոմ-դոմինանտ) և *MUTYH* (աուտոսոմ-ռեցեսիվ) գեների մուտացիաներ:

APC գենի մուտացիայով պայմանավորված Գարդների համախտանիշի դեպքում բուժման բացակայությունը հանգեցնում է հետևյալ կլինիկական ընթացքին.

Զարգացման փուլ	**Միջին տարիք [տարի]**	**Տևողություն [տարի]**
առաջին պոլիպներ	16	5-38
առաջին ախտանշաններ	29	2-73
հիվանդության ախտորոշում	33	5-73
քաղցկեղի ախտորոշում	36	17-67
մահ քաղցկեղից	40	26-78

Առանց պոլիպների ժառանգական ՀԱՔ-ի դեպքերի մեծ մասը կազմում են Լինչի համախտանիշով տառապող հիվանդներ: Այս դեպքում, բացի հաստ աղիքից, ուռուցքներ առաջանում են արգանդում (43-60 %

դեպքերում), ստամոքսում (13-19 %), ձվարաններում (9-12 %), միզապարկում (3-10 %), բարակ աղիքում (1-4 %) և այլ օրգաններում: Ժառանգական ոչ պոլիպային ՀԱՔ-ի ~75 % և սպորադիկ ոչ պոլիպային ՀԱՔ-ի ~15 % դեպքերում դիտվում են միսմատչ ռեպարացիայի գեների մուտացիաներ, >90 % դեպքերում մուտացիաներն առաջանում են *MLH1* և *MSH2* գեներում: Այս գեների թիրախն են գենոմի կրկնվող հատվածները/միկրոսատելիտները, ուստի ուռուցքային հյուսվածքին բնորոշ է միկրոսատելիտային անկայունությունը: Պատճառն այն է, որ *MLH1* և *MSH2* գեները կոդավորում են մարդու բջիջներում ԴՆԹ միսմատչ ռեպարացիային մասնակցող յոթ հիմնական սպիտակուցներից երկուսը: *MLH1* գենի մուտացիաների հետևանքով յուրաքանչյուր բջջային բաժանման արդյունքում կուտակվում են սպոնտան մուտացիաները: Միսմատչ մուտացիաների չվերականգնման դեպքում բջիջներում բարձրանում է միկրոսատելիտային անկայունության հաճախականությունը, և ստանում են մուտատորային ֆենոտիպ: *MLH1* գենի որոշ մուտացիաներ հանգեցնում են Թարքոտի և Մուիր-Տորրեի համախտանիշների զարգացմանը, որոնց դեպքում հիվանդների մոտ համապատասխանաբար դիտվում են նաև գլիոբլաստոմաներ և մաշկի ուռուցքներ:

Օրինակ 2: Կրծքագեղձի քաղցկեղ

Կրծքագեղձի քաղցկեղը կանանց մոտ ամենահաճախ հանդիպող քաղցկեղի տեսակն է (կանանց 10 %-ն իրենց կյանքի ընթացքում հիվանդանում են այս քաղցկեղով): Կրծքագեղձի քաղցկեղի ավելի քան 5 %-ը պայմանավորված է գենետիկական նախատրամադրվածությամբ, որոնց 50 %-ի մոտ հանդիպում են *BRCA1* կամ *BRCA2* գեների մուտացիաներ: Ներկայումս համապատասխանաբար նկարագրվել է *BRCA1* և *BRCA2* գեների 1800 և 2000 մուտացիա: Պոպուլյացիայում այս մուտացիաների հաճախականությունը կազմում է 1:500 մինչև 1:1.000: Ցույց է տրվել, որ Ճապոնիայում *BRCA1* գենի մուտացիան հանդիպում է 2.6 % հաճախականությամբ, մինչդեռ ԱՄՆ-ում՝ 11.1 %: *BRCA1* և *BRCA2* գեները մասնակցում են ԴՆԹ ռեպարացիային և բջջային ցիկլի կարգավորմանը: Բացահայտված են բազմաթիվ այլ գեներ, որոնք մասնակցում են կրծքագեղձի քաղցկեղի, այդ թվում՝ ժառանգական տիպի զարգացմանը:

Ժառանգական կրծքագեղձի քաղցկեղին բնորոշ են հետևյալ առանձնահատկությունները.

+ առաջանում է մինչև մենոպաուզան,
+ կապված է ձվարանների քաղցկեղի հետ,
+ կարող է լինել բիլատերալ,
+ կարող է կապված լինել այլ ուռուցքների հետ:

Ժառանգական կրծքագեղձի քաղցկեղի դեպքում արական սեռի սերունդների մոտ նույնպես խորհուրդ է տրվում ուսումնասիրել *BRCA1* կամ *BRCA2* գեներում մուտացիաների առկայությունը, քանի որ նրանց մոտ բարձր է շագանակագեղձի քաղցկեղի հավանականությունը:

Այլ օրինակներ՝ Ռետինոբլաստոմա, Վիլմսի ուռուցք (նեֆրոբլաստոմա):

Ախտորոշման գործընթացը ժառանգական քաղցկեղի բոլոր դեպքերում շատ հաճախ երկարատև է և բարդ: Սակայն այն ունի մի շարք դրական հետևանքներ.

- մուտացիա չկրողների բացահայտում, որոնք կարող են չներառվել քաղցկեղի սքրինինգի ծրագրում: Դա ունենում է դրական հոգեբանական ազդեցություն, քանի որ չկա վախ, որ այս անձանց երեխան ապագայում կարող է տառապել տվյալ հիվանդությամբ,
- տոհմաբանական ծառում մուտացիա կրող այլ անձանց բացահայտում, ինչի շնորհիվ միայն մուտացիա կրողներն են ներգրավվում քաղցկեղի սքրինինգի ծրագրում և անցնում կանխարգելիչ գործընթացներ,
- հայտնաբերված մուտացիան կարող է ազդել թերապիայի արդյունավետության վրա: Օրինակ՝ *BRCA1/2* գեներում մուտացիա կրող և մետաստազավորված կրծքագեղձի քաղցկեղով հիվանդներն ավելի էֆեկտիվորեն են բուժվում ցիսպլատինով և կարբոպլատինով: Հիմնվելով մուտացիայի տեսակի վրա՝ ընտրվում են համապատասխան կանխարգելիչ գործողություններ:

9.7. Քրոմոսոմային անկայունության համախտանիշներ

Քրոմոսոմային անկայունության կամ քրոմոսոմային վնասվածքների համախտանիշները գլխավորապես աուտոսոմ-ռեցեսիվ հիվանդություններ են, որոնք առաջանում են ԴՆԹ ռեպարացիայի համակարգերի խաթարման հետևանքով: Սրանք կլինիկորեն հետերոգեն հիվանդություններ են, որոնց միավորում է բջջագենետիկական խաթարումների

բարձր հաճախականությունը: Դիտվում են նաև բջիջների դանդաղ աճ in vitro պայմաններում և սպոնտան քրոմոսոմային անկայունության բարձր մակարդակ, ուստի այս հիվանդների մոտ հաճախ առաջանում են տարբեր նորագոյացություններ:

Դասական քրոմոսոմային անկայունության համախտանիշներ՝

- ատաքսիա տելանգիեկտազիա,
- Բլումի համախտանիշ,
- Ֆանկոնիի անեմիա:

Հազվադեպ հանդիպող քրոմոսոմային անկայունության համախտանիշներ՝

- Նայմեգենի համախտանիշ,
- ICF համախտանիշ,
- Վերների համախտանիշ,
- պիգմենտային քսերոդերմա,
- Ռոթմունդ-Թոմսոնի համախտանիշ,
- Կոկեյնի համախտանիշ,
- Շվախմանի համախտանիշ,
- սկլերոդերմիա,
- պիգմենտային ինկոնթինենթիա,
- Ռոբերթսի համախտանիշ (*),
- բնածին դիսկերատոզ (*):

* Այս համախտանիշները պայմանավորված չեն ԴՆԹ ռեպարացիայի խաթարումներով, սակայն դիտվում են բարձր հաճախականությամբ քրոմոսոմային խաթարումներ:

Ատաքսիա տելանգիեկտազիա կամ Լուի-Բարի համախտանիշ

[Հաճախականությունը՝ 1:60.000]:

Առավել հաճախ դիտվում է մոտ ազգակցական ամուսնության արդյունքում ծնված երեխաների մոտ: Հիվանդների մոտ առաջին տելանգիեկտազիաները (արյունատար անոթների լայնացում) դիտվում են 3-5 տարեկան հասակում՝ դիմային հատվածում և վերջույթներում: Նաև տառապում են իմունային համակարգի անբավարարությամբ և պրոգրեսիվ ուղեղիկային ատաքսիայով՝ սկսած 2 տարեկանից: Երբեմն դիտվում է մտավոր հետամնացություն և չարորակ ուռուցքների, հատկապես լիմֆոբլաստոմաների, առաջացման բարձր ռիսկ: Վերջինս հետերոզիգոտների մոտ 5 անգամ ավելի բարձր է՝ համեմատած նորմալ պոպու-

լյացիայի հետ: Հանդիպում են նաև վերարտադրողական ֆունկցիայի խաթարումներ: Բնորոշ են #7, #11 և #14 քրոմոսոմների մասնակցությամբ տարբեր վերախմբավորումներ և բարձր հաճախականությամբ քրոմոսոմային անկայունություն: Դիտվում է նաև բլեոմիցինի և իոնիզացնող ճառագայթման նկատմամբ գերզգայնություն, ուստի այս հիվանդների մոտ ուռուցքների բուժումը ճառագայթմամբ խիստ արդյունավետ է լինում: Հիվանդների կյանքի միջին տևողությունը կազմում է ~25 տարի, սակայն դիտվում են տատանումներ լայն սահմաններում:

Հիվանդությունն առաջանում է ԴՆԹ ռեպարացիային մասնակցող սերին/թրեոնին-պրոտեինկինազ կողավորող *ATM* (11q22-q23) գենի մուտացիայի արդյունքում: Այն կազմված է 69 էքզոնից, որոնք բաշխված են 150 կնզ երկարությամբ ԴՆԹ հատվածում: Մասնակցում է ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքների վերականգնմանը, բջջային ցիկլի չեքփոինթների ակտիվացմանը և ԴՆԹ վնասվածքներով պայմանավորված ապոպտոզի կարգավորմանը: *ATM* սպիտակուցը գլխավորապես հանդիպում է կորիզում: Գենի պրոքսիմալ, կենտրոնական և դիստալ հատվածներում ինսերցիաների և դելեցիաների արդյունքում առաջանում են նոնսենս, միսենս ու ընթերցման շրջանակի տեղաշարժման մուտացիաներ: Հանդիպում են նաև համատեղված հետերոզիգոտությամբ հիվանդներ: *ATM* գենի մուտացիաների արդյունքում գլխավորապես առաջանում են կարճացած սպիտակուցներ, որոնք խիստ անկայուն են: Այսպիսի հիվանդները կոչվում են ատիպիկ, որոնց մոտ հիվանդության ախտանիշները դրսևորվում են ավելի ուշ, իսկ հիվանդության զարգացումն ունենում է համեմատաբար դանդաղ ընթացք:

Բլումի համախտանիշ

[Հաճախականությունը՝ 1:90.000]:

Բլումի համախտանիշով տառապող հիվանդների 1/3-ը ծնվում են մոտ ազգակցական ամուսնության արդյունքում, իսկ ընտանիքների 1/3-ը աշքենազի հրեաներ են: Բլումի համախտանիշով տառապող հիվանդների մոտ դիտվում են պրենատալ և պոստնատալ կարճահասակություն, միկրոցեֆալիա, իմունային համակարգի խաթարումներ և դիմային հատվածում մազանոթների լայնացմամբ էրիթեմա (հաճախ ունենում է թիթեռի տեսք): Այս հիվանդներն ունենում են բարձր ֆոտոզգայնություն և մաշկի տարբեր հատվածներում բաց շագանակագույն պիգմենտավորում (Café-au-lait), ինչպես նաև չարորակ նորագոյացություն-

ների առաջացման բարձր ռիսկ և տարբեր բարդությամբ անպտղություն: Հաճախ զարգանում են լիմֆոմաներ, լեյկեմիաներ և ստամոքս-աղիքային ուղղու ուռուցքներ: Կյանքի միջին տևողությունը կազմում է ~27 տարի:

Բլումի համախտանիշն առաջանում է RecQ հելիկազ կոդավորող *BLM* գենի (15q26.1) մուտացիայի արդյունքում: *BLM* գենը կազմված է 4437 նուկլեոտիդից, որի կոդավորած սպիտակուցը գլխավորապես հայտնաբերվում է կորիզում և պայմանավորում է Հոլիդեյի խաչվածքների տարրալուծումը, հետևաբար նվազեցնում է քրոմատիդների միջև փախանակությունների հաճախականությունը: Ներկայումս նկարագրվել է *BLM* գենի 80 մուտացիա, որոնց արդյունքում առաջանում է սպիտակուցի տրանսլյացիայի վաղաժամ արգելակում (հիպոմորֆ մուտացիա), կամ էլ վնասվում են կոնսերվատիվ հելիկազային դոմենի կամ դրա հետ կապված սպիտակուցային դոմեյնները: Դրա արդյունքում նորմալ և մուտագենով (կամ ռեպլիկացիայի արգելակիչով) մշակված բջիջներում բարձրանում է ռեպլիկացիայի պատառաքաղների ինիցիացիայի հատվածներն ու դրանց ընդհանուր խտությունը: Բջջագենետիկական վերլուծության ժամանակ դիտվում են քրոմոսոմային քվադրիռադիալներ, որոնք ձևավորվում են քրոմոսոմային վնասվածքների առաջացումից հետո հոմոլոգ քրոմոսոմների միջև քրոմատիդային փոխանակության արդյունքում: Նորմալ բջիջներում քույր-քրոմատիդային փոխանակության հաճախականությունը կազմում է 6-10, մինչդեռ Բլումի համախտանիշով հիվանդների մոտ այն 10-15 անգամ ավելի հաճախ է:

Նայմեգենի համախտանիշ

[Հաճախականությունը՝ 1:100.000, խիստ հազվադեպ է]:

Աուտոսոմ-ռեցեսիվ հիվանդություն է, որը գլխավորապես հանդիպում է սլավոնական ազգերի մոտ, մասնավորապես Չեխիայում, Լեհաստանում, Ռուսաստանում և Ուկրաինայում: Գրականության մեջ նկարագրվել է Նայմեգենի համախտանիշով 150 հիվանդ, սակայն ազգային առողջապահական տեղեկադարաններում նրանց թիվն աստճանաբար ավելանում է ախտորոշման մեթոդների կատարելագործման շնորհիվ: Նայմեգենի համախտանիշով տառապող հիվանդներն ունենում են աճի պրենատալ և պոստնատալ խաթարումներ, միկրոցեֆալիա, գանգաղիմային դիսմորֆիզմ, մտավոր հետամնացություն և իմունային խաթարումներ, ինչպես նաև չարորակ նորագոյացություններ և

գերզգայնություն ճառագայթման նկատմամբ: Քրոմոսոմների ստացումն այս հիվանդներից բավականին բարդ է T-լիմֆոցիտների ցածր միտոտիկ ակտիվության պատճառով: Առանձին բջիջներում հայտնաբերվում են բազմաթիվ կառուցվածքային քրոմոսոմային խաթարումներ, որոնցից առավել հաճախը #7 և #14 քրոմոսոմների տրանսլոկացիաներն են:

Հիվանդությունն առաջանում է ԴՆԹ ռեպարացիային մասնակցող նիբրին սպիտակուցը կողավորող *NBN* (8q21.3) գենի մուտացիայի արդյունքում: *NBN* գենն ունի ~51 կնզ երկարություն և 20 էքզոն: ԴՆԹ վնասվածքների առկայության դեպքում նիբրին սպիտակուցն արգելակում է բջջային ցիկլը S փուլում, փոխազդում է FANCD2 սպիտակուցի հետ և ակտիվացնում ԴՆԹ ռեպարացիայի BRCA1/2 ուղին: Դա բացատրում է նաև *NBN* գենի մուտացիայի արդյունքում քաղցկեղների բարձր հաճախականությունը:

Կորիզում նիբրինը գտնվում է MRN սպիտակուցային կոմպլեքսի կազմում (Mre11-Rad50-nibrin): Իոնիզացնող ճառագայթման արդյունքում ինակտիվ ATM-կինազը փոխազդում է MRN կոմպլեքսի հետ, առաջանում են ATM-ի աուտոֆոսֆորիլացում և դիմերիզացիա: Տեղափոխվելով կորիզ՝ ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքների հատվածում նիբրինը ֆոսֆորիլացվում է γ-H2AX հիստոնը: Այս սպիտակուցային կոմպլեքսը ճանաչվում է ԴՆԹ ռեպարացիային մասնակցող այլ սպիտակուցների կողմից, որոնց հետ փոխազդեցությունը նպաստում է ԴՆԹ կառուցվածքի վերականգնմանը: Նիբրինը մասնակցում է նաև ապոպտոզին և տելոմերային կայունության ապահովմանը:

ICF (Immune defect, Centromere-instability, Facial dysmorphism) համախտանիշ

[Հաճախականությունը հայտնի չէ, խիստ հազվադեպ է]:

ICF հիվանդները տառապում են իմունոգլոբուլինների ցածր մակարդակի պատճառով սուր իմունային անբավարարությամբ և մահանում նորմալ մարդկանց համար անվտանգ ինֆեկցիաներից: Դիտվում են նաև դիմային դիսմորֆիզմներ, մտավոր հետամնացություն և մարմնի տարբեր հատվածների թերզարգացածություն:

Բջջագենետիկորեն այս հիվանդներին բնորոշ են #1, #9 և #16 քրոմոսոմների պերիցենտրոմերային հետերոքրոմատինի դենկոնդենսացում, քրոմոսոմի ամբողջական ուսի դելեցիա, բազմառադիալ քրոմոսոմներ և այլն: Առավել հաճախ հանդիպում են ICF1 հիվանդները (*DNMT3B*

գենի (20q11.21) մուտացիա), սակայն նկարագրված են նաև ICF համախտանիշի 3 այլ տեսակներ՝ ICF2 (*ZBTB24* գենի մուտացիա), ICF3 (*CDCA7* գենի մուտացիա) և ICF4 (*HELLS* գենի մուտացիա):

Ռոբերթսի համախտանիշ

[Հաճախականությունը հայտնի չէ, խիստ հազվադեպ է]:

Աուտոսոմ-ռեցեսիվ հիվանդություն է: Ռոբերթսի համախտանիշով տառապող հիվանդների մոտ դիտվում են վերջույթների և մարմնի ածի պրենատալ և պոստնատալ խաթարումներ, գանգաղիմային դիսմորֆիզմներ, հողերի խախտումներ, ինչպես նաև կարող են առաջանալ սրտի, երիկամների և սեռական օրգանների զարգացման խաթարումներ: Բջջագենետիկական վերլուծության ժամանակ բացահայտվում է բնորոշ քույր քրոմատիդների վաղաժամ տարամիտում:

Հիվանդությունն առաջանում է ցենտրոմերային կոհեզին կոդավորող *ESCO2* գենի (8p21.1) մուտացիայի արդյունքում: Ներկայումս հայտնի են ավելի քան 30 մուտացիաներ: *ESCO2* գենը կոդավորում է ացետիլ տրանսֆերազ, որը փոխազդում է քրոմատիդների հետ կապված կոհեզինային սպիտակուցների հետ: Կոհեզինի Smc3 ենթամիավորի ացետիլացումը կայունացնում է բջջային ցիկլի S փուլում կոհեզինի կապը քրոմատիդների ցենտրոմերային հատվածում: *ESCO2* գենի մուտացիայի արդյունքում քրոմատիդների միջև կապը թուլանում է, ինչը Ռոբերթսի համախտանիշի առաջացման պատճառ է:

Ֆանկոնիի անեմիա

[Հաճախականությունը՝ 1:40.000]:

Աուտոսոմ-ռեցեսիվ հիվանդությունը է սակայն 2 % դեպքերում կարող է ժառանգվել X-շղթայակցված կերպով, ինչը նշանակում է, որ մուտացիա կրող կանանց մոտ կա 50 % հավանականությամբ հիվանդ տղա երեխա ծնվելու ռիսկ: Ֆանկոնիի անեմիայով տառապող հիվանդների մոտ դիտվում են պանցիտոպենիա (էրիթրոցիտների, լեյկոցիտների և թրոմբոցիտների թերարտադրություն) և ոսկրածուծի բջիջների զարգացման խաթարում, ռադիալ անոմալիաներ (բութ մատի բացակայություն), պրենատալ և պոստնատալ կարճահասակություն, միկրոցեֆալիա, սրտի զարգացման խաթարումներ, Café-au-lait տիպի պիգմենտներ, նաև կարող է զարգանալ լեյկեմիա: Մինչև 40 տարեկան հասակը հիվանդների 98 %-ի մոտ առաջանում են արյունաբանական տարբեր

տիպի խաթարումներ: Առավել հաճախ հանդիպում է աշքենազի հրեաների մոտ:

Բջջագենետիկական մակարդակում բնորոշ են բարձր հաճախականությամբ քրոմոսոմային աբեռացիաները և քրոմատիդային փոխանակումները, ինչի արդյունքում առաջանում են տրիռադիալ և քվադրիռադիալ դիցենտրիկ քրոմոսոմներ: Քրոմոսոմային վնասվածքների մակարդակը կարելի է բարձրացնել դիէպօքսիբութանով բջիջների մշակման արդյունքում:

Հիվանդությունն առաջանում է ԴՆԹ կայունությունն ապահովող սպիտակուցներ կոդավորող ~20 գեների մուտացիաների արդյունքում:

Պիգմենտային քսերոդերմա

[Հաճախականությունը կախված է պոպուլյացիայից]:

Պիգմենտային քսերոդերմա հիվանդությամբ տառապողները խիստ զգայուն են արևի լույսի նկատմամբ: Մաշկի քաղցկեղի առաջացման հավանականությունը 2.000 անգամ ավելի բարձր է՝ համեմատած նորմալ պոպուլյացիայի հետ, նաև արյան և քաղցկեղային բջիջներում դիտվում է քրոմոսոմային վնասվածքների բարձր մակարդակ: Հիվանդների 20 %-ի մոտ հանդիպում են նաև նյարդային խանգարումներ: Մաշկի քաղցկեղի պատճառով այս հիվանդները մահանում են բավականին վաղ տարիքում: Առաջին բարորակ ուռուցքներն առաջանում են ~9 տարեկան հասակում, իսկ մաշկի քաղցկեղ՝ ~22 տարեկանում: Հիվանդության հանդիպման հաճախականությունը տարբեր պոպուլյացիաներում տարբեր է. ԱՄՆ և Եվրոպա՝ 1:1.000.000, Հյուսիսային Աֆրիկա՝ 1:50.000, Ճապոնիա՝ 1:22.000, իսկ հաճախադեպը՝ 1:5.000, բացահայտվել է Կոմորիան կղզիների բնակիչների մոտ, որտեղ հաճախ են մոտ ազգակցական ամուսնությունները:

Հիվանդության պատճառը նուկլեոտիդների էքսցիզիոն ռեպարացիայի գեների մուտացիաներն են (7-9 գեն), ինչը հանգեցնում է ուլտրամանուշակագույն ճառագայթների կողմից մակածված C/T կամ CC/TT տրանզիցիայի ռեպարացիայի խաթարմանը:

Վերների համախտանիշ (հասուն պրոգերիա)

[Հաճախականությունը Ճապոնիայում և Սարդինիայում՝ 1:50.000, այլ պոպուլյացիաներում հայտնի չէ, խիստ հազվադեպ է]:

Վերների համախտանիշով հիվանդները մինչ սեռական հասունությունն ունենում են նորմալ զարգացում: Սկսած 30 տարեկան հասակից՝

դիտվում է աճի դանդաղում, մաշկի ատրոֆիա, ենթամաշկային ճարպի կորուստ, մազերի սպիտակում և մազաթափություն: Այս փուլում հիվանդներն ունենում են 60-80 տարեկան անձին բնորոշ տեսք, մահանում են գլխավորապես սիրտանոթային հիվանդություններից կամ քաղցկեղից մինչ 50 տարին լրանալը:

Բջջագենետիկական վերլուծությունը ցույց է տվել քրոմոսոմային անկայունության բարձր մակարդակ: Հիվանդությունն առաջանում է WRN *RecQ*-նման հելիկազ կոդավորող *WRN* գենի (8p12) մուտացիայի հետևանքով: *WRN* գենը կազմված է 38 էքզոնից և ունի ~144.5 կնզ երկարություն:

RecQ հելիկազները գործում են ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքների ռեպարացիայի և ռեպլիկացիայի ժամանակ: Wrn հելիկազը ԱԵՖ-կախյալ սպիտակուց է, որը դրսևորում է նաև էքզոնուկլեազային ակտիվություն: Wrn-ը փոխազդում է ԴՆԹ-պրոտեին կինազների և Ku70/80 սպիտակուցային կոմպլեքսի հետ ԴՆԹ եկրշղթա վնասվածքի առաջացման հատվածում, հետևաբար կարգավորում է ոչ հոմոլոգիական ծայրերի կցման ռեպարացիան: Wrn-ը փոխազդում է նաև X4L4 լիգազի հետ, ինչի շնորհիվ դրսևորվում է Wrn-ի էքզոնուկլեազային ակտիվությունը: Ներկայումս հայտնի են *WRN* գենի ~70 հիվանդություն առաջացնող մուտացիաներ, որոնց մեծ մասն առաջացնում է զրոյական ալելներ՝ սպիտակուցի լրիվ բացակայությամբ:

Բնածին դիսկերատոզ

[Հաճախականությունը հայտնի չէ, խիստ հազվադեպ է]:

Բնածին դիսկերատոզով հիվանդների մոտ դիտվում են վերին և ստորին վերջույթների մատների եղունգների դիստրոֆիաներ: Հանդիպում են նաև մաշկի պիգմենտավորման փոփոխություններ, հատկապես պարանոցի և կրծքավանդակի հատվածներում, ինչպես նաև բերանի խոռոչում սպիտակ հետքեր՝ լեյկոպլակիաներ: Այս հիվանդների մոտ բարձր են կյանքին սպառնացող հիվանդությունների առաջացման հավանականությունը (լեյկեմիա կամ թոքային ֆիբրոզ), ոսկրածուծի ֆունկցիայի խաթարումները (օրինակ՝ էրիթրոցիտների արտադրության խանգարումներ): Արական սեռի մոտ հանդիպում է երեք անգամ ավելի հաճախ (մասամբ X-շղթայակցված է):

Բջջագենետիկական վերլուծությունը ցույց է տվել քրոմոսոմային անկայունության բարձր մակարդակ:

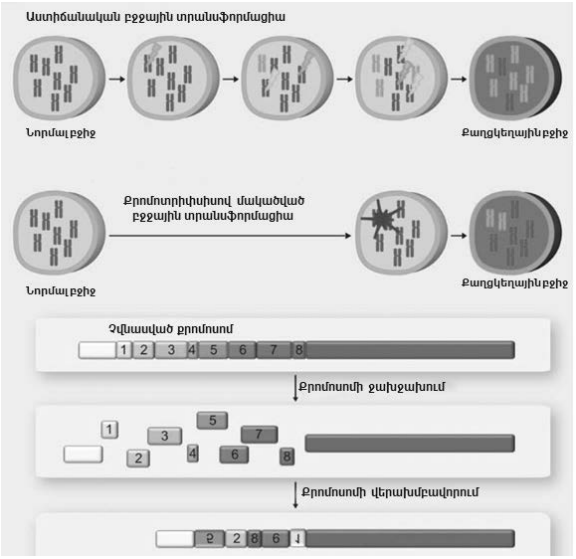
Հիվանդների 50 %-ի մոտ հայտնաբերվում են թելոմերների կայունությունն ապահովող *TERC* (քրոմոսոմ #3), *TERT* (քրոմոսոմ #5), *TINF2* (քրոմոսոմ #14) կամ *DKC1* (X քրոմոսոմ) գեների մուտացիաներ: *TERC* գենը կոդավորում է hTR ենթամիավորը՝ ՌՆԹ-ի մոլեկուլ, որը մատրիցա է թելոմերազի համար: *TERT* գենը կոդավորում է hTERT թելոմերազի հետադարձ տրանսկրիպտազ կատալիտիկ ենթամիավորը: hTR և hTERT ենթամիավորները կայունացվում են *DKC1* գենով կոդավորվող դիսկերին սպիտակուցի հետ փոխազդեցության շնորհիվ: Շելտերինային կոմպլեքսը պահպանում է թելոմերային հաջորդականությունները բջջի ռեպարացիոն համակարգերից, որոնք կարող են ճանաչել քրոմոսոմներում միաշղթա հատվածները և իրականացնել դրանց կցում կամ էլ ինհիցիացնել ապոպտոզ: *TINF2* գենը կոդավորում է շելտերինային կոմպլեքսի կազմի մեջ մտնող 6 սպիտակուցներից մեկը՝ TERF1-փոխազդող կորիզային գործոն 2 սպիտակուցը: Հետևաբար բնածին դիսկերատոզով տառապող հիվանդների մոտ դիտվում է թելոմերների կարճացում, ինչը հատկապես դրսևորվում է ակտիվ բազմացող բջիջներում:

Աղյուսակում ներկայացված են քրոմոսոմային անկայունությամբ պայմանավորված համախտանիշները և դրանց կապը քաղցկեղների հետ.

Համախտանիշ	Բնորոշ քաղցկեղները
Բլումի համախտանիշ	ՍՄԼ, ոչ Հոջկինյան լիմֆոմա, հաստ աղիքի և մաշկի քաղցկեղ
Ֆանկոնիի անեմիա	ՍՄԼ; միելոդիսպլազիա, հաստ աղիքի և թոքերի քաղցկեղ
Ատաքսիա տելանգիեկտազիա	ՍԼԼ, ոչ Հոջկինյան և Հոջկինյան լիմֆոմա, հաստ աղիքի քաղցկեղ

9.8. Քրոմոտրիփսիս

Քրոմոտրիփսիսը (հունարեն՝ thripsis – ջախջախում) քրոմոսոմի կառուցվածքային խաթարում է, որի ժամանակ տվյալ քրոմոսոմի հազարավոր հատվածներ մասնատվում են և վերախմբավորվում պատահական հերթականությամբ և դիրքով մեկանգամյա ջախջախիչ իրադարձության արդյունքում (նկար 11):



Նկար 11. Աստիճանական և քրոմոտրիփսիսով մակածված բջջային տրանսֆորմացիա (*Int J Cancer. 2016;138(10):2322-33*):

Առաջին անգամ բացահայտվել է 2011 թ. ՔԼԼ հիվանդի 4-րդ քրոմոսոմում սեքվենավորման միջոցով (*Cell, 144 (1), 2011; pp. 27-40*): Քրոմոտրիփսիսը նկարագրվել է ոչ միայն քաղցկեղային բջիջներում, այլև սեռական բջիջներում, մասնավորապես զարգացման խաթարումներ ունեցող հիվանդություններով մարդկանց մոտ: Ավելին, քրոմոսոմների ջախջախիչ վերախմբավորումներ բացահայտվել են ոչ միայն մարդու, այլև *C. elegans* որդերի, *Arabidopsis thaliana* մոդելային բույսի, խաղողի (*Vitis vinifera*), միաբջիջ օրգանիզմների մոտ, ինչը թույլ է տալիս ենթադրել, որ քրոմոտրիփսիսը կարող է հիմք հանդիսանալ գենետիկական փոփոխականության համար: 2013 թ. Քորբելն ու Քեմբլն առաջարկեցին հետևյալ չափանիշները քրոմոտրիփսիսի և աստիճանաբար կուտակվող ԴՆԹ վերախմբավորումների տարբերակման համար.

1. Քրոմոտրիփսիսի ենթարկված գենոմային պրոֆիլին բնորոշ է ԴՆԹ վնասվածքների կլաստերային պատկերը: Այս կլաստերացումը պայմանավորված է միմյանց մոտ դասավորված քրոմոսոմային լոկուսների վնասվածքներով, որոնց սահմանակցում են ինտակտ քրոմոսոմային մեծ հատվածներ:

2. Քրոմոտրիփսիսի ենթարկված գենոմային որոշ հատվածներում առաջանում են CNV-ներ, սակայն դրանք տատանվում են միայն երկու (հազվադեպ երեք) CNV-ների սահմաններում:

3. Քրոմոտրիփսիսի արդյունքում կարող են դելեցիայի ենթարկվել քրոմոսոմային խոշոր հատվածներ: Դրա արդյունքում քրոմոտրիփսիսային քրոմոսոմներում դիտվում է հետերոզիգոտության կորստի և պահպանման միմյանց հաջորդող հատվածների պատկեր:

4. Քրոմոտրիփսիսն առաջանում է գլխավորապես ծնողական քրոմոսոմներից միայն մեկում:

5. Քրոմոսոմային հատվածները միանում են պատահական հաջորդականությամբ և դիրքով:

6. Քրոմոտրիփսիսից հետո յուրաքանչյուր հատված պահպանվում է կամ ենթարկվում դելեցիայի:

Քրոմոտրիփսիսային ԴՆԹ կտրվածքները սահմանակցում են նաև կետային մուտացիաների կլաստերներին, որոնք կոչվում են կատեգիս (հունարեն՝ kataegis – ամպրոպ): Ենթադրվում է, որ այս կլաստերներն առաջանում են ցիտոզինի դեզամինացման արդյունքում և գլխավորապես հանդիպում են գենոմում կառուցվածքային վերախմբավորումներ կրող լոկուսներին մոտ: Քրոմոտրիփսիսի արդյունքում առաջացող վերախմբավորումների քրոմոսոմային ծագումը բացահայտելու նպատակով կիրառվում է սպեկտրալ կարիոտիպավորում կամ FISH վերլուծությունը: Այս մեթոդները թույլ են տալիս վերլուծել քրոմոսոմային վերախմբավորումները առանձին բջիջների մակարդակում, հետևաբար կարելի է պարզել ուռուցքների հետերոգենության աստիճանը: Հետաքրքիր է, որ քրոմոսոմները տարբերվում են քրոմոտրիփսիսի հաճախականությամբ: 2014 թ. 22.347 քաղցկեղների գենոմների ուսումնասիրության արդյունքում բացահայտվել է, որ առավել հաճախ քրոմոտրիփսիսն առաջանում է #8, #11, #12 և #17 քրոմոսոմներում: Սուր միելոիդ լեյկեմիայի դեպքում քրոմոտրիփսիսը դիտվել է գրեթե բոլոր քրոմոսոմներում, որոնցից առավել հաճախը վնասվում էր 7-րդ քրոմոսոմը:

Քրոմոտրիփսիս կարող է առաջանալ կորիզային գենոմում միկրոկորիզների վերաինտեգրմամբ թելոմերների կարճանալու արդյունքում: Ներկայումս ակտիվորեն ուսումնասիրվում են բազմաթիվ քաղցկեղներ քրոմոտրիփսիսի մոլեկուլային պատճառների բացահայտման նպատակով:

10. Մոլեկուլային գենետիկա

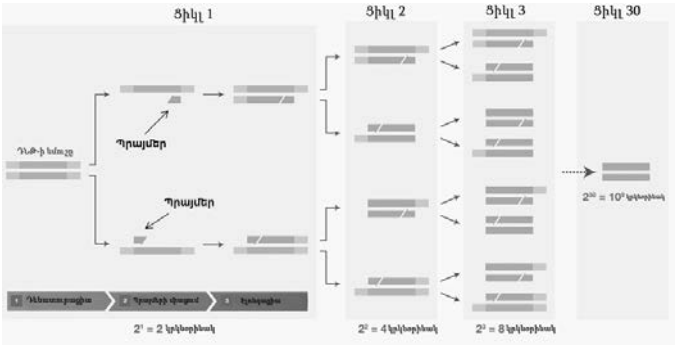
Մոլեկուլային գենետիկայի հիմնական մեթոդներն են՝
- ՊՇՌ (PCR),
- Սաուզերն և նորթերն բլոթ,
- սեքվենավորում,
- չիպերի մեթոդներ:

10.1. Պոլիմերազային շղթայական ռեակցիա

Պոլիմերազային շղթայական ռեակցիան (ՊՇՌ) ԴՆԹ որոշակի հատվածի in vitro ամպլիֆիկացումն է, որը մշակվել է Քերի Մյուլլիսի կողմից 1983 թ., ինչի համար նա 1993 թ. ստացել է Նոբելյան մրցանակ:

Որոշակի ջերմաստիճանային պայմաններում դենատուրացիայի, պրայմերների միացման և ամպլիֆիկացիայի ~30 ցիկլերի կրկնման արդյունքում սինթեզվում է ԴՆԹ համապատասխան հատվածի ~10^9 (2^{30}) կրկնօրինակ (նկար 12): Այստեղ որոշիչ դեր է խաղում ջերմակայուն ԴՆԹ-պոլիմերազ՝ TAQ-պոլիմերազը, որն անջատվել է *Thermus aquaticus* բակտերիայից: ՊՇՌ-ն բաղկացած է 4 հիմնական փուլից.

- ինիցիալիզացիա կամ պոլիմերազի ակտիվացում,
- դենատուրացիա,
- պրայմերների միացում,
- էլոնգացիա:



Նկար 12. ԴՆԹ հետազոտվող հատվածի ամպլիֆիկացում ՊՇՌ-ի միջոցով *(https://www.thermofisher.com)*:

Ինիցիալիզացիայի փուլում տեղի է ունենում պոլիմերազի ակտիվացում 95-98ºC ջերմաստիճանում 1-10 րոպե: Այնուհետև 30-40 ցիկլերի ընթացքում կատարվում է ԴՆԹ դենատուրացում 95-98ºC, 15-30 վայրկյան, պրայմերների միացում՝ 50-64°C, 20-40 վայրկյան և էլոնգացիա կամ սինթեզ՝ 72-80°C: Էլոնգացիայի փուլում տեղի է ունենում պոլիմերազի կողմից ԴՆԹ շղթայի սինթեզ կոմպլեմենտար շղթայի հիման վրա: Բարձր ջերմաստիճանի շնորհիվ նվազում է ոչ սպեցիֆիկ պրայմեր/-մատրիցա փոխազդեցության հավանականությունը: Այս փուլի տևողությունը կախված է նրանից, թե ինչ երկարությամբ ԴՆԹ հատված է անհրաժեշտ ամպլիֆիկացնել: Որպես կանոն, ԴՆԹ-պոլիմերազը կցում է 1.000 նուկլեոտիդ 1 րոպեում: Ցիկլերի ավարտից հետո կատարվում է վերջնական էլոնգացիան 70-74°C (1-10 րոպե) և սառեցումը մինչև 4°C: Ներկայումս մշակվել են այս մեթոդի բազմաթիվ տարբերակներ, որոնք կիրառվում են գիտական և ախտորոշման նպատակներով:

Առաջին մոդիֆիկացիաներից էր ռեստրիկցիոն հատվածների երկարության պոլիմորֆիզմի վերլուծությունը (անգլերեն՝ RFLP – restriction fragment length polymorphism analysis): Այս մոտեցումը կիրառվում է կետային մուտացիաներով պայմանավորված պոլիմորֆիզմների բացահայտման համար: Այդ նպատակով ամպլիֆիկացվում է ԴՆԹ հետաքրքրող հատվածը, որը հետագայում կտրատվում է ռեստրիկցիայի ֆերմենտով: Այն դեպքում, երբ A ալելում առկա է ռեստրիկցիայի ֆերմենտի ճանաչման հատված, որը բացակայում է B ալելում, դրանք կարելի է տարբերակել RFLP ՊՇՌ-ի և հել-էլեկտրոֆորեզի միջոցով: Այս մոտեցումը կիրառվում է, օրինակ, Մագդեբուրգում (Գերմանիա) Դյուշենի մկանային դիստրոֆիայի ախտորոշման համար:

ԴՆԹ հատվածները, որոնց ճշգրիտ ամպլիֆիկացիան բարդ է, ենթարկվում են երկփուլանի կամ ներդրված ՊՇՌ-ի (անգլերեն՝ nested PCR), որի ժամանակ կիրառվում են երկու զույգ պրայմերներ: Առաջին փուլում ամպլիֆիկացվում է հետաքրքրող հաջորդականությունն ընդգրկող ԴՆԹ մեծ հատված: Երկրորդ փուլում կիրառվում է պրայմերների զույգ, որոնք ստացված ամպլիկոնից ամպլիֆիկացնում են անհրաժեշտ ավելի փոքր հատվածը:

Բազմակի կցումից կախյալ զոնդերի ամպլիֆիկացիան (անգլերեն՝ MLPA – Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) համեմատաբար նոր մոտեցում է, որը լայնորեն կիրառվում է գենետիկական ախտորոշման նպատակով: Զուգահեռաբար կարող են կիրառվել տարբեր թի-

րախների համար նախատեսված բազմակի պրայմերներ (5-40 զույգ), որոնք կցված են լինում օլիգոնուկլեոտիդային զոնդին ու ներդիր ԴՆԹ-ին, և ՊՇՌ վերջնական փուլում ձևավորվում է 5-40 ամպլիկոն: Մինչ ՊՇՌ իրականացումը կիսազոնդերի զույգը (~50-75 նզ, երկարությունը կախված է ներդիր ԴՆԹ երկարությունից) հիբրիդիզացվում է ԴՆԹ թիրախ հաջորդականությանը: Կիսազոնդերի զույգը հիբրիդիզացվում է ԴՆԹ-ին այնպես, որ դրանց միջև լինի 1 նուկլեոտիդի չափ բաց հատված: Հիբրիդիզացիայի փուլից հետո իրականացվում է կիսազոնդերի կցում կամ լիգացիա, որի արդյունքում ձևավորվում է 100-150 նզ ունեցող ամբողջական զոնդ, որը պարունակում է R և F պրայմերներին կոմպլեմենտար հաջորդականություններ: Ամպլիֆիկացիան հնարավոր է իրականացնել միայն լիգացիայի և ամբողջական զոնդի ձևավորումից հետո: Ընդ որում, ամպլիֆիկացվում է ոչ թե թիրախ ԴՆԹ-ն, ինչպես ստանդարտ ՊՇՌ-ի դեպքում, այլ ձևավորված զոնդը: Պրայմերներից մեկը կրում է ֆլյուորեսցենտ նիշ, ինչի շնորհիվ ամպլիֆիկացված հատվածները կարող են նույնականացվել կապիլյար էլեկտրոֆորեզի միջոցով: Այսպիսով՝ կարելի է բացահայտել դելեցիաները, դուպլիկացիաները և նույնիսկ կետային մուտացիաները: Երբեմն հնարավոր է կեղծ-դրական արդյունքների ստացում երկալելային ամպլիֆիկացիայի խաթարման դեպքում (անգլերեն՝ allelic dropout), որի ժամանակ մեկ կամ երկու ալելները չեն ամպլիֆիկացվում:

<u>Իրական ժամանակում ՊՇՌ-ն (իժ-ՊՇՌ կամ քանակական ՊՇՌ)</u> նման է ստանդարտ ՊՇՌ-ին, որի դեպքում, սակայն, կարելի է քանակապես հաշվարկել ամպլիֆիկացված ԴՆԹ-ն իրական ժամանակում: Քանակական վերլուծությունն իրականացվում է ՊՇՌ-ի ընթացքում ֆլյուորեսցենցիայի չափման հիման վրա, ինչը կատարվում է ռեակցիայի լոգարիթմական փուլում: Ֆլյուորեսցենցիայի մակարդակն ուղիղ համեմատական է ՊՇՌ արգասիքների քանակին: Արդյունքները ստացվում են ՊՇՌ իրականացման ընթացքում, մինչդեռ ստանդարտ ՊՇՌ-ի դեպքում հետաքրքրող հաջորդականության առկայությունը կամ բացակայությունը փորձանմուշում կարելի է վերլուծել ռեակցիայի ավարտից և ՊՇՌ արգասիքի ժել-էլեկտրոֆորեզից հետո: <u>Իժ-ՊՇՌ</u> արդյունքների գնահատման նպատակով կիրառվում են ֆլյուորեսցենտ նիշավորման երկու հիմնական եղանակներ.

1. ոչ սպեցիֆիկ ֆլյուորեսցենտ ներկեր (օրինակ՝ SYBRGreen), որոնք ինտերկալացվում են ցանկացած երկշղթանի ԴՆԹ մոլեկուլի հետ

(նաև պրայմերների դիմերների): Ներկերը ֆլյուորեսցենտում են միայն ԴՆԹ-ի հետ փոխազդեցության դեպքում, ուստի ԴՆԹ քանակի ավելացումը բարձրացում է ֆլյուորեսցենցիայի ինտենսիվությունը: Յուրաքանչյուր ցիկլից հետո ֆոտոդետեկտորները վերլուծում են ֆլյուորեսցենցիայի ինտենսիվությունը փորձանմուշում:

2. Ուսումնասիրվող ԴՆԹ հաջորդականության համար սպեցիֆիկ և ֆլյուորեսցենտ նիշ կրող օլիգոնուկլեոտիդային զոնդեր, որոնք կարելի է հայտնաբերել միայն իրենց կոմպլեմենտար հատվածի հետ հիբրիդիզացիայի դեպքում: Այս զոնդերի մի ծայրում գտնվում է ֆլյուորեսցենտ նիշը, մինչդեռ հակադարձ ծայրում տեղակայված է ֆլյուորեսցենցիան կլանող մոլեկուլը: *Taq* պոլիմերազի էքզոնուկլեազային ակտիվության շնորհիվ ֆլյուորոքրոմն ու ֆլյուորեսցենցիան կլանող մոլեկուլները միմյանցից հեռացվում են, ինչի հետևանքով ֆոտոդետեկտորները կարողանում են նույնականացնել առաջացած ֆլյուորեսցենցիան: Նման մոտեցումը բազմակի անգամ բարձրացնում է մեթոդի սպեցիֆիկությունը, քանի որ կարելի է կիրառել նաև այլ երկշղթա մոլեկուլների առկայության դեպքում: Տարբեր գույնի ֆլյուորոքրոմների կիրառմամբ կարելի է վերլուծել մի քանի թիրախների ամպլիֆիկացիան:

Իժ-ՊՇՌ-ն լայնորեն կիրառվում է գեների էքսպրեսիայի վերլուծության նպատակով: Այս դեպքում իրականացվում է հետադարձ տրանսկրիպցիայով իժ-ՊՇՌ: Բջջից անջատվում է ՌՆԹ-ն, որից ստանում են կոմպլեմենտար ԴՆԹ-ն (cDNA) հետադարձ տրանսկրիպցիայի միջոցով: Այնուհետև կիրառվում են հետազոտվող ԴՆԹ հատվածի համար սպեցիֆիկ պրայմերներ: ՔՄԼ-ի ռեմիսիայի դեպքում իժ-ՊՇՌ-ն կիրառվում է BCR-ABL օնկոգենի քանակական վերլուծության համար:

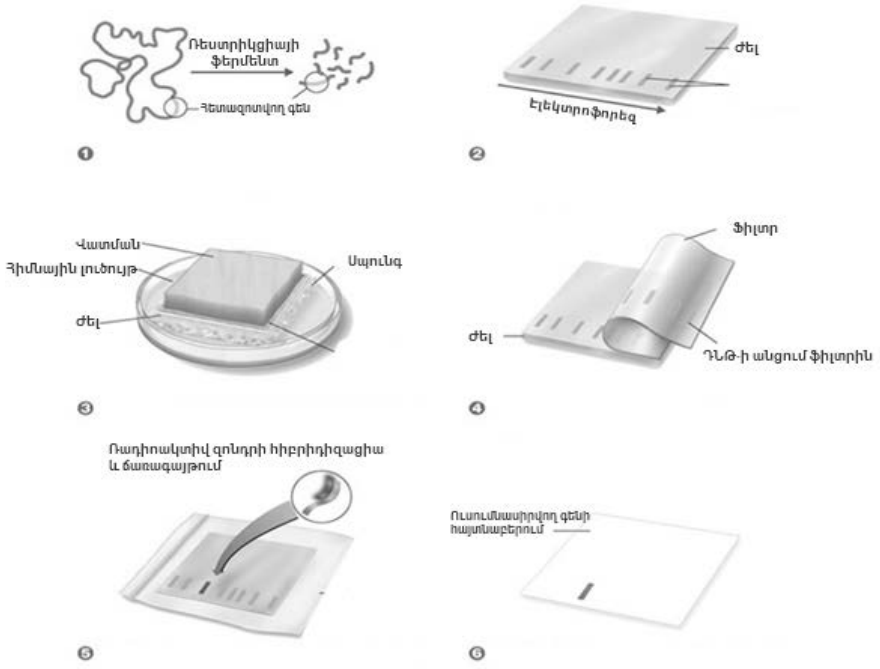
ՊՇՌ-ն կիրառվում է միկրոսատելիտային վերլուծության ժամանակ: Միկրոսատելիտները կազմում են մարդու գենոմի 0.2-0.5 %-ը (առավել հաճախ՝ (CA)n երկնուկլեոտիդային կրկնողություններ) և խիստ փոփոխական են տարբեր մարդկանց, նույնիսկ հոմոլոգ քրոմոսոմների միջև: Մարդու գենոմում երկնուկլեոտիդային միկրոսատելիտային հաջորդականությունները կազմում են 50.000-100.000 նուկլեոտիդ: Միկրոսատելիտային վերլուծությունը կիրառվում է հայրության թեստավորման և ՄԾԴ հայտնաբերման համար, ինչպես նաև դատաբժշկական փորձաքննության, հյուսվածքների փոխպատվաստման, գեների քարտեզավորման և այլ նպատակներով:

Թվային ՊՇՌ-ն կիրառվում է «հեղուկ բիոպտատի» վերլուծության համար: Թվային ՊՇՌ-ն ԴՆԹ քանակական վերլուծության ավելի ճշգրիտ և վերարտադրելի մեթոդ է՝ համեմատած իժ-ՊՇՌ-ի հետ: Ստանդարտ ՊՇՌ-ի ժամանակ ռեակցիան տեղի է ունենում նմուշի ամբողջ ծավալում, մինչդեռ թվային ՊՇՌ-ի դեպքում ուսումնասիրվող նմուշը բաշխվում է նանոկաթիլների, և ռեակցիան տեղի է ունենում դրանցից յուրաքանչյուրում: Ընդ որում, գենետիկական նյութը բաշխվում է պատահական սկզբունքով. նանոկաթիլներում առկա են լինում ԴՆԹ թիրախային և ոչ թիրախային հատվածները: Քանի որ ՊՇՌ-ն ընթանում է այն նանոկաթիլներում, որտեղ առկա է ուսումնասիրվող ԴՆԹ հատվածը, նմուշի նոսրացումը նպաստում է կողմնակի ազդանշանների նվազմանը (բարձրանում է իրական ազդանշան/կեղծ ազդանշան հարաբերակցությունը): Այս մեթոդը թույլ է տալիս հայտնաբերել ԴՆԹ նվազագույն քանակները, որոնք անհնարին է բացահայտել այլ մեթոդներով: Թվային ՊՇՌ-ն հաճախ կիրառվում է հաջորդ սերնդի սեքվենավորման նպատակով նմուշների ամպլիֆիկացիայի, ԴՆԹ կրկնողությունների թվի, հազվադեպ հանդիպող մուտացիաների կամ ալելների վերլուծության նպատակով:

10.2. Բլոթինգ

Բլոթինգը կրիչի (նիտրոցելյուլոզային կամ նեյլոնային մեմբրան) վրա սպիտակուցների, ԴՆԹ կամ ՌՆԹ տեղափոխման մեթոդն է: Որպես կանոն, կատարվում է ժել-էլեկտրոֆորեզից հետո ժելից բլոթինգային մեմբրանի վրա նմուշների տեղափոխման նպատակով: Բլոթինգից հետո տեղափոխված նմուշները կարելի է վիզուալիզացնել տարբեր մեթոդներով:

Սաուզերն բլոթինգը մշակվել է 1975 թ. անգլիացի գիտնական Էդվին Մելլոր Սաուզերնի կողմից: Մեթոդի իրականացման համար բջջից անջատվում է կորիզային ԴՆԹ-ն և կտրատվում ռեստրիկցիայի ֆերմենտներով: Կտրատված ԴՆԹ-ն ենթարկվում է ժել-էլեկտրոֆորեզի, դենատուրացվում հիմնային պայմաններում, որից հետո կատարվում է բլոթինգ նիտրոցելյուլոզային մեմբրանի վրա: Նախկինում կիրառվում էին ռադիոակտիվ ԴՆԹ-զոնդեր մեմբրանին հիբրիդիզացնելու նպատակով (նկար 13):



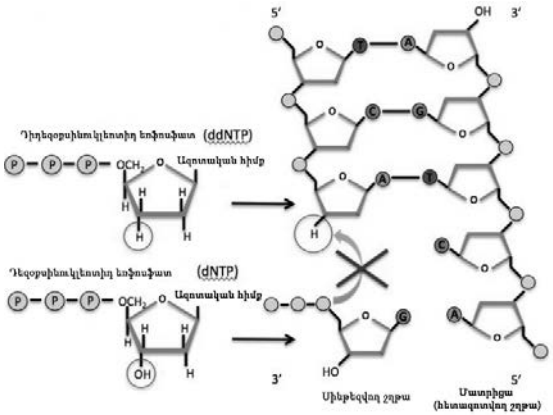
Նկար 13. Սաուզերն բլոթինգի սխեման (*https://www.biologyexams4u.com/2013*):

Ներկայումս բլոթինգի վերլուծությունն իրականացվում է ոչ ռադիոակտիվ զոնդերի կիրառմամբ: Այսպես կարելի է հայտնաբերել ալելային տարբերակները, ներառյալ կետային մուտացիաները, քանի որ դրանք ունենում են տարբեր չափ և առանձնանում են էլեկտրոֆորեզի ժամանակ: Ներկայումս Սաուզերն բլոթինգը հազվադեպ է կիրառվում ախտորոշման նպատակով:

Նշված մեթոդի մոդիֆիկացիան, որը թույլ է տալիս ԴՆԹ-ի փոխարեն հայտնաբերել *ՌՆԹ*-ի մոլեկուլները, կոչվում է *նորթերն* բլոթինգ, իսկ *սպիտակուցների* հայտնաբերման ժամանակ կիրառվող մեթոդը՝ *վեսթերն* բլոթինգ: Ներկայումս մշակվել են *խթերն* և *սաութվեսթերն* բլոթինգի մեթոդները, որոնք համապատասխանաբար կիրառվում են *սպիտակուցների հետտրանսլյացիոն վերլուծության* և *ԴՆԹ-ի հետ կապված սպիտակուցների* բացահայտման նպատակով:

10.3. ԴՆԹ սեքվենավորում

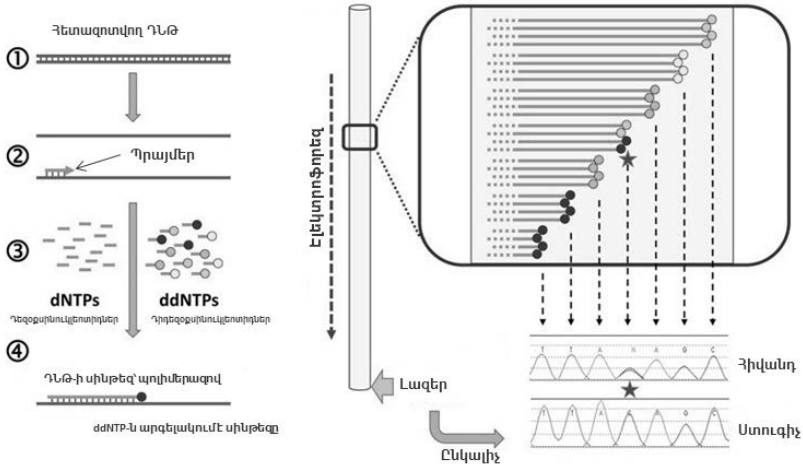
ԴՆԹ սեքվենավորումը հետազոտվող ԴՆԹ մոլեկուլի նուկլեոտիդային հաջորդականության վերլուծությունն է: Սեքվենավորումն իրականացվում է ըստ Սենգերի մեթոդի և կամ հաջորդ սերնդի սեքվենավորմամբ: Սենգերի սեքվենավորումը կատարվում է շղթայի տերմինացիայով և թույլ է տալիս վերլուծել մինչև 500 նուկլեոտիդ մեկ ընթերցմամբ: Այս նպատակով կիրառվում են դիդեզօքսինուկլեոտիդ տրիֆոսֆատներ (ddNTP - ddATP, ddGTP, ddCTP կամ ddTTP), որոնք չունեն 3′-OH ծայրեր, ինչի հետևանքով ԴՆԹ-պոլիմերազը չի կարողանում միացնել հաջորդ նուկլեոտիդը և ԴՆԹ շղթայի սինթեզն ավարտվում է (նկար 14):



Նկար 14. Դիդեզօքսինուկլեոտիդի միացումը ԴՆԹ-ին և ռեակցիայի արգելակման գծապատկեր (*Rachel Ann McGovern, 2015*):

Ավտոմատացված սեքվենավորման ընթացքում նուկլեոտիդների նույնականացման համար ddNTP-ներին կցվում են ֆլյուորոքրոմներ կամ ռադիակտիվ նիշեր: Հետազոտվող ԴՆԹ նմուշը բաժանվում է չորս առանձին ռեակցիաների համար նախատեսված փորձանոթներում, որոնցից յուրաքանչյուրը պարունակում է ԴՆԹ-պոլիմերազ, դեզօքսինուկլեոտիդներ և ddNTP-ներից որևիցե մեկը: Որպես կանոն, ddNTP-ների կոնցենտրացիան 100 անգամ ավելի ցածր է լինում՝ համեմատած համապատասխան դեզօքսինուկլեոտիդների հետ: Առաջացած ԴՆԹ հատվածներն ենթարկվում են ջերմային դենատուրացման և բաժան-

վում էլեկտրոֆորեզի ժելում՝ իրենց չափերին համապատասխան (նկար 15):



Նկար 15. ԴՆԹ սեքվենավորումն ըստ Սենգերի (*Essays in Biochemistry. 2018;62(5):643-723*):

Հաջորդ սերնդի սեքվենավորումը թույլ է տալիս ընթերցել մի քանի գենոմներ միևնույն փորձի ընթացքում, սակայն ընթերցվում են ԴՆԹ կարճ հատվածներ (մինչև 50 նուկլեոտիդ): Հաջորդ սերնդի սեքվենավորման նպատակով ամբողջական գենոմը կտրատվում է փոքր հատվածների, որոնք վերլուծվում են զուգահեռաբար, ինչը զգալիորեն բարձրացնում է մեթոդի արդյունավետությունը: Հաջորդ սերնդի սեքվենավորումը ավելի մատչելի մոտեցում է մեծ թվով գեների սեքվենավորման ժամանակ՝ համեմատած Սենգերի մեթոդով սեքվենավորման հետ: Հաջորդ սերնդի սեքվենավորումը լայնորեն կիրառվում է տարբեր հիվանդությունների գենետիկական ախտորոշման նպատակով:

- Գեների խմբային սեքվենավորում (panel sequencing)

Այս մեթոդի կիրառմամբ, կախված առաջադրված խնդրից, սեքվենավորման պանելների միջոցով զուգահեռաբար վերլուծվում են տասնյակ կամ հարյուրավոր գեներ: Սեքվենավորման այսպիսի մոտեցումը խիստ արդյունավետ է հիվանդության հետ կապված ԴՆԹ հաջորդականությունների բացահայտման համար: Նման հաջորդականություններ կարելի է բացահայտել նաև ամբողջական գենոմի կամ էքզոմի սեքվենավորման միջոցով, սակայն դրանք բավարար չեն, եթե.

- անհրաժեշտ է կատարել բարձր խորությամբ (բազմակի ընթերցմամբ) սեքվենավորում,
- գեներում, ինտրոններում կամ ինտրոն/էքզոն սահմանային հատվածներում հանդիպում են SNP-եր, որոնց հայտնաբերման համար էքզոնային զոնդեր չեն մշակված,
- անհրաժեշտ է լինում գեների խմբերում հայտնաբերել տարատեսակներ,
- թիրախը առանձին գեներ են, այլ ոչ թե ամբողջ էքզոմը,
- ԴՆԹ փոփոխությունները հաճախ գտնվում են ամբողջական էքզոմի սեքվենավորման թիրախից դուրս, և այս մոտեցումը դառնում է ոչ կիրառելի առանձին գեների կամ դրանց խմբերի հավաստի սեքվենավորման համար:

Օրինակ՝ Յենայում (Գերմանիա) կրծքագեղձի քաղցկեղով հիվանդների գենետիկական ախտորոշման նպատակով սեքվենավորվում են 45 գեներ: Որպես կանոն, քաղցկեղների սեքվենավորման համար նախատեսված պանելները ներառում են ~3000 գեն:

- Ոչ ինվազիվ պրենատալ ախտորոշում

Ոչ ինվազիվ պրենատալ ախտորոշումն իրականացվում է հաջորդ սերնդի սեքվենավորման միջոցով, որի ժամանակ հետազոտվում է մոր արյան մեջ ազատ սաղմնային ԴՆԹ-ն (ընկերքի բջիջների ԴՆԹ-ն) (Գլուխ 6.2.):

Երբեմն այս մեթոդի կիրառմամբ պատահականության սկզբունքով բացահայտվում են մոր մոտ ուռուցքների առկայությունը, ինչի հիման վրա ստեղծվել է «հեղուկ բիոփսիայի» մեթոդը:

- Հեղուկ բիոփսիա

Չնայած նրան, որ ազատ ուռուցքային ԴՆԹ-ն մարդու արյան պլազմայում բացահայտվել էր դեռևս 1977 թ., դրա նշանակությունն ախտորոշման համար ցույց է տրվել 2015 թ.: Շրջանառվող ԴՆԹ-ն 160-200 նգ ունեցող ԴՆԹ հատվածներ են, որոնք սկիզբ են առնում ապոպտոզով մահացող բջիջներից:

Հեղուկ բիոփսիայի մեթոդը կիրառվում է քաղցկեղի առաջնային ախտորոշման համար, եթե ուռուցքային հյուսվածքի նմուշառումն անհնարին է քաղցկեղի բուժման էֆեկտիվության գնահատման և ռիսկային խմբերի սքրինինգի նպատակով (Լինչի համախտանիշ, *BRCA1/2*

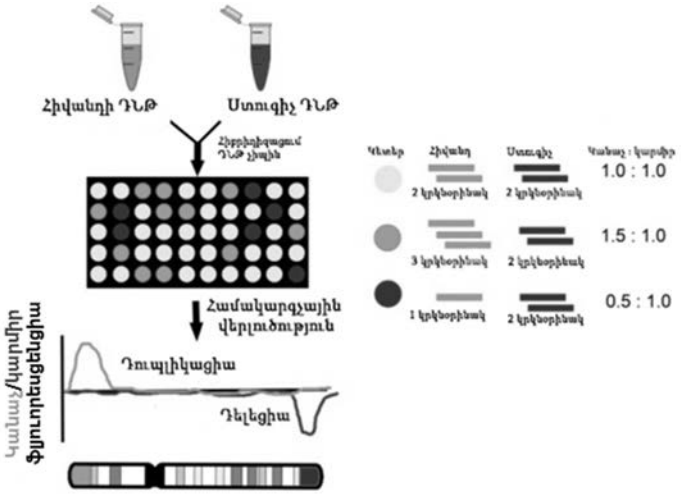
գեներում մուտացիա կրողները), սրտամկանի վնասվածքների դեպքում (շրջանառվող էնդոթելային բջիջներ), ինչպես նաև նախածննդային ախտորոշման նպատակով: Աթերոսկլերոզի դեպքում կենսամարկեր է արյան մեջ պրոտոպորֆիրին IX գործոնը: Հեղուկ բիոփսիայի ճանապարհով կարելի է հայտնաբերել ուռուցքներում տեղի ունեցող վաղ փոփոխությունները, որոնք տեսանկարահանող մեթոդների կիրառման հնարավոր կլիներ բացահայտել ամիսներ և նույնիսկ տարիներ անց: Հետևաբար կարելի է հայտնաբերել ուռուցքները դրանց զարգացման վաղ փուլերում, կատարել մշտադիտարկում և ժամանակին բացահայտել ռեզիստենտության մուտացիաները:

Արյան մեջ շրջանառվող ԴՆԹ քանակը կորելացվում է ուռուցքային բջիջների պրոլիֆերացիայի ու ապոպտոզի հետ և տատանվում տարբեր ուռուցքների դեպքում:

Շրջանառվող ուռուցքային ԴՆԹ քանակը կարող է տատանվել 0.01-90 %-ի սահմաններում, կարելի է հայտնաբերել քաղցկեղների նախնական զարգացման 50 % և մետաստազավորվող քաղցկեղների 100 % դեպքերում: Հեղուկ բիոփսիայի մեթոդը բավականին ճշգրիտ մոտեցում է և թույլ է տալիս ամբողջությամբ վերլուծել քաղցկեղի հետերոգեն գենոտիպը մեկ փորձում (տե՛ս, օրինակ, *J Thorac Dis. 2018, 10(Suppl 14):S1645-S1651; Digestion. 2019,99:39-45*):

10.4. ԴՆԹ-չիպերի մեթոդներ

Չիպ-ՀԳՀ մեթոդի էութունը բացատրվել է Գլուխ 8-ում: Մշակվել են չիպ-ՀԳՀ մի շարք տարբերակներ՝ հիմնված օլիգոնուկլեոտիդների կամ սնիփերի վրա: Երկու մոտեցումներն էլ թույլ են տալիս վերլուծել ԴՆԹ կրկնողությունների թվի փոփոխությունները՝ CNV-ները (անգլերեն՝ copy number variation): Չիպ-ՀԳՀ մշակումից հետո գրեթե բոլոր հիվանդների նմուշներում հայտնաբերվեցին CNV-ների բազմաթիվ տարբերակներ: Մեթոդի էությունը հակիրճ ներկայացված է նկար 16-ում: Պարզվեց, որ այս փոփոխությունների մի մասը գենետիկական պոլիմորֆիզմի պատճառ է, ինչի հիման վրա CNV-ները դասակարգվում են երեք խմբում՝ 1. հիվանդություն առաջացնող, 2. անհայտ նշանակության տարբերակ և 3. բարորակ կամ ոչ պաթոգեն:



Նկար 16. Չիպ-ՀԳՀ մեթոդի սկզբունքը: Հիվանդի և առողջ ստուգիչի բջիջներից անջատված ԴՆԹ-ները ներկվում են կանաչ և կարմիր ֆլյուորոքրոմներով, խառնվում միմյանց հավասար քանակով և հիբրիդիզացվում ԴՆԹ-չիպին: CNV-ները հայտնաբերվում են կանաչ և կարմիր ֆլյուորեսցենցիայի մակարդակների տարբերությունների հիման վրա (*J Clin Med. 2014; 3(2):663-78*):

2500 առողջ մարդկանց մոտ ուսումնասիրության արդյունքում յուրաքանչյուր անձի մոտ բացահայտվել են ~540 կնզ ընդհանուր երկարությամբ CNV հաջորդականություններ.

- 65-80 %-ի մոտ CNV >100 կնզ,
- 5-10 %-ի մոտ CNV >500 կնզ,
- 1 %-ի մոտCNV ~1Մնզ:

(*Am J Hum Genet 2009;84:148-161*)

Քաղցկեղով ավելի քան 3400 հիվանդների 23.082 գեներում CNV-ների վերլուծության հիման վրա մշակվել է համակարգչային վերլուծության մոտեցում, որը թույլ է տալիս 75 % ճշգրտությամբ նույնականացնել քաղցկեղի տարբեր տեսակներ (կրծքագեղձի, հաստ և ուղիղ աղիքի, գլիոբլաստոմա, երիկամների, ձվարանների, էնդոմետրիալ քաղցկեղներ)՝ հիմնվելով դրանցում 19 գեների CNV-ների հաճախականության վրա (*Biochim. Biophys. Acta 2016, 1860(11):Part B, 2750-2755*):

10.5. Մոլեկուլային-գենետիկական ախտորոշում

Յուրաքանչյուր տիպի մոլեկուլային ախտորոշում կարելի է բաժանել երկու խմբի՝ անուղղակի և ուղղակի:

Անուղղակի մոտեցումները կիրառվում են, երբ հիվանդության պատճառ հանդիսացող գենն անհայտ է, կամ դրա չափը խիստ մեծ է վերլուծության համար: Այդ նպատակով ուսումնասիրվում են մարկերները: Մարկերները ԴՆԹ այնպիսի հատվածներ են, որոնք գրեթե միշտ տեղակայված են լինում հիվանդության պատճառ հանդիսացող գենին մոտ: Այս դեպքում հաճախ կիրառվում է տոհմաբանական մեթոդը: Եթե մարկերները գտնվում են համապատասխան գենին մոտ, ապա ժառանգվում են միասին և կոչվում են շղթայակցված: Եթե ուսումնասիրվող անհատը կրում է շղթայակցված մարկերները, ապա խիստ հավանական է, որ կունենա նաև հիվանդության պատճառ հանդիսացող գենը: Այս հետազոտությունները հաճախ կոչվում են նաև շղթայակցման կամ գենետիկական քարտեզավորման ուսումնասիրություններ: Մշակվել են ԴՆԹ-զոնդեր, որոնք կիրառվում են անուղղակի ախտորոշման նպատակով: Հետաքրքիր է, որ քանի դեռ հիվանդության պատճառ հանդիսացող գենը հայտնի չէ, այդպիսի «մարկերները» կարող են տեղակայվել հետաքրքրող գենում: Ներկայումս այս մոտեցումը հազվադեպ է կիրառվում:

Ուղղակի մոտեցումները, որոնք կիրառվում են մոնոգեն հիվանդությունների մեծ մասի դեպքում, թույլ են տալիս ուսումնասիրել համապատասխան գենը կամ տվյալ գենի մուտացիան:

Այս մոտեցման օրինակ է յուրաքանչյուր ախտորոշման տեսակը, որի դեպքում վերլուծվում են հիվանդությունը պայմանավորող գեները, ներառյալ միկրոդելեցիաների/-դուպլիկացիաների համախտանիշները, որոնք հիմնված են գեների դոզայի վրա:

11. Միկրոդելեցիաների և միկրոդուպլիկացիաների համախտանիշներ

Գենոմային հիվանդությունները կամ միկրոդելեցիաների ու միկրոդուպլիկացիաների համախտանիշները (ՄԴԴ) հիվանդությունների մի խումբ է, որը տարբերվում է «Մենդելյան հիվանդություններից», քանի որ պայմանավորված է ոչ թե կետային մուտացիաներով, այլ ավելի մեծ՝ գենոմային փոփոխություններով: Նախկինում այս հիվանդությունները կոչվում էին ‹‹հարակից գենային համախտանիշներ››, որոնք գլխավորապես հանդիպում էին մտավոր հետամնացությամբ հիվանդների մոտ *(J Histochem Cytochem. 2012, 60(5):346-58*): Այս հիվանդություններն առաջանում են CNV-ների պատճառով, որոնք քրոմոսոմային բենդավորման միջոցով անհնարին է տեսնել: Դրանց չափերը տատանվում են 0.5-5 Մնզ սահմաններում, հետևաբար ենթամանրադիտակային բջջագենետիկական փոփոխություններ են: Ենթադրվում էր, որ միկրոդելեցիաների ու միկրոդուպլիկացիաների համախտանիշների պատճառ հանդիսացող գեներից միայն մեկն է դոզայից կախված և պայմանավորում հիվանդությանը բնորոշ ախտանիշների առաջացումը:

Ներկայումս նկարագրված են ~200 միկրոդելեցիաների և ~80 միկրոդուպլիկացիաների համախտանիշներ: Տեսականորեն յուրաքանչյուր միկրոդելեցիոն համախտանիշի դեպքում պետք է լինի համապատասխան հետադարձ՝ միկրոդուպլիկացիայի համախտանիշ: Ուստի պետք է լինեին 120 այլ միկրոդուպլիկացիայի համախտանիշներ: Ցույց է տրված, որ մարդու գենոմում դելեցիաներն ունենում են ավելի բացասական էֆեկտներ, քան դուպլիկացիաները: Հետևաբար պոպուլյացիայում առկա են անհատներ, որոնք կրում են 120 տարբեր տիպի միկրոդուպլիկացիաներ, սակայն կլինիկական նշաններ չունեն կամ դրանք թույլ են դրսևորված: Նման երևույթ դիտվում է նաև քրոմոսոմային մակարդակում. տրիսոմիաները կամ երկրորդական մարկերային քրոմոսոմներն ավելի հաճախ են հանդիպում, մինչդեռ աուտոսոմ քրոմոսոմների դելեցիաները հանգեցնում են բջջի/զիգոտի մահվան:

Միկրոդելեցիաների և միկրոդուպլիկացիաների համախտանիշները գլխավորապես ախտորոշվում են մոլեկուլային բջջագենետիկայի մեթոդների կիրառմամբ: Այս մուտացիաներն առավել հաճախ հանդիպում են 7q11.23, 15q11–q13, 16p11.2, 17p11.2, և 22q11.2 լոկուսներում և առա-

ջանում են քրոմոսոմների որոշակի հատվածներում, որոնք կոչվում են «hot spots»:

ՄԴԴ առաջացումը

ՄԴԴ-ները կարող են առաջանալ տարբեր մեխանիզմներով.

(1) Մարդու գենոմում՝ մի քանի տասնյակ հազար հաջորդականություն մեկ ԴՆԹ որոշ հատվածներ (0.5-5 Մնզ) սահմանակցում են հոմոլոգ, փոքր թվով կրկնողություններ ունեցող յուրօրինակ հաջորդականություններին: Սահմանակցող հաջորդականությունները մեյոզի ընթացքում անհավասարաչափ քրոսինգօվերի համար թիրախներ են: Ենթադրվում է, որ նման կառուցվածքն ընկած է էվոլյուցիայի և պոլիմորֆիզմների հիմքում:

Այդպիսի հաջորդականություններին սահմանակցող ~200 ԴՆԹ հատվածներ ներառում են դոզայից կախված գեներ: Հետաքրքիր է, որ մարդու գեների մեծ մասը կախված չէ դոզայից, ուստի հանդիպում են միայն ~200 ԴՆԹ հատվածներ, որոնք հանգեցնում են ՄԴԴ-ների առաջացմանը:

(2) ՄԴԴ-ն կարող է առաջանալ ոչ հոմոլոգ տեղամասերի չհավասարակշռված քրոսինգօվերի հետևանքով, որը հաճախ տեղի է ունենում միևնույն գեների ընտանիքների ԴՆԹ հատվածների միջև: Այդպիսի օրինակ է հոտառական ընկալիչի գեների ընտանիքը, որը մասնակցում է Վոլֆ-Հիրշհորնի համախտանիշի զարգացմանը:

(3) Ծնողական քրոմոսոմներում սուբմանրադիտակային ինվերսիաների պատճառով մեյոզի ընթացքում կարող են առաջանալ ինվերսիոն օղակներ մինչև 20 % դեպքերում (*Mol Cytogenet 2018,11:20*):

Հետաքրքիր է, որ ՄԴԴ-ով տառապող հիվանդների ~40 %-ի մոտ հայտնաբերվում են CNV-ներ, որոնք առկա են նաև առողջ ծնողներից մեկի մոտ: Գոյություն ունեն մի քանի հիպոթեզներ, որոնք բացատրում են այս երևույթը:

- Սիկրոդելեցիա կրող քրոմոսոմային տեղամասին համապատասխան հոմոլոգ քրոմոսոմում հիվանդությունը պայմանավորող գենը կարող է ենթարկվել մուտացիայի:

- Երկու մուտացիաների մոդելը ենթադրում է, որ հիվանդը կրում է երկու՝ հայրական և մայրական CNV-ներ, մինչդեռ ծնողներից յուրաքանչյուրը կրում է մեկական CNV: Քանի որ երեխայի մոտ առկա են երկու CNV-ները, այդ պատճառով ախտաբանական նշանները դրսևորվում են:
- Քանի որ բազմաթիվ գեներ էքսպրեսիայի են ենթարկվում մոնո-գենային կամ դիգենային մեխանիզմով, ապա գեների տվյալ հավաքը (Գլուխ 17, մոնոալելային էքսպրեսիա) կարող է ունենալ դրական ազդեցություն ծնողական օրգանիզմի համար, սակայն հակադարձ կերպով դրսևորվել հիվանդ սերնդի մոտ:
- Ծնողական առանձնյակը կարող է ունենալ դելեցիա կամ դուպլիկացիա, սակայն մոզաիկության պատճառով ախտանիշները թույլ են կամ ընդհանրապես չեն դրսևորվում:

Միկրոդելեցիաների համախտանիշների օրինակներ են.

- Վոլֆ-Հիրշհորնի համախտանիշ՝ del(4p16.3):
- Cri Du Chat համախտանիշ՝ del(5p15.2-p15.3):
- Վիլյամսի համախտանիշ՝ del(7q11.23):
- Անգելմանի/Պրադեր Վիլիի համախտանիշ՝ del(15q11–q13):
- Ռուբինշտեյն-Թեյբիի համախտանիշ՝ del(16p13.3):
- Սիլվեր-Դիկերի համախտանիշ՝ del(17p13.3):
- Սմիթ-Մագենիսի համախտանիշ՝ del(17p11.2):
- Ժառանգական նեյրոպաթիա՝ del(17p11.2):
- ԴիՋորջի (CATCH 22) համախտանիշ՝ del(22q11 .2):
- X շղթայակցված իխթիոզ՝ del(Xp22.3):
- Կալմանի համախտանիշ՝ del(Xp22.3):

ԴիՋորջի համախտանիշի օրինակ ավելի մանրամասն

ԴիՋորջի համախտանիշն առավել հաճախ հանդիպող միկրոդելեցիոն հիվանդություն է, որի հաճախականությունը պոպուլյացիայում կազմում է ~1:4.000: Նախկինում այս հիվանդությունը կոչվում էր CATCH22 (**C**ardiac abnormality, **A**bnormal face, **T**hymes aplasia, **C**left palate, **H**ypocalcemia/**H**ypoparathyroidism), քանի որ հիվանդների մոտ դիտվում են սրտի արատ, դիմային արատներ, ուրցագեղձի զարգացման խաթարում, վերին շրթունքի երկատում, հիպոկալցեմիա, հիպոպարաթիրոիդիզմ, որոնք առաջանում են 22q11.2 քրոմոսոմային տեղամասում ~3 Մնզ դելեցիայի հետևանքով: Այս տեղամասում գտնվում են 30-40 գեներ,

որոնց դելեցիան մեկ քրոմոսոմում հանգեցնում է համախտանիշի զարգացմանը:

Քանի որ CATCH22-ն ԱՄՆ-ում ասոցացվում է նաև համանուն պատերազմական ֆիլմի և անելանելի իրավիճակի հետ, այս տերմինն այլևս չի կիրառվում հիվանդության ախտորոշման ժամանակ:

Կալմանի համախտանիշի օրինակն ավելի մանրամասն

Կալմանի համախտանիշը հազվադեպ հանդիպող հիվանդություն է, որի հաճախականությունը տղամարդկանց մոտ կազմում է 1:30.000, իսկ կանանց մոտ՝ 1:120.000: Հիվանդներին բնորոշ է հիպոգոնադոտրոպ հիպոգոնադիզմ, որի դեպքում դիտվում է անպտղություն հիպոթալամուսի կամ հիպոֆիզի կողմից սեռական զարգացումը կարգավորող հորմոնների թերարտադրության հետևանքով: Կալմանի համախտանիշով տառապող հիվանդների մոտ դիտվում է նաև հոտառության խաթարում՝ հիպոսմիա, ինչով առանձնանում են հիպոգոնադոտրոպ հիպոգոնադիզմի այլ դեպքերից: Հիվանդությունն առավել հաճախ առաջանում է X քրոմոսոմում տեղակայված *ANOS1* գենի մուտացիայի արդյունքում, որի հետևանքով չեն զարգանում հոտառական սոխուկները, ինչպես նաև խաթարվում է գոնադոտրոպին-ձերբազատող հորմոնի արտադրությունը:

12. Գեների հայտնաբերում և նկարագրում

Մարդու գենոմի սեքվենավորման ծրագրի ավարտից հետո հնարավոր դարձավ քարտեզավորել մարդու գեները: Սակայն գեների դասավորության մասին տեղեկատվությունը թույլ չի տալիս պարզել դրանց (մասնակիորեն) վնասման հետևանքները:

Մարդու գենոմն ունի բավականին մեծ չափ. այն կազմված է ~$3x10^9$ նգ, ունի ~$3x10^6$ սնիփեր և 1.9-$2.2x10^4$ սպիտակուց կողավորող գեներ: Այսքան քիչ թվով գեները բավական են մարդու պես բարդ օրգանիզմի համար, քանի որ մեկ գենը կարող է հիմք ծառայել մեկից մինչև հարյուրավոր մոլեկուլային հատկանիշների ձևավորման համար (ՌՆԹ-ն և սպիտակուցները կարող են ենթարկվել տարբեր տիպի պրոցեսինգի տրանսկրիպցիայից և տրանսլյացիայից հետո): ԴՆԹ այն հատվածները, որոնք սպիտակուց չեն կողավորում, կոչվում էին «ոչ պիտանի ԴՆԹ», որի ենթադրյալ դերը գեների պաշտպանությունն էր գենաթունային գործոններից, օրինակ՝ ճառագայթումից: Ներկայումս դա արդիական չէ, քանի որ բացահայտվել է, օրինակ, փսևդոգեների կարգավորիչ նշանակությունը, ինչպես նաև ցույց է տրվել, որ կորիզային ԴՆԹ-ի մեծ մասը տրանսկրիպցիայի է ենթարկվում ՌՆԹ տեսքով: Հետաքրքիր է, որ փսևդոգեները կարևոր կարգավորիչ նշանակություն ունեն նաև քաղցկեղային բջիջներում (*Oncotarget 2016; 7:28724-28735*): ԴՆԹ ցանկացած հատվածից տրանսկրիպցվող ՌՆԹ-ն կտրատվում է, և պրոցեսինգի արդյունքում ձևավորվում են փոքր ՌՆԹ-ներ, որոնք կարգավորում են մի շարք բջջային գործընթացներ (*Curr Pharm Des 2015, 21:5017-5028*; *Carcinogenesis 2017, 38:485-491*; *Genes (Basel) 2017; 8:E366*):

Դիտարկենք գեների բացահայտման «ավանդական» մոտեցումները:

- Գլխավորապես կիրառվում էր <u>Սենգերի սեքվենավորումը:</u> Գենոմը կտրատվում էր միլիոնավոր հատվածների, որոնք կլոնավորվում էին և առանձին-առանձին սեքվենավորվում (<u>shot gun-մեթոդ</u>): Այնուհետև գենոմը վերակառուցվում էր վերածածկվող հատվածների միացմամբ կամ վերախմբավորմամբ: Այս նույն մոտեցումը կիրառվում է հաջորդ սերնդի սեքվենավորման ժամանակ, սակայն բացակայում է կլոնավորման փուլը, ինչպես նաև մշակվել են ավելի արդյունավետ համա-

կարգչային ծրագրեր տվյալների ստացման և վերլուծության համար: Երկու դեպքում էլ առկա է գենոմի կրկնվող հատվածների տեղայնացման խնդիր:

- ՌՆԹ մակարդակում վերլուծության իրականացումը գեների հայտնաբերման համար ավելի պարզ մոտեցում է, քանի որ գեներից տրանսկրիպցվող ՌՆԹ-ներն ունենում են պոլիադենիլացված պոչեր: Այսպիսի ՌՆԹ-ները թիրախավորվում էին և հետադարձ տրանսկրիպցիայի միջոցով ստանում համապատասխան ԴՆԹ հաջորդականությունը: Այս մոտեցման թերությունն այն է, որ ՌՆԹ-ն անկայուն է, և հաճախ հայտնաբերվում են միայն գեների հատվածները, որոնք կոչվում են էքսպրեսվող հաջորդականությունների նիշեր:

- Հայտնաբերված գեների ֆիզիկական քարտեզավորումը մեծ խնդիր էր մինչև «Մարդու գենոմ» ծրագիրը: Կարելի էր հայտնաբերել և նկարագրել գեները, սակայն գենոմում դրա ֆիզիկական տեղն անհնարին էր որոշել: Գեները հայտնաբերվում էին կամ էքսպրեսվող հաջորդականությունների նիշերով կամ էլ ամբողջությամբ կտրատված գենոմի վերլուծությամբ: Ուստի FISH մեթոդի մշակումը կարևոր ձեռքբերում էր քրոմոսոմներում գեների քարտեզավորման համար:

- Գենոմում գեների դիրքը որոշելու մեկ այլ մոտեցում էր մեյոզում ռեկոմբինացիաների կամ քրոսինգօվերի վերլուծությունը: Այս մոտեցումն առաջին անգամ մշակվել է Թոմաս Մորգանի կողմից *Drosophila* պտղաճանճի գեների քարտեզավորման համար: Դրա հիմքում ընկած է այն, որ (1) քրոսինգօվերն առաջանում է միևնույն քրոմոսոմային զույգի միջև, այլ ոչ թե տարբեր և (2) որքան ավելի մոտ են քրոմոսոմում տեղակայված գեները, այնքան ավելի պակաս է դրանց քրոսինգօվերի հավանականությունը (ժառանգվում են միասին): Այս մեթոդի կիրառմամբ հնարավոր է պարզել գեների մոտավոր հեռավորությունը միմյանցից և դրանց հաջորդականությունը քրոմոսոմում: Գեների միջև հեռավորությունը նշում էին սանտիմորգանիտով (սՄ), որի երկարությունը կազմում է 1 Մնզ: Սակայն այս չափումը ճշգրիտ չէ ամբողջ գենոմի դեպքում, քանի որ քրոսինգօվերն առավել հավանական է ԴՆԹ կրկնվող հատվածների միջև: Եթե գեների միջև հեռավորությունը կազմում է 1 սՄ, ապա մեկ սերնդում քրոսինգօվերով միմյանցից անջատ ժառանգվելու հավանականությունը կազմում է 1 %: Այսպիսի քարտեզները կոչվում են գենետիկական քարտեզներ, որոնք թույլ են տալիս մոտավոր պատկերացում

կազմել գեների հերթականության վերաբերյալ, սակայն դրանք ճշգրիտ ֆիզիկական քարտեզ չեն:

- Ճառագայթային հիբրիդների մեթոդը նույնպես կիրառվում էր քրոմոսոմներում գեների հավանական դասավորությունը պարզելու համար: Այդ նպատակով մարդու մեկ քրոմոսոմային զույգ պարունակող համստերի և մարդու բջիջների հիբրիդը ճառագայթվում էր ռենտգենյան ճառագայթների բարձր դոզաներով, որի արդյունքում քրոմոսոմները կտրատվում էին 8-10 Մնզ հատվածների: Ճառագայթումից հետո մարդու և համստերի քրոմոսոմային ֆրագմենտներն արագ վերակցվում էին միմյանց հետ, որի արդյունքում առաջանում էին բարդ վերակառուցումներ: Այնուհետև այս բջիջները միաձուլվում էին համստերի չճառագայթված բջիջների հետ և կուլտիվացվում: Մեկ փորձի արդյունքում ստացվում էին 100-200 առանձին կլոններ, որոնցից յուրաքանչյուրը պարունակում էր հետաքրքրող մարդու քրոմոսոմի 20-60%-ը: Ժամանակի ընթացքում այս բջիջները կորցնում են մարդու քրոմոսոմները, սակայն կայուն են նախնական փուլում: Հիբրիդային բջիջները նկարագրվում են ըստ տվյալ քրոմոսոմին բնորոշ մարկերների պարունակության: Մեթոդի էությունն այն է, որ ճառագայթումից հետո մոտ գտնվող մարկերների միջև ընկած ԴՆԹ շղթայի կտրվածքներ ավելի հազվադեպ են առաջանում, ուստի այս մարկերները համստերի վերախմբավորված քրոմոսոմներում միմյանց մոտ են տեղակայվում, մինչդեռ հեռադիր մարկերներն առավել հաճախ հանդիպում են համստերի տարբեր քրոմոսոմներում: Ճառագայթային հիբրիդների քարտեզավորման մոտեցումը կիրառվում էր մինչև FISH մեթոդի մշակումը:

- Այն դեպքերում, երբ գենը հայտնաբերվում էր տրանսլոկացիայի արդյունքում, որի ժամանակ խաթարվում էր դրա ֆունկցիան, միաժամանակ որոշում էին գենոմում դրա տեղակայումը:

- Մեկ այլ տեսակի (օրինակ՝ մուկ) մոտ գենի հայտնաբերման և քրոմոսոմային մակարդակում դրա տեղակայման որոշումից հետո այդ գենը կարելի է վերաբարտեզավորել մարդու գենոմում համեմատական քարտեզավորման միջոցով:

13. Մուտագենեզ

Մարդու աուտոսոմային կողավորող ԴՆԹ հաջորդականություններում մեկ նուկլեոտիդի մուտացիայի հավանականությունը յուրաքանչյուր սերնդում կազմում է $1.28\text{-}1.45 \times 10^{-8}$: Ընդ որում, պոպուլյացիայում մուտացիայի ամրապնդման հավանականությունը շատ փոքր է: Հետաքրքիր է, որ գենոմում մուտացիաներն ունեն անհավասարաչափ բաշխում: Տարբերվում են նաև հայրական և մայրական գենոմներով փոխանցվող մուտացիաների թիվը և դրանց կախվածությունը ծնողների տարիքից: Օրինակ՝ իսլանդացիների գենոմների սեքվենավորումը բացահայտել է, որ մոր տարիքին զուգընթաց սերնդին *փոխանցվող de novo* մուտացիաների քանակը յուրաքանչյուր տարի ավելանում է 0.37-ով, մինչդեռ հայրականի դեպքում՝ 1.51 մուտացիայով: Սա նշանակում է, որ 30 տարեկան ծնողներից ծնված երեխան միջինում կժառանգի 11 նոր մուտացիա մորից և 45 նոր մուտացիա հորից (*Nature. 2017;549(7673): 519-522*):

Մուտացիաների հաճախականությունը տարբերվում է նաև մեկ նուկլեոտիդի և նուկլեոտիդային հաջորդականությունների մակարդակներում: Այսպես, մեկ նուկլեոտիդի մակարդակում մուտացիաների հաճախականությունը կախված է 5′-3′ հարակից նուկլեոտիդներից: Օրինակ՝ մարդու գենոմում մեթիլացված ցիտոզինի սպոնտան դեզամինացման արդյունքում ձևավորվում է թիմին, հետևաբար մուտացիաների հաճախականությունը ՅԳ դինուկլեոտիդներում էականորեն բարձրանում է՝ համեմատած միջին գենոմային մակարդակի հետ: Դրան հակառակ՝ քրոմոսոմային տեղամասերի մակարդակում, որում ԴՆԹ երկարությունը հասնում է մի քանի միլիոն նուկլեոտիդային զույգի, մուտացիաների հաճախականության որոշիչ գործոնը ԴՆԹ ռեպլիկացիայի հաճախականությունն է: Այս դեպքում մուտացիաների հաճախականությունը կախված է լինում ԴՆԹ ռեպարացիայի համակարգերի ակտիվությունից և տեսակից: Կենդանի բջիջներում մուտացիաներ կարելի է մակածել ճառագայթմամբ կամ քիմիական գործոններով, ինչպես նաև կենսաբանական մուտագեններով: Մուտագեն ազդեցությամբ օժտված են իոնիզացնող և ոչ իոնիզացնող ճառագայթման տեսակները: *Իոնիզացնող ճառագայթումը* լիցքավորված կամ չեզոք մասնիկների ու քվանտների էլեկտրամագնիսական հոսքն է, որը, անցնելով նյութի միջով, հանգեցնում է դրանում ատոմների կամ մոլեկուլների գրգռմանը և իոնիզացմա-

նը: Իոնիզացնող ճառագայթման էներգիան փոխանցվում է X և գամա ճառագայթների, բետա (բարձր արագությամբ էլեկտրոններ) և ալֆա (հելիումի ատոմի միջուկը) մասնիկների, պրոտոնների և ծանր այլ մասնիկների միջոցով: X և գամա ճառագայթները էլեկտրամագնիսական ալիքներ են, ինչպես և լույսը, սակայն ունեն ավելի բարձր էներգիա: Կախված ճառագայթման տեսակից և մասնիկներից՝ բջջային պատասխանն ու կենսաբանական էֆեկտները տարբերվում են: Ըստ մասնիկների տեսակի՝ տարբերում են ալֆա (դրական լիցքով մասնիկներ), բետա (էլեկտրոնների հոսք) և գամա (էլեկտրամագնիսական ալիքներ) ճառագայթներ: Ալֆա մասնիկներն առաջացնում են մեծ թվով իոններ, այսինքն՝ իոնիզացիայի բարձր գծային խտություն: Սա էլ պայմանավորում է խիստ արտահայտված կենսաբանական արդյունավետությունը, որը ~10 անգամ ավելին է, քան ռենտգենյան կամ գամա ճառագայթման ժամանակ: Համեմատած ալֆա մասնիկների հետ՝ բետա մասնիկներն ունեն ավելի մեծ թափանցելիություն մարդու հյուսվածքներում (մինչև 2.5 սմ): Անցնելով բջջի միջով՝ բետա ճառագայթներն արձակում են էներգիա՝ առաջացնելով շրջակա միջավայրի ատոմների գրգռում (էլեկտրոնների անցում էներգետիկ ավելի բարձր մակարդակի) կամ իոնիզացիա (էլեկտրոնների անջատում ատոմից): Այսպիսի ատոմներն անկայուն են, քիմիականորեն խիստ ռեակցիոնունակ և կոչվում են ռադիկալներ: Գամա ճառագայթումը, որպես կանոն, ուղեկցում է ալֆա և բետա ճառագայթմանը, քանի որ բնության մեջ գրեթե չեն հանդիպում միայն գամա ճառագայթներ արձակող ռադիոակտիվ տարրեր: Գամա ճառագայթներն իրենց բնույթով նման են լույսին, սակայն օժտված են ավելի բարձր էներգիայով և օդի միջով կարող են անցնել մեծ տարածություններ: Նեյտրոնների ճառագայթման ազդեցությունն ունի որոշակի տարբերություն, քանի որ այս մասնիկներն ունեն չեզոք լիցք և գլխավորապես ազդում են ջրածնի ատոմների, մասնավորապես պրոտոնների վրա:

Իոնիզացնող ճառագայթումը մակածում է բարդ, գլոբալ բջջային պատասխան՝ գենոմային անկայունություն, ինչպես ճառագայթված, այնպես էլ չճառագայթված բջիջներում («դիտորդի» էֆեկտ), որոնք ստանում են մոլեկուլային ազդակներ ճառագայթված բջիջներից: Ճառագայթմամբ մակածված իոնիզացումը կարող է ուղղակիորեն ազդել բջջի տարբեր մոլեկուլների վրա կամ անուղղակիորեն ազդել ջրի մոլեկուլների վրա՝ առաջացնելով ակտիվ ռադիկալներ: Ռադիկալները փո-

խազդում են հարևան մոլեկուլների հետ շատ կարճ ժամանակահատվածում, ինչի հետևանքով խզվում են քիմիական կապերը կամ տեղի է ունենում փոխազդող մոլեկուլների օքսիդացում: Ուղղակի ազդեցության էֆեկտները դրսևորվում են իոնիզացնող ճառագայթման և ԴՆԹ անմիջական փոխազդեցության հետևանքով:

Ոչ իոնիզացնող ճառագայթներն ունեն բավականաչափ էներգիա մոլեկուլներում ատոմների տատանողական շարժման մակածման համար, սակայն դա բավական չէ էլեկտրոններն անջատելու համար: Այդպիսի ճառագայթման օրինակ են ձայնային ալիքները, տեսանելի լույսը և միկրոալիքները: Ճառագայթման կենսաբանական էֆեկտները մանրամասն նկարագրված են «*Գենետիկական թունաբանության հիմունքներ*» (*Հովհաննիսյան Գ., 2016*) գրքում:

Կենսաբանական մուտագեններ խմբին են պատկանում տրանսպոզոնները, վիրուսները, բակտերիաները, լիպիդների օքսիդացման արգասիքները:

Տրանսպոզոնները գենոմի մոբիլ էլեմենտներ են, որոնք, ներկառուցվելով գենոմի տարբեր հատվածներում, կարող են առաջացնել մուտացիաներ, այդ թվում՝ քրոմոսոմային վերակառուցումներ: Վիրուսային ԴՆԹ-ն, ներմուծվելով գենոմի մեջ, ևս խախտում է գեների ֆունկցիաները: Որոշ բակտերիաներ, ինչպիսին է Helicobacter pylori-ն (H. pylori), առաջացնում են բորբոքային ռեակցիաներ, որի հետևանքով ձևավորված ակտիվ ռադիկալները մակածում են ԴՆԹ վնասվածքներ՝ նվազեցնելով ԴՆԹ ռեպարացիոն համակարգի ակտիվությունը և բարձրացնելով մուտացիաների հաճախականությունը:

Տրանսպոզոնները կարելի է դասակարգել երկու խմբի՝ ԴՆԹ-տրանսպոզոններ և ռետրոտրանսպոզոններ: ԴՆԹ-տրանսպոզոնները տարածվում են գենոմում ԴՆԹ հատվածների կտրման և գենոմի այլ լոկուսում ներդրման մեխանիզմով: Ի տարբերություն ԴՆԹ-տրանսպոզոնների՝ ռետրոտրանսպոզոններն օգտագործում են ՌՆԹ-միջնորդավորված հետադարձ տրանսկրիպցիան, և տարածվում են գենոմում ԴՆԹ հատվածների կրկնապատկման և գենոմի այլ լոկուսում ներդրման մեխանիզմով: ԴՆԹ հատվածները կրկնապատկվում են դրանց կոմպլեմենտար ՌՆԹ սինթեզի և վերջինիս հետադարձ տրանսկրիպցիայի շնորհիվ ռեվերտազ ֆերմենտի մասնակցությամբ: Գենոմում տրանսպոզոնների հաճախակի հանդիպման և դրանց հաջորդականու-

թյունների միջև բարձր հոմոլոգիայի պատճառով հոմոլոգիական ռեկոմբինացիայի մեխանիզմով ռեպարացիայի փոխարեն տեղի է ունենում ոչ ալելային հոմոլոգիական ռեկոմբինացիա՝ մակածելով դելեցիաներ, դուպլիկացիաներ և ինվերսիաներ: Տրանսպոզացվող էլեմենտների de novo ինսերցիաները սեռական բջիջներում և/կամ վաղ սաղմնային զարգացման փուլում ժառանգվում են սերնդեսերունդ: De novo ռետրոտրանսպոզոնների ինսերցիաները կազմում են մարդու մոտ բոլոր մուտացիաների 0.3 %-ը: Տրանսպոզոնային ինսերցիաներ կարող են առաջանալ ինչպես գեների ինտրոնային հաջորդականություններում, այնպես էլ էքզոններում: Ինտրոններում տրանսպոզոնների ինսերցիան կարող է խաթարել գենի էքսպրեսիան ալտերնատիվ սպլայսինգի հավելյալ տեղամասերի ձևավորման հետևանքով: Ինտրոնային ինսերցիաները կարող են մակածել նաև ԻՌՆԹ-ի փոփոխություններ, որի հետևանքով ճնշվում է գենի էքսպրեսիան: Վիրուսներով մակածված մուտագենեզն իրականանում է բջջի գենոմի տարբեր տեղամասերում վիրուսային գենոմի ինսերցիայի միջոցով: Քրոնիկ հեպատիտ B-ի վիրուսով վարակված հիվանդների սոմատիկ բջիջներում դիտվում է տարբեր մուտագենային էֆեկտների հաճախականության բարձրացում: Հեպատիտ B-ի վիրուսը կարող է մակածել ԴՆԹ վնասվածքներ տարբեր մեխանիզմներով: Այդ մեխանիզմների թվին է պատկանում քրոմոսոմային անկայունության մակածումը վիրուսային ԴՆԹ ինտեգրմամբ տեր բջջի գենոմի մեջ: Երկրորդ մեխանիզմը պայմանավորված է հեպատիտ B-ի վիրուսի կողմից մակածված ինսերցիոն մուտացիաներով, որոնց հետևանքով ակտիվանում են տարբեր գեներ, և առաջանում են գենային մի շարք խաթարումներ: Երրորդ մեխանիզմը պայմանավորված է ինտեգրված վիրուսի գեների ակտիվացմամբ և սպիտակուցների անկանոն սինթեզով: Վիրուսային ԴՆԹ-ն, ինտեգրվելով բջջային գենոմի կարգավորիչ կամ կոդավորող հատվածներում, կարող է մակածել գեների էքսպրեսիայի խաթարումներ և սպիտակուցների կառուցվածքի փոփոխություններ:

H. pylori-ն պատկանում է Գրամ-բացասական բակտերիաների խմբին, և առաջացնում է գաղութներ մարդկանց պոպուլյացիայի կեսից ավելիի ստամոքսի էպիթելում: H. pylori-ի ինֆեկցիայի ժամանակ առավել հաճախ հանդիպող հիվանդությունը քրոնիկ գաստրիտն է:

H. pylori-ն վնասում է ստամոքսի լորձաթաղանթը՝ առաջացնելով բորբոքում և իմունային պատասխան, ինչի հետևանքով էլ մակածվում է

ևաև էպիթելային բջիջների ապոպտոզ: Բորբոքային պատասխանը հանգեցնում է նեյտրոֆիլների կողմից մեծ թվով ազատ ռադիկալների առաջացմանը, որոնք վնասում են ստամոքսի էպիթելային բջիջների ԴՆԹ-ն, մինչդեռ իմունային պատասխանը TH1 ցիտոկինների (ինչպիսիք են TNF-α և IFN-γ) մասնակցությամբ մակածում է ևաև ապոպտոզ:

Մուտագենեզի պատճառ կարող են լինել ևաև էնդոգեն գործոններով մակածված ԴՆԹ վնասվածքները: Էնդոգեն վնասվածքների մեծ մասն առաջանում է թթվածնի ազատ ռադիկալների կամ էնդոգեն մեթիլացնող գործոնների ազդեցությամբ, ԴՆԹ մոլեկուլում թույլ կապերի խախտման, կամ ԴՆԹ ռեպլիկացիայի սխալների պատճառով: Լիպիդների պերօքսիդացումն առաջանում է բջջաթաղանթի լիպիդների և ազատ ռադիկալների փոխազդեցության հետևանքով: Մուտագենային և քաղցկեղածին հատկություններով օժտված է պոլիչհագեցած ճարպերի պերօքսիդացման արգասիք մալոնդիալդեհիդը: Փոխազդելով ԴՆԹ-ի հետ՝ մալոնդիալդեհիդն առաջացնում է ադուկտներ դեզօքսիադենոզինի և դեզօքսիգուանոզինի հետ, և ձևավորվում է պիրիմիդոպուրին: Մալոնդիալդեհիդ-ԴՆԹ-ադուկտները ցուցաբերում են մուտագենային հատկություններ բակտերիաների և կաթնասունների բջիջներում:

Քիմիական մուտագենեզն ուսումնասիրում է տարբեր կառուցվածք ունեցող քիմիական միացությունների ունակությունն առաջացնելու մուտացիաներ, ինչպես ևաև դրանց մուտագեն էֆեկտների կախվածությունը կոնցենտրացիայից ու ազդեցության տևողությունից: Գնահատվում են ևաև մակածված մուտացիաների տեսակները ևուկլեոտիդների, գեների, ԴՆԹ-ի և քրոմոսոմների մակարդակներում:

Քիմիական մուտագենեզը պարտադիր կիրառվում է դեղերի, սննդային բաղադրիչների, ըմպելիքների և ծխախոտի, ևաև մարդու համար շրջակա միջավայրի աղտոտիչների մուտագեն ռիսկի գնահատման նպատակով: Քիմիական մուտագենեզը կիրառվում է ևաև «առաջատար» գենետիկայում (forward genetics)՝ շարժվելով ֆենոտիպից դեպի գենոտիպ:

Քերևնք օրինակներ:

(1) Քիմիական մուտագենով մկների մոտ ուռուցքների մակածում Բուրկիտի լիմֆոմայի մոդելի ստացման նպատակով:

(2) Արտաքրոմոսոմային ամպլիֆիկացված ԴՆԹ կրող ուռուցքային բջիջների ստացում:

(3) Կարիոտիպի էվոլյուցիայի ուսումնասիրություն:

Քիմիական միացությունների հավանական մուտագենության գնահատման համար կիրառվում են մողելային տարբեր համակարգեր կամ թեստ-մարտկոցներ (յուրաքանչյուրում կարելի է ստանալ մեկ կենսաբանական վերջնարդյունք): Նոր միացությունների մուտագենության գնահատման սկզբնական փուլում վերլուծվում է մակածված կետային մուտացիաների հաճախականությունը բակտերիալ թեստ-մողելներում: Այնուհետև ուսումնասիրվում են կետային մուտացիաների և քրոմոսոմային աբեռացիաների հաճախականությունները կենդանիների և մարդու բջիջների կիրառմամբ in vitro: Մուտագենության գնահատման վերջնական փուլերում կիրառվում են կենդանիների in vivo մողելներ, որից հետո կարելի է ընտրել համապատասխան միացությունը և ուսումնասիրել դրա ազդեցության մեխանիզմները: Մուտագենությունը կարելի է գնահատել նաև սեռական բջիջներում, ինչը թույլ է տալիս բացահայտել տվյալ մուտագենի ժառանգական մուտացիաներ մակածելու ռիսկը: Նման թեստերն իրականացվում են միայն այն դեպքում, երբ առկա են տվյալներ, որ սեռական օրգանների հյուսվածքները հասանելի են ուսումնասիրվող մուտագենի համար: Անուղղակի ազդեցությամբ մուտագենների ակտիվությունը դրսևորվում է մետաբոլիզացումից կամ կենսափոխարկումից հետո: Այդպիսի միացությունների թեստավորման ժամանակ կիրառվում են ցիտոքրոմային ֆերմենտներ: Մուտագեն էֆեկտը կարող է փոփոխվել նաև երկու տարբեր միացությունների համատեղ կիրառման դեպքում: Անտագոնիզմի դեպքում երկու քիմիական գործոնների ազդեցության էֆեկտն ավելի թույլ է, քան միմյանցից անկախ գործող քիմիական միացությունների ազդեցության էֆեկտների գումարը: Սիներգիզմի դեպքում ուսումնասիրվող միացությունների համատեղ ազդեցության գումարային էֆեկը գերազանցում է առանձին ազդած միացությունների էֆեկտների գումարը: Ադիտիվ փոխազդեցության ժամանակ հետազոտվող քիմիական միացությունների ազդեցության էֆեկտը հավասար է այդ միացությունների առանձին ազդեցությունների գումարին:

Գենաթունաբանական թեստերը լայնորեն կիրառվում են աշխարհի տարբեր լաբորատորիաներում, մասնավորապես դեղագործական ոլորտում, սննդային արդյունաբերության, շրջակա միջավայրի աղտոտվածության, պեստիցիդների, շպարման միջոցների թեստավորման նպատակով և այլն:

Ներկայումս բացակայում են այնպիսի in vitro մոդելներ, որոնց միջոցով ստացված արդյունքները հնարավոր կլիներ ուղղակիորեն արտապատկերել in vivo համակարգում: In vitro մոդելներում առկա են մի քանի սահմանափակումներ՝

- մարդու օրգանիզմին բնորոշ մետաբոլիկ պրոցեսների բացակայություն,
- տոքսիկոկինետիկայի բացակայություն,
- գերզգայնություն,
- երբեմն կիրառվում են բջջային գծեր, որոնք թույլ չեն տալիս կանխատեսել թիրախ օրգանում/հյուսվածքում գենաթունային էֆեկտները,
- կրկնվող դոզաներով մշակման ժամանակ առաջացած մուտագեն էֆեկտները թիրախ օրգաններում կապված չեն տվյալ նյութի կիրառման հյուսվածքի հետ (օրինակ՝ մաշկ, մազեր):

Ստանդարտ թեստ-մարտկոցը ներառում է.

1. Էյմսի բակտերիալ թեստը,

2. մկան լիմֆոմայի բջիջներում գենային մուտացիաների գնահատման թեստն in vitro,

3. կրծողների և/կամ մարդու սոմատիկ բջիջներում քրոմոսոմային աբեռացիաների կամ միկրոկորիզային թեստերն in vitro,

4. կրծողների ոսկրածուծի բջիջներում քրոմոսոմային աբեռացիաների կամ միկրոկորիզային թեստերն *in vivo*:

Այս թեստերը թույլ են տալիս կանխատեսել մարդու համար հավանական մուտագենության ռիսկը (ներառյալ չափաբաժինները):

Մուտագենության թեստերը կիրառվում են նաև մուտագենների ազդեցությանը ենթարկվող մարդկանց մոտ գենաթունային կամ կանցերոգենության ռիսկի գնահատման համար, օրինակ՝

- մասնագիտական ազդեցության դեպքում (հակաքաղցկեղային միջոցների հետ առնչվող բուժանձնակազմ, ռադիոլոգներ, ատոմակայանների աշխատակիցներ և այլն),
- ճառագայթմանն առնչվող պատահարների (Չեռնոբիլ, Ֆուկուշիմա և այլն) դեպքում,
- ճառագայթային կամ քիմիոթերապիայից հետո:

Այսպիսի մարդկանց մոտ կլոնային և ոչ կլոնային քրոմոսոմային աբեռացիաների մակարդակներն արյան լիմֆոցիտներում բարձր են լի-

նում ողջ կյանքի ընթացքում, ինչը կախված է նաև ստացած դոզայից: Մարդու համար կարճաժամկետ գենաթունային ռիսկի գնահատման նպատակով կիրառվում են առանձին բջիջների ժել-էլեկտրոֆորեզն (ԴՆԹ-կոմետ) ու միկրոկորիզային թեստը, իսկ քրոնիկ ազդեցության դեպքում՝ քրոմոսոմային աբեռացիաների թեստը ծայրամասային արյան լիմֆոցիտներում:

Ինչպե՞ս են քիմիական մուտագեններն ազդում:

Մուտագենների էֆեկտները կախված են.

- կառուցվածքից. նման կառուցվածք ունեցող միացություններն ունեն միանման գենաթունային էֆեկտ,
- չափաբաժնից (դոզա - էֆեկտ),
- ազդեցության տևողությունից,
- անհատական կամ տեսակային զգայնությունից (ԴՆԹ ռեպարացիայի էֆեկտիվության տարբերություն),
- կենսափոխարկման փուլերի ակտիվությունից, որի ժամանակ կենսաբանորեն իներտ կամ ցածր ակտիվություն ունեցող միացություններից առաջանում են մուտագեն միացություններ,
- այլ միացության (կոմուտագեն կամ հակամուտագեն) հետ փոխազդեցության տիպից:

14. Տեռատոլոգիա

Տեռատոլոգիան ուսումնասիրում է ֆիզիոլոգիական և անատոմիական այն արատները, որոնք առաջանում են սաղմի կամ պտղի վրա արտաքին միջավայրի գործոնների ազդեցության պայմաններում: Սակայն տեռատոլոգիան չի սահմանափակվում միայն բնածին արատների ուսումնասիրությամբ, այլ նաև հետազոտվում են օրգանիզմի զարգացման տարբեր փուլերի, այդ թվում՝ սեռահասունության ընթացքում առաջացած խաթարումները: 1959 թ. Ջիմ Վիլսոնը առաջ քաշեց փորձարարական տեռատոլոգիայի վեց հիմնական սկզբունքները:

1. Տեռատոգեն գործոնի նկատմամբ զգայնությունը կախված է էմբրիոնի գենոտիպից և միջավայրի բացասական գործոնների հետ նրա փոխազդեցության պայմաններից: Հետաքրքիր է, որ միևնույն տեռատոգեն գործոնը կարող է տարբեր կերպ դրսևորվել տաբեր տեսակների մոտ: Օրինակ՝ մկներն ու առնետները ռեզիստենտ են մարդու համար տեռատոգեն հանդիսացող թալիդոմիդ դեղամիջոցի նկատմամբ:

2. Տեռատոգեն գործոնի նկատմամբ զգայնությունը տարբերվում է էմբրիոնի զարգացման տարբեր փուլերում: Գոյություն ունեն տեռատոգենեզի նկատմամբ առավել զգայուն էմբրիոնալ փուլեր:

3. Տեռատոգեն գործոններն ազդում են զարգացող բջիջների և հյուսվածքների վրա իրենց բնորոշ կերպով (մեխանիզմով)՝ մակածելով դրանց զարգացման ախտաբանական իրադարձությունների սպեցիֆիկ հաջորդականություններ:

4. Բացասական գործոնների տեռատոգեն էֆեկտները կախված են այդ գործոնի բնույթից (ֆիզիկական կամ քիմիական): Էմբրիոնալ հյուսվածքների հասանելիությունը տեռատոգեններին ունի առանցքային նշանակություն տեռատոգեն էֆեկտի դրսևորման համար:

5. Տեռատոգենների ազդեցությամբ մակածված զարգացման խաթարումները չորսն են՝ մահ, տծնություններ, թերզարգացում և ֆունկցիոնալ խաթարումներ: Տեռատոգենեզի նկատմամբ զգայուն օրգանիզմների էմբրիոնները բացասական գործոնի ազդեցությամբ, որպես կանոն, զարգացման վաղ փուլերում մահանում են, մինչդեռ ռեզիստենտ օրգանիզմների դեպքում առաջանում են էմբրիոնալ զարգացման տարբեր խաթարումներ:

6. Զարգացման խաթարումների հաճախականությունը կախված է չափաբաժնից, ինչը կարող է չդրսևորվել կամ էլ հանգեցնել մահվան:

Այս վեց սկզբունքները կազմում են փորձարարական տեռատոլոգիայի հիմունքները:

Տեռատոգեն էֆեկտ կարող են ունենալ.

- Դեղերը (նաև մոր հիվանդության բուժման նպատակով կիրառված): Առավել հայտնի օրինակ է Թալիդոմիդ (վաճառքում՝ Կոնտարգան) դեղամիջոցը, որը նշանակվում էր հիվանդներին որպես հանգստացնող միջոց: Ներկայումս հայտնի է, որ այն նաև վասկուլյար էնդոթելային աճի գործոնի (*VEGF*) արգելակիչ է: Հղի կանանց կողմից այս դեղամիջոցի ընդունման հետևանքով 1960-ական թթ. Եվրոպայում ծնվել էր տարբեր տեռատոմաներով (տարբեր հյուսվածքներից կազմված ուռուցքներ) 10.000 երեխա: Տեռատոգեն ակտիվություն ունեն նաև ցիտոստատիկ դեղամիջոցները, անդրոգեն հորմոնները, վիտամին A-ի ածանցյալները, ամինոգլիկոզիդային հակաբիոտիկները և այլն:
- Մոր հիվանդությունները (օրինակ՝ դիաբետ, ֆենիլկետոնուրիա և այլն):
- Վիրուսային վարակներ (կարմրուկ, ջրծաղիկ, զիկա վիրուս և այլն):
- Ճառագայթում (տեռատոգեն էֆեկտը գլխավորապես պայմանավորված է ազատ ռադիկալներով): Ճառագայթման տեռատոգեն էֆեկտներն առավել սուր են դրսևորվում, եթե ճառագայթումը տեղի է ունենում սաղմի զարգացման վաղ փուլերում: Դեռևս լիովին պարզաբանված չեն ճառագայթման տեռատոգեն չափաբաժինների սահմանները: Հետաքրքիր է նաև այն հարցը, թե ճառագայթումից հետո ինչու են լեյկեմիաները զարգանում ավելի արագ՝ համեմատած ուռուցքների հետ:
- Դեղանյութեր/թմրամիջոցներ (ալկոհոլային էմբրիոպաթիաներ և ալկոհոլային համախտանիշներ, ծխախոտ և այլն):
- Մեխանիկական գործոններ (ամնիոնի վնասվածքներ, դիսմելիաներ՝ վերջույթների հոդային վնասվածքներ, պորտալարի կառուցվածքային խաթարումներ):

Հղիության առաջին 2 շաբաթների ընթացքում կարող են զարգանալ մոնոզիգոտ երկվորյակներ, սակայն այս ընթացքում վերը նշված արտաքին գործոնների ազդեցության դեպքում խաթարումներ ունեցող սաղմի զարգացումը դադարում է: Սա կոչվում է «ամեն ինչ, կամ ոչինչ» կանոն: Երբ սաղմը հղիության 3-8 շաբաթական փուլում ենթարկվում է

տեռատոգեն գործոնների ազդեցությանը, առաջանում են օրգանների զարգացման սուր խաթարումներ, քանի որ օրգանոգենեզի այս փուլը խիստ զգայուն է: Հղիության ավելի ուշ փուլերում տեռատոգեն դրսևորումներն ավելի թույլ են, քանի որ տեռատոգենեզում ավելի փոքր թվով հյուսվածքներ/օրգաններ են ներգրավված լինում:

Բնածին արատների (նորածինների 4 %-ը) շարքում տեռատոգեն էֆեկտների մասնաբաժինը կազմում է ~7 %: Ստորև բերված աղյուսակում ներկայացված են տարբեր գործոնների մասնաբաժինները բնածին արատների առաջացման դեպքում:

Արատի պատճառ	**Մասնաբաժին (%)**
քրոմոսոմային աբեռացիաներ	5-6
հայտնի էկզոգեն պատճառներ	7
մոնոգեն հիվանդություններ	8
բազմագործոն ազդեցություն	25
անհայտ պատճառներ	54

Հարկ է նշել, որ ICSI-ի (արդյունավետությունը՝ 20 ծնունդ 100 ցիկլից, վիժումներ՝ ~15 %, սաղմի կորուստ վաղ փուլերում խաթարումների հետևանքով՝ >50 %) տեռատոգեն էֆեկտների մասին տեղեկություններ դեռևս բացակայում են:

Տեռատոգեն էֆեկտի կրկնման ռիսկը գրեթե բացակայում է հաջորդ հղիության դեպքում, եթե բացահայտվել են տեռատոգենեզի պատճառ հանդիսացող գործոնի դոզա-էֆեկտ կապը և ազդեցության մեխանիզմը:

15. Գենային թերապիա

Գենային թերապիայի սահմանումը

Սոմատիկ բջիջների մեջ ԴՆԹ թիրախավորված ներմուծումն է տվյալ օրգանիզմի հիվանդության բուժման նպատակով (երկրների մեծ մասում արգելված է սեռական բջիջների գենային թերապիան): Մարդու մոտ գենային թերապիայի առաջին փորձն իրականացվել է 1989 թ. ԱՄՆ-ում գլխի և պարանոցի կարցինոմայով հիվանդների բուժման նպատակով:

Գենային թերապիան սահամափակվում է անհատով և նրա բուժմամբ, հետևաբար տարբերվում է եվգենիկայից: Գենային թերապիայի նպատակն է գենոմում առաջացած սխալների ուղղումը՝ հիվանդի մոտ կոնստիտուցիոնալ կամ ձեռք բերված հիվանդությունների բուժման համար:

Բջջի մեջ օտար ԴՆԹ ներմուծման համար կիրառվում են գենետիկական ճարտարագիտության մեթոդները: Սեռական բջիջներում նման խմբագրման միջոցով կարելի է հետաքրքրող հատկանիշը դարձնել ժառանգական (օրինակ՝ լաբորատոր տրանսգեն մկների գծերում կանաչ ֆլյուորեսցենտ սպիտակուցի էքսպրեսիան): Այդ նպատակով կիրառվում են մոլեկուլային վեկտորներ, որոնք կարող են ներմուծվել բջջի մեջ կենսաբանական, ֆիզիկական կամ քիմիական մեթոդներով:

Գենային թերապիայի տարբեր մոտեցումների կիրառմամբ կլինիկական փորձարկումների մասին տեղեկատվությունը հասանելի է հետևյալ հղումով՝ *http://www.abedia.com/wiley/index.html*: Ուսումնասիրությունների մեծ մասն իրականացվել է ԱՄՆ-ում, և դրանց հիմնական մասում կիրառվել են վիրուսային վեկտորներ:

Գենային թերապիայի հիմնական թերությունները են.

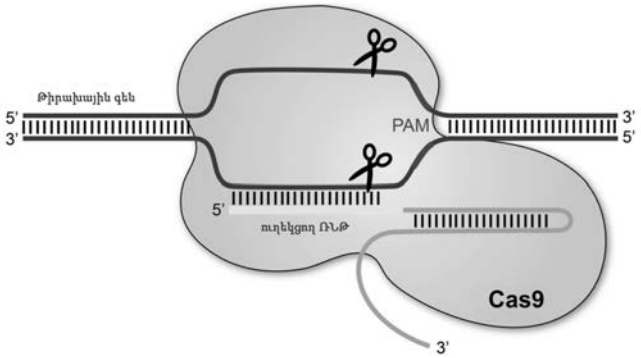
- հայտնի վեկտորների ընդհանուր ցածր էֆեկտիվությունը,
- անհրաժեշտ է թիրախավորել միլիարդավոր բջիջներ,
- «թերապևտիկ ԴՆԹ» ոչ ճշգրիտ ներմուծումը ռեցիպիենտ բջիջների գենոմում,
- թանկարժեք բուժման մեթոդ է,
- պետք է զուգակցել տվյալ հիվանդության բուժման ստանդարտ մեթոդների հետ:

Առավել հաճախ գենային թերապիայի թիրախ են քաղցկեղային հիվանդությունները: Սակայն ԱՄՆ-ում և Եվրոպայում իրականացված քաղցկեղի գենային թերապիայի ~3.000 փորձարկումներից կիրառման թույլտվություն է ստացել միայն 4-ը: Այս արդյունքը զարմանալի չէ և նման է դեղամիջոցների մշակման գործընթացին, որի ժամանակ հազարավոր սինթեզված միացություններից կլինիկական փորձարկումների փուլ է հասնում 1-5 միացություն: Ներկայումս մշակվել են in silico մեթոդներ, որոնք թույլ են տալիս կառուցվածք-ակտիվություն կապերի վերլուծության շնորհիվ նվազեցնել սինթեզվող միացությունների և դրանց փորձարկումների քանակը: Այս մոտեցումը կիրառվում է նաև գենային թերապիայի ծրագրերի մշակման ժամանակ, ինչը թույլ է տալիս կանխատեսել մոլեկուլային գործիքների համապատասխանությունը թիրախներն ու ոչթիրախային էֆեկտի հավանականությունը:

2019 թ. ԱՄՆ-ում կլինիկական նպատակներով կիրառման թույլտվություն է ստացել Զոլգենսմա (*Onasemnogene abeparvovec*) գենաթերապիայի դեղամիջոցը (մեկանգամյա օգտագործման գինը՝ $2.125 մլն), կիրառվում է ողնուղեղային մկանային ատրոֆիայի ժամանակ (*SMN1* գենի մուտացիա): ԱՄՆ-ում իրականացվող գենային թերապիայի փորձարկումների վերաբերյալ լիարժեք տեղեկություններ կարելի է ստանալ հետևյալ հղումով՝ *https://clinicaltrials.gov/search?term=%22gene+therapy%22*: 2019 թ. սկզբից իրականացվում է ~930 կլինիկական փորձարկում, իսկ 2019 թ. վերջին այդ թիվը կանցնի 1.000-ը: Ենթադրվում է, որ CRISPR-Cas9 համակարգը կխթանի այդ գործընթացը:

CRISPR-Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-CRISPR Associated protein 9) համակարգը գենոմի խմբագրման տեխնոլոգիա է, որը հիմնված է բակտերիաներում գործող ‹‹իմունային համակարգի›› մեխանիզմի վրա: Բակտերիայի բջիջն (օրինակ՝ *Streptococcus pyogenes*) օգտագործում է CRISPR-Cas9 համակարգը օտարածին ԴՆԹ-ն կտրատելու նպատակով: Իր բարձր սպեցիֆիկության շնորհիվ այն կարելի է կիրառել ԴՆԹ ցանկացած հաջորդականության թիրախավորման նպատակով: Սակայն թիրախից դուրս էֆեկտները, որոնք հասցվել են նվազագույնի կամ բացակայում են, նույնպես հնարավոր են: Սեքվենավորման միջոցով ստացված բազմաթիվ տվյալների հիման վրա ստեղծվել են մարդու և այլ օրգանիզմների գենոմների համար բարձր սպեցիֆիկությամբ և արդյունավետությամբ վալիդացված CRISPR-Cas9 գրադարաններ, որոնք թիրախավորում են

ցանկացած գեն (նկար 17): Հայաստանում CRISPR-Cas9 համակարգն առաջին անգամ ներդրվել և կիրառվել է ԵՊՀ գենետիկայի և բջջաբանության ամբիոնում՝ սկսած 2016 թվականից: CRISPR-Cas9 համակարգի միջոցով կարելի է իրականացնել բարձր սպեցիֆիկությամբ նոքաութ (գենի անջատում) կամ նոքին (նուկլեոտիդային հաջորդականության ներմուծում), ինչպես նաև կարգավորել գեների էքսպրեսիան՝ առանց ԴՆԹ կամ ՌՆԹ նուկլեոտիդային հաջորդականության փոփոխության:



Նկար 17. CRISPR-Cas9 համակարգի միջոցով գենոմային ԴՆԹ հաջորդականության թիրախավորում (*https://ep.bmj.com/content/101/4/213*): PAM – պրոտոսպիեյսերին կից հաջորդականություն (protospacer adjacent motif):

Բերենք չհաջողված որոշ մոտեցումների օրինակներ:

- Ցիստիկ ֆիբրոզով (*CFTR* գենի մուտացիա) հիվանդների բուժում նորմալ *CFTR* գեն պարունակող ադենովիրուսային վեկտորներ և նանոկրիչներ, որոնց կիրառմամբ խոստումնալից արդյունքներ են ստացվել բջջային կուլտուրաներում և կենդանիների մոդելներում:

- Հանթինգթոնի հիվանդությամբ տառապող հիվանդների գլխուղեղի բջիջներում նյարդապաշտպանիչ գեների ներմուծում:

- Լի-Ֆրաումենի համախտանիշով (բազմակի ուռուցքների առաջացում վաղ հասակում *p53* գենի բնածին մուտացիայի հետևանքով) տառապող հիվանդների բուժում՝ նորմալ *p53* գենի ներարկմամբ: Առաջարկված մոտեցումը փորձարկվել էր մեկ հիվանդի մոտ, որը ստացել էր Ադվեքսին (*contusugene ladenovec*) վեկտորային դեղամիջոցը 5 ամիս շարունակ: Այս բուժումը չէր ստացել հաստատում, քանի որ դեղամիջոցն արտադրող ընկերությունը չէր տրամադրել բավարար հիմնավո-

րում հիվանդի համար դեղամիջոցի արդյունավետության կամ ներարկման տիպի մասին, ինչպես նաև առաջացել էին դրա անվտանգության և սեռական բջիջներին փոխանցման հնարավոր ռիսկի վերաբերյալ անհանգստություններ:

- Լեբերի բնածին կուրությամբ տառապող հիվանդների աչքի ցանցաթաղանթի մեջ *RPE65* գենի ներարկում, ինչն ունեցել էր կարճատև դրական արդյունք որոշ հիվանդների մոտ, սակայն լիովին չի պաշտպանում ցանցաթաղանթը հետագա վնասումից:

Չնայած նրան, որ գենային թերապիայի արդյունավետության վերաբերյալ սպասումները լիովին չեն արդարացվել, տարբեր գեների ֆունկցիայի մասին տեղեկատվությունն ունի կիրառական նշանակություն այլ թերապիաների համար:

Օրինակներ.

- Ագրեսիվ տարիքային թաց մակուլյար դեգեներացիան (կուրություն՝ նեովասկուլյարիզացիայի արդյունքում) բուժվում է վասկուլյարէնդոթելային աճի գործոնի (*VEGF*) արգելակման շնորհիվ (Ռանիբիզումաբ):

- *CFTR* գենում *G551D* մուտացիա (նաև ~38 այլ մուտացիաների դեպքում) կրող ցիստիկ ֆիբրոզով հիվանդների բուժման նպատակով կիրառվում է Կալիդեկո (*Ivacaftor*) դեղամիջոցը, որը թույլ է տալիս հիվանդներին ապրել լիարժեք կյանքով:

- Ողնուղեղային մկանային ատրոֆիա. հիվանդների 90 %-ը կրում է հոմոզիգոտ դելեցիա *SMN1* գենում, և ֆենոտիպային դրսևորումը կախված է *SMN2* գենի կրկնօրինակների քանակից, որի էքսպրեսիան կարելի է ստիմուլացնել վալպրոյաթթվի միջոցով: Այս հիվանդների մոտ դիտվում է ախտանիշների ընկճում վաղ բուժման դեպքում:

15.1. Քաղցկեղի գենային թերապիա

Աշխարհի բոլոր գենաթերապևտիկ փորձարկումների ավելի քան 60 %-ը իրականացվում է քաղցկեղային հիվանդությունների բուժման նպատակով: 2003 թ. Չինաստանում կոմերցիոն վաճառքի համար հաստատվեց Գենհղիցինը՝ առաջին հակաքաղցկեղային գենաթերապևտիկ դեղամիջոցը, որը ռեկոմբինանտ *p53* գեն պարունակող ադենովիրուսային վեկտոր (*Adp-53*) է: *p53* սպիտակուցը տրանսկրիպցիայի գործոն

է, որն ակտիվացնում է ցիկլին-կախյալ կինազների արգելակիչ *p21* գենի էքսպրեսիան: *p21* սպիտակուցը կապվում և արգելակում է ցիկլին E/cdk2 և ցիկլին A/cdk2 կոմպլեքսները, ինչի արդյունքում արգելակվում է բջջային ցիկլը: *p53*-ը կարգավորում է ևաև ապոպտոզի ներբջջային և արտաբջջային ուղիները, աուտոֆագիան և սենեսենսը: Քաղցկեղների ավելի քան 50 % դեպքերում *p53* գենը կրում է ապաակտիվացնող մուտացիա, մինչդեռ դրա ֆունկցիոնալ կրկնօրինակի ներմուծումը բջիջներ 90-96 % հիվանդների մոտ հանգեցնում է հակաքաղցկեղային թերապիայի նկատմամբ դրական պատասխանի:

ԱՄՆ-ում կլինիկական նպատակներով կիրառվում է 4 հակաքաղցկեղային գենաթերապևտիկ միջոց: 1. Իմլիջիցը (*talimogene laherparepvec*) կիրառվում է անվիրահատելի մելանոմայի բուժման նպատակով: Ակտիվ գործոնը գենամոդիֆիկացված օնկոլիտիկ վիրուսն է, որ ստացվել է հերպես վիրուսից (*herpes simplex virus type 1*): Ներարկվում է ուռուցքային հյուսվածքի մեջ, որտեղ բազմանալով սինթեզվում է գրանուլոցիտային-մակրոֆագային իմունախթանիչ գործոն: Ուռուցքային բջիջների մահանալու արդյունքում այս գործոնը գրավում է իմունային համակարգի բջիջները, որոնք գրոհում են ուռուցքի բջիջները:

2. Կիմրիան (*tisagenlecleucel*) կիրառվում է երեխաների և մինչև 25 տարեկան անհատների մոտ սուր լիմֆոբլաստային լեյկեմիայի և խոշոր B-բջջային լիմֆոմայի բուժման նպատակով: Ակտիվ գործոնը բուժվող հիվանդի մոդիֆիկացված T-լիմֆոցիտներն են, որոնք անջատվում են հիվանդի արյունից, մոդիֆիկացվում լենտիվիրուսային վեկտորի միջոցով և ներարկվում հիվանդին: Մոդիֆիկացված բջիջներն ունեն քիմերային հակածնային ընկալիչ: Ընկալիչի շնորհիվ լիմֆոցիտները կարողանում են ճանաչել և փոխազդել քաղցկեղային բջիջների մեմբրանին գտնվող CD19 սպիտակուցի հետ, ինչի շնորհիվ հիվանդի իմունային համակարգը կարողանում է ոչնչացնել քաղցկեղային բջիջները:

3. Պրովենջ (sipuleucel-T): Կիրառվում է շագանակագեղձի ագրեսիվ քաղցկեղի բուժման նպատակով: Ակտիվ գործոնը բուժվող հիվանդից անջատված և *ex vivo* մոդիֆիկացված հակածին ներկայացնող բջիջներն են, որոնք կրում են շագանակագեղձի թթվային ֆոսֆատազի և գրանուլոցիտային-մակրոֆագային իմունախթանիչ գործոնի միաձուլված կոմպլեքս: Մոդիֆիկացված բջիջները ակտիվացնում են հիվանդի T-լիմֆոցիտները, ինչի շնորհիվ իմունային համակարգը կարողանում է ճանաչել և ոչնչացնել քաղցկեղային բջիջները:

4. Յեսկարտա (*axicabtagene ciloleucel*): Կիրառվում է հակաքաղցկեղային թերապիայի նկատմամբ կայուն ոչ Հոջկինյան լիմֆոմաների բուժման նպատակով: Ակտիվ գործոնը բուժվող հիվանդից անջատված և ex vivo մոդիֆիկացված T-լիմֆոցիտներն են: Ազդեցության մեխանիզմը քաղցկեղային բջիջների CD19 մեմբրանային սպիտակուցի թիրախավորման ու իմունային համակարգի կողմից դրանց ոչնչացման մեջ է:

Հարկ է նշել, որ քաղցկեղների դեպքում գենային թերապիայի կիրառումը խիստ սահմանափակվում է քաղցկեղներին բնորոշ բարձր գենոմային անկայունությամբ և մուտացիաների բազմազանությամբ: Մուտացիաների արդյունքում յուրաքանչյուր քաղցկեղ ունենում է իրեն բնորոշ գենոտիպ, հետևաբար յուրաքանչյուր քաղցկեղի արդյունավետ բուժման նպատակով անհրաժեշտ է հայտնաբերել և թիրախավորել հիվանդությունը խթանող սպիտակուցները: Այս մոտեցումը կիրառվում է բացահայտված մուտացիաների վալիդացման ժամանակ:

16. Էպիգենետիկա

Էպիգենետիկան (հունարեն՝ επι – վեր) ուսումնասիրում է գեների էքսպրեսիայի փոփոխությունները, որոնք պայմանավորված չեն ԴՆԹ նուկլեոտիդային հաջորդականության փոփոխությամբ: Էպիգենետիկական էֆեկտները կարող են մակածել բջջային գործընթացներ, որոնք իրենց հերթին կարող են դրսևորվել տվյալ անհատի ֆենոտիպում:

ԴՆԹ մոդիֆիկացիաները գեների էքսպրեսիայի էպիգենետիկական կարգավորման մեխանիզմներից մեկն են: CpG կղզյակներում (հարևան ցիտոզինն ու գուանինը բաժանված են ֆոսֆորական մնացորդով), որոնք գլխավորապես տեղակայված են գեների պրոմոտորային հատվածներում, C-ի մեթիլացումը հանգեցնում է.

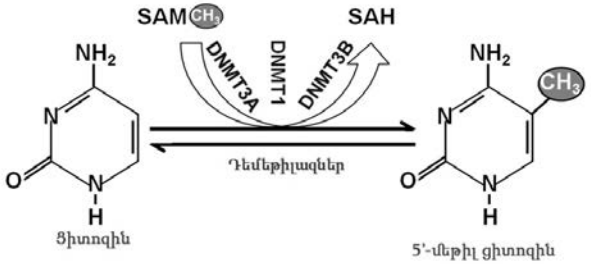
- տրանսկրիպցիայի արգելակման,
- համապատասխան գենի ուղղակի կամ անուղղակի լռեցման:

ԴՆԹ նման մոդիֆիկացիաները խոչընդոտում են ԴՆԹ-ի հետ տրանսկրիպցիայի գործոնների փոխազդեցությանը.

- լիցքի փոփոխության հետևանքով,
- ԴՆԹ տարածական կառուցվածքի փոփոխության հետևանքով:

ԴՆԹ մեթիլացումն իրականացվում է ***ԴՆԹ-մեթիլ տրանսֆերազների*** մասնակցությամբ: Մարդկանց մոտ նկարագրված են ԴՆԹ-մեթիլ տրանսֆերազների երեք տեսակներ՝ DNMT1, DNMT3A և DNMT3B (նկար 18): DNMT1-ը պատասխանատու է ԴՆԹ դուստր շղթայում ԴՆԹ մեթիլացման համար, իսկ DNMT3A-ն և DNMT3B-ն իրականացնում են ԴՆԹ *de novo* մեթիլացումը: DNMT1$^{-/-}$ մկները մահանում են էմբրիոնալ փուլում, ուստի ԴՆԹ մեթիլացումը էմբրիոնալ զարգացման ընթացքում ունի կարևոր նշանակություն բջիջների տարբերակման և հյուսվածքների ձևավորման գործընթացում:

Մեթիլ խմբի (-CH3) դոնոր է S-ադենոզիլ մեթիոնինը (SAM), որից CH3 խմբի հեռացումը հանգեցնում է S-ադենոզիլ հոմոցիստեինի առաջացմանը (SAH): Վերջինիս բարձր կոնցենտրացիան (նաև էթանոլի) արգելակում է ԴՆԹ-մեթիլ տրանսֆերազների ակտիվությունը:



Նկար 18. ԴՆԹ մեթիլացումն ու դեմեթիլացումը կաթնասունների բջիջներում (*Int J Mol Sci. 2017 Jun 28;18(7). pii: E1386*):

Տրանսպոզացվող էլեմենտների ԴՆԹ մեթիլացում

Տրանսպոզացվող էլեմենտներն ունակ են առաջացնելու գենոմային անկայունություն, մինչդեռ այս հատվածներում ԴՆԹ մեթիլացումը հանգեցնում է դրանց ակտիվության արգելակմանը: Մարդու գենոմի մեթիլացման մինչև 50 %-ը բաժին է ընկնում տրանսպոզոններին: Ենթադրվում է, որ տարբեր օրգանիզմների ԴՆԹ-ում C-ի մեթիլացման էվոլյուցիան պայմանավորված է տրանսպոզացվող էլեմենտների ճնշմամբ:

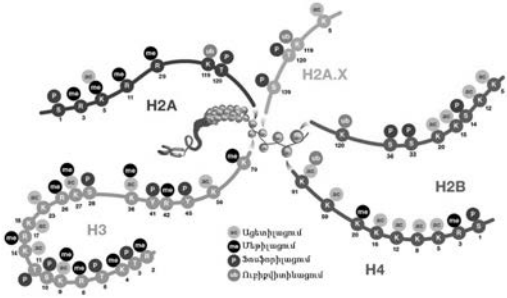
Տրանսպոզացվող էլեմենտների հիպոմեթիլացումը կորելացվում է տարբեր տեսակի քաղցկեղների հետ: Օրինակ՝ BRCA1/2 գեներում Alu տրանսպոզոնների ինսերցիան հանգեցնում է կրծքագեղձի քաղցկեղի առաջացման հավանականությունը բարձրացնող մուտացիաների մակածմանը:

Քրոմատինի մոդիֆիկացիաները կարող են հանգեցնել նուկլեոսոմային ԴՆԹ-ի բարձր փաթեթավորման մակարդակի: Նման փաթեթավորում կարող է առաջանալ.

- հիստոնների դեզացետիլացման (քրոմատինի կոնդենսացում և տրանսկրիպցիայի արգելակում),
- ֆոսֆորիլացման,
- մեթիլացված ԴՆԹ-ի հետ մեթիլ-ցիտոզին-կապվող սպիտակուցների փոխազդեցության,
- ԴՆԹ մեթիլացման հետևանքով:

Գեների էքսպրեսիայի էպիգենետիկական կարգավորումը հիստոնների մակարդակում գլխավորապես կատարվում է առանցքային հիստոնների N-տերմինալ պոչերում հետտրանսլյացիոն մեթիլացման, ացետիլացման, ֆոսֆորիլացման, ուբիքվիտինացման, ցիտրուլինացման

(արգինինի վերափոխումը ցիտրուլինի) միջոցով (նկար 19): Այս փոփոխությունների հաջորդականությունն ու դրանց ամբողջությունը կոչվում է հիստոնային կոդ:



Նկար 19. Նկարում ցույց են տրված առավել հաճախ մոդիֆիկացվող հիստոնային պոչերի սայթերը (https://www.thermofisher.com/am/en/home/life-science/antibodies/antibodies-learning-center/antibodies-resource-library/antibody-methods/epigenetics.html):

Կորիզում քրոմոսոմների դիրքը նույնպես կարող է ունենալ էպիգենետիկական էֆեկտներ, քանի որ քրոմոսոմների դիրքն ազդում է գեների էքսպրեսիայի վրա:

Էպիգենետիկական փոփոխությունները կարող են լինել ժառանգական:

Եթե տատիկը մանկության տարիներին տառապել է թերսնուցմամբ, ապա նրա իգական սեռի թոռների մոտ բարձր է սիրտանոթային (*J Epidemiol Community Health 2004; 58:517-22*) կամ քաղցկեղային (*Nat Commun 2018;9:5124*) (Գլուխ 4.2.2.գ) հիվանդությունների առաջացման ռիսկը:

Էպիգենետիկան կապված է նաև իմփրինթինգի հետ:

Իմփրինթինգի միջոցով որոշվում է, թե մայրական կամ հայրական որ գեներն են ակտիվ լինելու սերնդի մոտ: Ճիշտ իմփրինթինգն անհրաժեշտ է նորմալ սերնդի զարգացման համար:

Մարդու ~100-200 գեների էքսպրեսիան կարգավորվում է իմփրինթինգի մեխանիզմով:

Այս գեների էքսպրեսիան կախված է ալելի ծնողական ծագումից. ալելներից մեկը ակտիվ է, իսկ մյուսը լռեցվում է մեթիլացման միջոցով:

Ծնողական իմփրինթինգը ձևավորվում է գամետոգենեզի ընթացում և փոխանցվում հաջորդ սերնդին (Գլուխ 4.2.2.գ):

Գեների մոնոալելային էքսպրեսիա

Գեների մոնոալելային էքսպրեսիան մարդու գենոմի գործունեության կարևորագույն մեխանիզմներից մեկն է: Տարբերում են պատահական և կոնստիտուտիվ մոնոալելային էքսպրեսիա: *Պատահական մոնոալելային էքսպրեսիայի* օրինակ է X քրոմոսոմի ինակտիվացումը, մինչդեռ աուտոսոմալ պատահական մոնոալելային էքսպրեսիայի միջոցով կարգավորվում են առանձին գեներ: *Կոնստիտուտիվ մոնոալելային էքսպրեսիայի* դեպքում օրգանիզմի բոլոր հյուսվածքներում էքսպրեսիայի է ենթարկվում միայն մեկ ալել (հայրական կամ մայրական) իմփրինթինգի շնորհիվ: Այն կարգավորվում է հետևյալ կերպ.

1) Իմփրինթինգ (Գլուխ 4.2.2. գ),

2) X քրոմոսոմի ինակտիվացում կանանց կամ այն անհատների մոտ, որոնք ունեն մեկից ավելի X քրոմոսոմ: Եթե բլաստոցիստում առկա է մեկից ավելի X քրոմոսոմ, ապա դրանք տեղակայվում են կորիզի մեկ հատվածում (chromosome kissing), և բոլորը, բացառությամբ մեկ X քրոմոսոմի, ինակտիվացվում են (սա կոչվում է Լիոնի հիպոթեզ, որն ապացուցվել է տասնամյակներ առաջ): Քանի որ X քրոմոսոմի փսևդոաուտոսոմային տեղամասերը չեն ինակտիվանում, հավելյալ X քրոմոսոմները կարող են ունենալ բացասական ներգործություններ երկուսից ավել X քրոմոսոմ ունեցող հիվանդների մոտ: Այնուամենայնիվ, կանանց մոտ ինակտիվ տեղամասերում գտնվող բոլոր գեներն էքսպրեսիայի են ենթարկվում մոնոալելային եղանակով:

Հարկ է նշել, որ կանանց բջիջներում ինակտիվ X քրոմոսոմը կարելի է հայտնաբերել որպես Բարրի մարմնիկ: Բարրի մարմնիկի թեստը միակն էր, որը թույլ էր տալիս ստուգել՝ արդյոք Օլիմպիական խաղերին մասնակցող անձն իսկապես կին էր, թե կանացի հորմոններ ստացած տղամարդ:

Մոնոալելային էքսպրեսիան նկարագրվել է նաև հոտառական ընկալիչի և իմունոգլոբուլինային գեների դեպքում: Իմունոգլոբուլինային գեները ենթարկվում են մասնակի վերախմբավորումների և էքսպրեսվում առանձին: Դրա շնորհիվ իմունոգլոբուլինային գեներն օրգանիզմում էքսպրեսիայի են ենթարկվում բազմաթիվ տարբերակներով: Հետևաբար օրգանիզմում հանդիպում են բջիջների խմբեր, որոնք ունենում են 0, 1 կամ 2 էքսպրեսված ալելներ: Բացահայտվել է, որ գենոմում առկա են 100-1 . 000 նմանատիպ գեներ:

17. Պոպուլյացիոն գենետիկա

Պոպուլյացիոն գենետիկան ուսումնասիրում է գեների հաճախականությունն ու դրանց բաշխումը պոպուլյացիայում: Այն նկարագրում է պոպուլյացիայի գենետիկական կազմը և դրա վրա ազդող գործոնները:

Պոպուլյացիայում կարող են հանդիպել միևնույն գենի տարբեր ալելներ, որոնց հաճախականությունը կարող է փոփոխվել մուտացիաների, ընտրության, միգրացիաների և պատահականության պատճառով:

1902 թ. Սատտոնը հայտնաբերեց, որ քրոմոսոմների դիրքը միտոզի բաժանման իլիկում պատահական է, և յուրաքանչյուր քրոմոսոմ անկախ է մյուսներից: Հետևաբար մեյոզի ժամանակ գամետներում քրոմոսոմների հավանական համակցությունների թիվը կարելի է հաշվել (2^n), եթե հայտնի է տվյալ օրգանիզմի քրոմոսոմների հապլոիդ քանակը (n): Օրինակ՝ մարդու դեպքում գամետներում քրոմոսոմային տարբեր համակցությունների հավանականությունը կազմում է 2^{23} = 8.333.608, իսկ զիգոտում՝ 8.333.608 x 8.333.608 = 70.368.744.177.644 (առանց ռեկոմբինացիաների): Ուստի մարդկանց պոպուլյացայում, որտեղ ապրում է ավելի քան 7 միլիարդ մարդ, էվոլյուցիան կարող է ստեղծել անսահմանափակ թվով քրոմոսոմների համակցություններ:

Պոպուլյացիոն գենետիկայի կարևորագույն հարցերից մեկն այն է, թե ինչու հիվանդություն առաջացնող մուտացիաները դուրս չեն մղվել պոպուլյացիայից:

Դա կարելի է բացատրել նրանով, որ.

- նոր մոտացիաներն ունեն կայուն հաճախականություն: Օրինակ՝ մարդու DMD գենն ամենամեծն է, որն ունի մուտացիաների բարձր հաճախականություն,
- տվյալ պայմաններում մուտացիան հետերոզիգոտներին ընձեռվում է առավելությամբ (Գլուխ 4.2.1.բ): Օրինակ՝ մանգաղաբջջային անեմիային և ցիստիկ ֆիբրոզին բնորոշ գենետիկական պոլիմորֆիզմները դեռևս չբացատրված մեխանիզմով նվազեցնում են մալարիայով և խոլերայով հիվանդանալու ռիսկը: Կամ վերջերս բացահայտվել է, որ արյան O խումբ ունեցող մարդկանց մոտ սիրտանոթային հիվանդությունների ռիսկն ավելի ցածր է՝ համեմատած AB խմբի հետ:

Պոպուլյացիոն գենետիկայի առանցքային օրենքներից մեկը Հարդի-Վայնբերգի օրենքն է.

$$p^2 + 2qp + q^2 = 1$$

p = դոմինանտ ալելի հաճախականությունը պոպուլյացիայում

q = ռեցեսիվ ալելի հաճախականությունը պոպուլյացիայում

$$p + q = 1$$

Հարդի-Վայնբերգի օրենքը գործում է իդեալական՝ բնության մեջ չհանդիպող պոպուլյացիայում:

Իրական պոպուլյացիային բնորոշ են հետևյալ գործընթացները՝

- մուտացիա,
- միգրացիա,
- ինբրիդինգ,
- ընտրություն,
- պատահականություն,
- գեների դրեյֆ,
- հիբրիդիզացիա:

Հարդի-Վայնբերգի օրենքը կարելի է կիրառել մարդկանց պոպուլյացիայում գեների հաճախականությունը հաշվելու նպատակով, քանի որ մարդիկ ունեն սերունդների երկար հաջորդականություն: Օրինակ՝ ցիստիկ ֆիբրոզով հիվանդ հոմոզիգոտների հաճախականությունը Եվրոպայում կազմում է 0.02, ուստի հետերոզիգոտների թիվը, համաձայն վերը նշված բանաձևի, կկազմի 1/25:

Ներկայումս համացանցում հասանելի են Հարդի-Վայնբերգի տարբեր հաշվիչներ, օրինակ՝ *http://perinatology.com/calculators/Hardy-Weinberg.htm*:

Մարդկանց պոպուլյացիան տարբերվում է իդեալական պոպուլյացիայից հետևյալ հատկանիշներով:

- Մուտացիաներ: Յուրաքանչյուր սերնդում առաջանում են 5-150 նոր մուտացիաներ: Քանի որ ներկայումս ապրում է >7 միլիարդ մարդ, նոր մուտացիաների առաջացումը ժամանակի խնդիր է:

- Ինբրիդինգ: Եթե կատարենք հետ հաշվարկ 40 սերունդի չափով, ապա յուրաքանչյուր անհատ ունեցել է ~1,1 տրիլիոն նախնի (2^{40}), ինչպես նաև հայտնի է, որ մարդկանց ~10 %-ի նախնիները հանդիսացել են մոտ ազգակիցներ, հետևաբար մարդկանց պոպուլյացիայում առկա է

հիբրիդիզմի ազդեցությունը: Հարկ է նշել, որ հիբրիդիզմը չի փոխում ալելների հաճախականությունը մեծ պոպուլյացիաներում: Օրինակ՝ առաջին զարմիկների ամուսնության արդյունքում նորածինների մահացությունը 3.5 %-ով բարձր է, քան նորմալ ամուսնության դեպքում, ինչը չունի բացասական ազդեցություն պոպուլյացիայի համար: Սակայն մի քանի սերունդներ շարունակ ընթացող հիբրիդիզմը կարող է ունենալ բացասական ազդեցություն: Օրինակ՝ Հափսբուրգների արքայական ընտանիքում, որտեղ առաջին զարմիկների ամուսնությունը տեղի էր ունենում 200 տարի շարունակ՝ սկսած 1516 թվականից մինչև 1700-ական թվականները, հիբրիդիզմի գործակիցը 0.025-ից հասնում էր 0.254-ի: Դրա արդյունքում Հափսբուրգների իսպանական ճյուղին բնորոշ էր դիմային դիսմորֆիզմը (Հափսբուրգների շրթունք), և արդյունքում այն ոչնչացավ: Հիբրիդիզմը կարող է ունենալ նաև դրական էֆեկտ, քանի որ պոպուլյացիայից դուրս են մնում խիստ վտանգավոր ռեցեսիվ ալելները:

- <u>Ընտրություն</u>: Մարդկանց մոտ ~40 սերունդը բավականաչափ է որոշակի հատկանիշների ընտրության համար: Մանգաղաբջջային անեմիան ուներ առավելություն միայն այն պոպուլյացիաներում, որոնք 1500 տարի առաջ զբաղվում էին հողագործությամբ և մշակաբույսեր աճեցնելով:

Դաֆի արյան խմբերի (Fy) հաճախականությունը տարբեր պոպուլյացիաներում կապված է մալարիայի հարուցչի հետ: Օրինակ՝ սպիտակամորթների և ասիացիների մոտ քիչ է հանդիպում Fy0 (aa) ֆենոտիպը (կայուն են *Plasmodium vivax* հարուցչի դեմ), մինչդեռ Աֆրիկայի որոշ պոպուլյացիաներում aa ալելը հանդիպում է >70% հաճախականությամբ: Այս տեղամասերում մալարիայի բացակայությունը մասամբ պայմանավորված է նաև այս մուտացիայով:

- <u>Հիբրիդիզացիա</u>: Ներկայումս մարդկանց պոպուլյացիայում հիբրիդիզացիայի երևույթը բացակայում է, սակայն ենթադրվում է, որ հիբրիդիզացիա տեղի է ունեցել նեանդերթալցիների և դենիսովյան մարդկանց միջև: Բույսերի և որոշ ողնաշարավորների մոտ հիբրիդիզացիան կարող է հանգեցնել նոր տեսակների առաջացմանը:

Մարդու պոպուլյացիաներում պոլիմորֆիզմների օրինակներ

<u>Լակտոզային (թեր)յուրացում</u>

Այս երևույթը հայտնի է՝ սկսած Ք.ա. ~400-ական թթ.: Պատճառն այն է, որ հասուն մարդկանց օրգանիզմում լակտոզը չի ճեղքվում: Տար-

բերում են առաջնային, երկրորդային (ձեռքբերովի) և ժառանգական (աուտոսոմ-ռեցեսիվ) լակտոզային թերյուրացում:

Որպես կանոն, լակտոզի մոլեկուլները ճեղքվում են բարակ աղիքում լակտազ ֆերմենտի մասնակցությամբ: Լակտոզի չճեղքված մոլեկուլները մետաբոլիզացվում են հաստ աղիքի բակտերիաների կողմից, որի հետևանքով առաջանում են ջրածին, ածխաթթու գազ, մեթան, ինչն էլ որովայնային ցավերի պատճառ է դառնում:

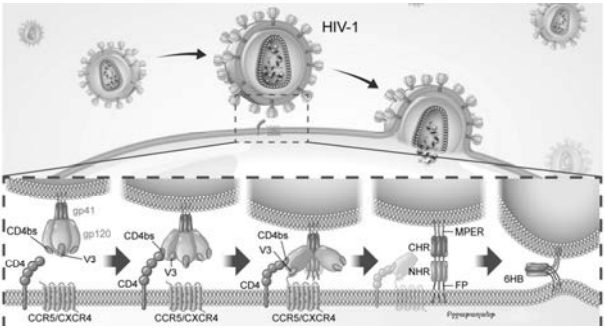
2002 թ. բացահայտվեցին հիմնական պոլիմորֆիզմները, որոնք ապահովում են հասուն անհատների մոտ լակտոզի յուրացումը, սակայն լակտազ ֆերմենտը կողավորող գենում (*LCT*, 2q21) մուտացիաները բացակայում էին:

Լակտոզն առկա է միայն կաթնասունների կաթում (7.2 գ/100 մլ մարդու, 4.7 գ/100 մլ կովի): Այն երեխաների համար ածխաջրերի հիմնական աղբյուրն է: Լակտոզը դիսախարիդ է, որը չի կարող անցնել աղիքային պատով, ուստի բարակ աղիքում ենթարկվում է լակտազ ֆերմենտի կողմից հիդրոլիտիկ ճեղքման, որի արդյունքում առաջանում են գլյուկոզ և գալակտոզ: Լակտազն ակտիվանում է էմբրիոնի մոտ հղիության 8-րդ շաբաթից և հասնում առավելագույն արժեքի հղիության 34-րդ շաբաթում: Ծնվելուց, ինչպես նաև կրծքով կերակրելուց հետո դրա ակտիվությունը աստիճանաբար նվազում է: Չինացիների և ճապոնացիների մոտ լակտազի ակտիվությունը 80-90 % նվազում է կրծքով կերակրելուց 3-4 տարի անց:

Ինչպես արդեն նշվեց, լակտազի գենի նուկլեոտիդային հաջորդականությունը լակտոզային թերյուրացմամբ և ակտիվ յուրացմամբ անհատների մոտ չի տարբերվում: Տարբերությունը, մասնավորապես եվրոպացիների մոտ, հարևան *MCM6* գենի 13-րդ ինտրոնի –13.910 դիրքում հանդիպող սնիփերում է: Դրա արդյունքում փոխվում է Oct-1 տրանսկրիպցիայի գործոնի ճանաչման հատվածը: Տարբեր պոպուլյացիաներում տարբեր մուտացիաները նպաստել են լակտոզի յուրացման առանձնահատկություններին: Դա կարելի է դիտարկել նաև որպես մարդու և կաթնատու ընտանեցված կենդանու միջև կոէվոլյուցիայի օրինակ: Կոէվոլյուցիայի օրինակ է նաև շների կողմից հարմարվելը մարդու խոսքին: Վերջերս բացահայտված մարդու աղապտացիայի օրինակ կարելի է տեսնել ծովասուզմամբ ապրող մարդկանց փոքր պոպուլյացիաներում, որոնք կոչվում են «ծովային քոչվորներ» (թթվածնի ավելի լավ յուրացում):

ՄԻԱՎ-ի նկատմամբ ռեզիստենտություն

Քեմոկինային ընկալիչ CCR5-ը տրանսմեմբրանային սպիտակուց (յոթ տրանսմեմբրանային դոմեններով) է, որը էքսպրեսիայի է ենթարկվում տարբեր բջիջներում, այդ թվում՝ մակրոֆագերում, դենդրիտային բջիջներում, հիշողության T լիմֆոցիտներում, էնդոթելային, էպիթելային և այլ բջիջներում: CCR5-ը մասնակցում է բորբոքային պատասխանին՝ ուղղելով բջիջները դեպի բորբոքման հատվածը: Այս քեմոկինային ընկալիչների հետ միասին ակտիվացնում է T լիմֆոցիտները՝ նպաստելով ցիտոկինների ձերբազատմանը $CD4^+$ T բջիջներից: 1996 թ. բացահայտվեց, որ CCR5-ը ՄԻԱՎ-ի համար հիմնական համընկալիչ է բջջի մեջ ներմուծվելու համար հատկապես վարակման նախնական փուլում: ՁԻԱՀ-ի զարգացման ընթացքում հիմնական համընկալիչը CXCR4-ն է: Բջջի մեջ ներթափանցելու համար ՄԻԱՎ-ը փոխազդում է CD4 ընկալիչի հետ gp120 գլիկոպրոտեինի միջոցով, այնուհետև՝ CCR5 կամ CXCR4 համընկալիչի հետ: Դրա հետևանքով տեղի է ունենում վիրիոնի gp41 ինակտիվ գլիկոպրոտեինի տարածական փոխակերպում, ձևավորվում են 6 պարույրներից կազմված միաձուլման խրձեր (միաձուլման պեպտիդ), ինչի արդյունքում տեղի է ունենում բջջի և վիրիոնի միաձուլում (նկար 20):



Նկար 20. ՄԻԱՎ փոխազդեցությունը T-լիմֆոցիտի թաղանթի հետ (*Viruses. 20191;11(8). pii: E705*):

Ցույց է տրվել, որ CCR5-ի լիգանդներն արգելակում են վիրուսի ներմուծումը բջջի մեջ:

1996 թ. բացահայտվեց CCR5Δ32 մուտացիան, որի դեպքում CCR5 ընկալիչը կոդավորող գենում (3p21) առաջանում է 32 նուկլեոտիդների

դելեցիա 794-825 նուկլեոտիդների միջև: Դելեցիայի հետևանքով տեղի է ունենում ընթերցման շրջանակի տեղաշարժ, որի արդյունքում առաջանում է ստոպ-կոդոն, և ձևավորվում է 215 ամինաթթվից կազմված CCR5, մինչդեռ վայրի տիպի ընկալիչն ունի 352 ամինաթթու: Մուտացիայի արդյունքում վիրուսը չի կարողանում փոխազդել համաընկալիչի հետ, և տեղի չի ունենում բջջի հետ միաձուլումը: Մաթեմատիկական մոդելավորման արդյունքում բացահայտվեց, որ Δ32 մուտացիան առաջացել է ~1500-2500 տարի առաջ: Սպիտակամորթների տարբեր պոպուլյացիաներում այս մուտացիայի հաճախականությունը տատանվում է 4-15 %-ի սահմաններում: Δ32 մուտացիայի առավել բարձր հաճախականությունը դիտվում է աշքենազի հրեաների մոտ՝ 20.93 %, Եվրոպայում հանդիպում է 10 % հաճախականությամբ: Առավել քիչ է հանդիպում է աֆրոամերիկացիների, Արևելյան Ասիայի և Ամերիկայի պոպուլյացիաներում:

2018 թ. Չինաստանում կենսաֆիզիկոս Հե Ջիանկույի ղեկավարությամբ առաջին անգամ գենոմի խմբագրման միջոցով (CRISPR-Cas9) մարդու էմբրիոններում մակածվեց Δ32 մուտացիան (խախտելով էթիկայի կանոնները) ՄԻԱՎ-ի դեմ ռեզիստենտության առաջացման նպատակով: Արդյունքում ծնվել են զույգ երեխաներ, որոնցից մեկը հոմոզիգոտ էր, իսկ մյուսը՝ հետերոզիգոտ՝ ըստ Δ32 ալելի: Ցույց է տրվել, որ Δ32 մուտացիա կրողներն ավելի հակված են տարբեր վիրուսային հիվանդությունների զարգացմանը, իսկ հոմոզիգոտների մոտ 21 %-ով բարձրանում է մինչև 76 տարեկանը մահանալու հավանականությունը: Մեկնաբանելով Հե Ջիանկույի աշխատանքը՝ Կալիֆորնիայի համալսարանի պրոֆեսոր Ալցիևո Սիլվան նշել է. «Էվոլյուցիան բավականին ջանք է գործադրել, որպեսզի ընձեռի մեզ այն գեները, որոնց կարիքը մենք ունենք»:

*Հետաքրքիր է, որ յուրաքանչյուր $CD4^+$ T բջջի մեմբրանում CCR5 ընկալիչի ևվազագույն քանակը պետք է լինի 10.000՝ ՄԻԱՎ-ով բջիջների վարակման համար: Այն հիվանդների մոտ, որոնք ունեն այս քանակից ավելի քիչ CCR5 ընկալիչներ, վիրուսի ներմուծումը բջջի մեջ տեղի է ունենում ավելի ցածր հաճախականությամբ:

Պարբերական հիվանդություն

Պարբերական հիվանդությունը (նաև՝ ընտանեկան միջերկրածովյան տենդ) ժառանգական աուտոբորբոքային հիվանդություն է, որի

ժամանակ հիվանդների մոտ դիտվում են բորբոքային ռեակցիաներ և տենդ ինֆեկցիայի կամ աուտոիմունային պատճառների բացակայության դեպքում (*Manukyan et al. Molecular Genetics of Familial Mediterranean Fever. In eLS, John Wiley & Sons, Ltd (Ed.). 2017*): Օլիգոարթրիթն ու կյանքին պոտենցիալ սպառնալիք ներկայացնող երկրորդային ամիլոիդոզը հիվանդության հիմնական բարդացումներն են: Կոլխիցինի կիրառումը թույլ է տալիս նվազեցնել նոպաների հաճախականությունն ու երիկամային ամիլոիդոզի զարգացումը: Հիվանդության պատճառը պիրին կամ մարենոստրին սպիտակուցը կոդավորող *MEFV* գենի (16p13.3) մուտացիան է: Ներկայումս հայտնի են *MEFV* գենի ավելի քան 360 մուտացիաներ, որոնցից 348-ը մեկ նուկլեոտիդի փոխարինման մուտացիաներ են, 140-ը՝ չդասակարգված կամ անորոշ նշանակությամբ մուտացիաներ: Նկարագրվել են նաև դուպլիկացիաներ, դելեցիաներ և ինսերցիաներ: Առավել հաճախ (հիվանդների 85 %-ի մոտ) հանդիպում են 5 պաթոգեն մուտացիաներ, որոնցից մեկը նկարագրվել է 2-րդ էքզոնում (E148Q), իսկ չորսը՝ 10-րդ (M694V, M694I, M680I, V726A): Այս գեներին սահմանակցող կարճ տանդեմային կրկնողությունների վերլուծությունը թույլ է տվել ենթադրել, որ մուտացիաներն առաջացել են մոտ 7.000-30.000 տարի առաջ:

Պիրին սպիտակուցը կարևոր նշանակություն ունի ապոպտոզի և բորբոքման ազդակի փոխանցման գործընթացում, ինչպես նաև մասնակցում է պիրինային ինֆլամասոմի (բնածին իմունիտետի բազմասպիտակուցային կոմպլեքս) ձևավորմանը:

Մուտացիայի արդյունքում, որպես կանոն, առաջանում է սպիտակուցի գերէքսպրեսիա, որի հետևանքով այն ակտիվորեն փոխազդում է կասպազներն ակտիվացնող ադապտորային սպիտակուցների հետ: Վերջիններս օլիգոմերիզացվում են և ձևավորում կասպազ-1-ակտիվացնող կոմպլեքսը, արտադրվում և ձերբազատվում են ինտերլեյկին 1β և ինտերլեյկին-18: Միևնույն ժամանակ տարբեր աշխատանքներում նկարագրվել է պիրինի ազդեցությունը բջջակմախքի վրա, ինչը նաև ապացուցվում է կոլխիցինի թերապևտիկ էֆեկտիվությամբ: Կոլխիցինը ալկալոիդ է, որի հակամիտոտիկ և հակաբորբոքային էֆեկտները պայմանավորված են տուբուլինային միկրոխողովակների դեպոլիմերիզացման հատկությամբ: Ներկայումս ակտիվորեն ուսումնասիրվում են կոլխիցինի ազդեցության մեխանիզմները պարբերական հիվանդությամբ տառապող հիվանդների մոտ:

Հարկ է նշել, որ հիվանդությունը աուտոսոմ ռեցեսիվ է, սակայն քիչ են հանդիպում նաև հետերոզիգոտ կամ առանց մուտանտ ալելի հիվանդներ: Ենթադրվում է, որ հիվանդության կլինիկական դրսևորման մեծ տարբերությունները պայմանավորված են ոչ միայն գենետիկական, այլև շրջակա միջավայրի գործոններով:

Էվոլյուցիոն ուսումնասիրությունները թույլ են տվել ենթադրել, որ *MEFV* գենի մուտացիաները անցել են դրական սելեկցիա: Որոշ հեղինակներ ենթադրում են, որ մուտացիայի արդյունքում սինթեզված սպիտակուցը ընձեռում է բրուցելյոզի և թոքախտի նկատմամբ կայունություն, սակայն ուղղակի ապացույցները բացակայում են: Հետաքրքիր է, որ որոշ այլ տեսակների մոտ մարդու համար պաթոգեն մուտացիաները գենի նորմալ տարբերակներ են:

Պարբերական և ժառանգական այլ աուտոբորբոքային հիվանդությունների մասին տեղեկատվություն կարելի է գտնել հետևյալ հղումով՝ *https://infevers.umai-montpellier.fr/web/*:

17.1. Հայերի էթնոգենետիկան

կ.գ.դ., պրոֆեսոր Լ. Մ. Եպիսկոպոսյան

Պոպուլյացիոն գենետիկայի կարևոր մասն է նաև էթնոգենեզը, որն ունի ոչ միայն գիտական, այլև քաղաքական կարևոր նշանակություն: Այս բաժնում հակիրճ անդրադառնանք հայերի էթնոգենեզին, որը, կարելի է ասել, սկսվում է 15.000 տարի առաջ՝ Հայկական լեռնաշխարհում, երբ վերջին սառցե դարաշրջանի սառույցի հաստ շերտերը սկսեցին նահանջել դեպի հյուսիս: Գտնվելով Եվրոպայի և Մերձավոր Արևելքի անցուղային հատվածում՝ Հայկական լեռնաշխարհը ծառայել է որպես միջանցիկ տարածք նախապատմական և պատմական խոշոր միգրացիաների համար: Ժամանակակից հայերի գենոֆոնդը գրեթե 70 %-ը բաղկացած է այնպիսի գենետիկական տարբերակներից, որոնք բնորոշ են Հայկական լեռնաշխարհից դեպի հարավ տարածվող պոպուլյացիաներին: Այս ժողովուրդները բնակեցրել են Հայկական լեռնաշխարհը նաև նեոլիթի ժամանակաշրջանի ընթացքում Լևանտից (հարավային միջերկրածովյան տարածքներ) դեպի Եվրոպա հողագործների միգրացիայի ժամանակ՝ մոտ 8-10 հազ. տարի առաջ: Հետագայում նախահայերի գենոֆոնդը ենթարկվել է աստիճանական մեկուսացման

հարևան պոպուլյացիաների հետ գենետիկական կապերի կրճատման շնորհիվ (~4.500 տարի առաջ) և գրեթե չի փոփոխվել մինչ օրս:

Այսպիսով՝ ժամանակակից հայերի գենոֆոնդը եվրասիական բնակչության տարբեր հատվածների խառնուրդ է, որը տեղի է ունեցել Ք.ա. ~3000-2000 տարի առաջ: Սա հիմնավորվում է նաև լեզվաբանական հետազոտությունների արդյունքներով: Ցույց է տրվել, որ հայերենը անջատվել է ընդհանուր հնդեվրոպական լեզվաընտանիքից մոտ 5 հազ. տարի առաջ: Հիմնվելով գենետիկական/մարդաբանական և լեզվաբանական տվյալների վրա՝ կարելի է եզրակացնել, որ ձևավորված հայ ժողովրդի պատմությունը/գենոֆոնդը 5.000 տարեկան է: Հետաքրքիր է, որ հայերի գենոֆոնդում գրեթե բացակայում են թյուրքալեզու և արաբական ցեղերին բնորոշ գենետիկական մարկերները: Պեղումների արդյունքում բացահայտված ոսկրանյութի և ժամանակակից հայերի միտոքոնդրիումային ԴՆԹ-ի հիման վրա բացահայտվել է Հայկական լեռնաշխարհի արևելյան շրջանների բնակիչների առնվազն ութ հազարամյա գենետիկական անքակտելիությունը: Հարկ է նշել, որ ազգային էթնոգենեզի ուսումնասիրումն ունի էական գիտական նշանակություն, քանի որ թույլ է տալիս հաստատել և բացահայտել մարդու պոպուլյացիաների միգրացիաների ուղիներն ու տարբեր պոպուլյացիաների կապը միմյանց հետ:

18. Ամփոփում

Այս գիրքը թույլ է տալիս ընթերցողին պատկերացում կազմել մարդու գենետիկայի լայնածավալ ուսումնասիրությունների դաշտի վերաբերյալ: Ինչպես երևում է Գլուխ 19-ից, կան բազմաթիվ գրքեր, որոնցում կարելի է գտնել ավելի մանրամասն տեղեկատվություն, ինչպիսին է, օրինակ, պոպուլյացիոն գենետիկան, որը փայլուն կերպով նկարագրված է Ջոն Ռելեթֆորդի 300 էջից բաղկացած գրքում, մինչդեռ այստեղ ներկայացված է 12 էջում:

Ամփոփման համար մեջբերենք Պուլիցերյան մրցանակակիր Սիդհարթիա Մուխերջիի «Գեն» գրքից մի հատված. «Գենը ժառանգական ինֆորմացիայի հիմնական միավորն է՝ հիմնված ունիվերսալ գենետիկական կոդի վրա: Գեները ֆենոտիպին հանգեցնող բազմաթիվ գործոններից մեկն են: Տարբեր ալելներ կազմում են պոպուլյացիայի հետերոգենությունը, սակայն յուրաքանչյուրս 6.7 միլիարդ այլ մարդկանց հետ կիսում ենք մեր գենոմի կողավորող ԴՆԹ հաջորդականությունների 99.688 %-ը: Այնուամենայնիվ, գեների և ԴՆԹ կրկնողությունների թվի տարբեր փոփոխությունները միջավայրի գործոններին զուգահեռ դրսևորվում են մարդու՝ կյանքի ընթացքում միշտ փոփոխական, ֆենոտիպի տեսքով (*Siddhartha M. The Gene: An Intimate History. Vintage, 2016*)»:

19. Հիմնական գրականության ցանկ

- *Ազարյան Ն., Մոլեկուլային գենետիկայի գործնական աշխատանքների ուսումնամեթոդական ձեռնարկ: Խմբագիր՝ Ռ. Հարությունյան, ԵՊՀ հրատարակչություն, 2007:*
- *Հովհաննիսյան Գ., Գևորգյան Ա, Մարդու մոլեկուլային բջջագենետիկա: Խմբագիր՝ Ռ. Հարությունյան, ԵՊՀ հրատարակչություն, 2008:*
- *Ջալինյան Գ., Կիրակոսյան Ա, Մարդու գենետիկայի մեթոդներ: Խմբագիր՝ Գ., Հովհաննիսյան, ԵՊՀ հրատարակչություն, 2014:*
- *Հովհաննիսյան Գ., Գենետիկական բունաբանության հիմունքներ: Խմբագիր՝ Ռ. Հարությունյան, ԵՊՀ հրատարակչություն, 2016:*
- *Епископосян Л., Когда генетика и история сталкиваются, Ереван, 2008.*
- *Heng H., Debating Cancer: The Paradox in Cancer Research. World Scientific, 2015.*
- *Korf B., Irons M., Human Genetics and Genomics. 4th Ed. Wiley-Blackwell, 2007.*
- *Lewis R., Human Genetics: Concepts and Applications. McGraw-Hill Education. 2014.*
- *Liehr T. (Ed.), Fluorescence in situ Hybridization (FISH) – Application Guide, 2nd Ed., Springer, 2017.*
- *Liehr T., Small Supernumerary Marker Chromosomes (sSMC) . A Guide for Human Geneticists and Clinicians; With contributions by UNIQUE (The Rare Chromosome Disorder Support Group). Springer, 2012.*
- *Liehr T., Uniparental Disomy (UPD) in Clinical Genetics. A Guide for Clinicians and Patients. Springer, 2014.*
- *Liehr T., Benign & Pathological Chromosomal Imbalances, 1st Edition Microscopic and Submicroscopic Copy Number Variations (CNVs) in Genetics and Counseling. Academic Press, 2014.*
- *Mukherjee S., The Gene: An Intimate History. Vintage, 2016.*
- *Relethford J., Human Population Genetics. Wiley-Blackwell, 2012.*
- *Speicher et al., Vogel and Motulsky's Human Genetics: Problems and Approaches. Springer, 2010.*
- *Strachan T., Read A., Human Molecular Genetics. Taylor & Francis Ltd., 2010.*
- *Dean L., Blood Groups and Red Cell Antigens [Internet]. Bethesda: National Center for Biotechnology Information (US); 2005.*
- *Luijten et al., Mutational game changer: Chromothripsis and its emerging relevance to cancer. Mutat Res. 2018 Jul - Sep;777:29-51.*

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԼԻՒ ԹՈՄԱՍ, ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ ՏԻԳՐԱՆ,
ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ ԳԱԼԻՆԱ

ՄԱՐԴՈՒ ԳԵՆԵՏԻԿԱՅԻ ՀԻՄՈՒՆՔՆԵՐԸ

Համակարգչային ձևավորումը՝ Կ. Չալաբյանի
Կազմի ձևավորումը՝ Ա. Պատվականյանի
Հրատ. խմբագրումը՝ Մ. Հովհաննիսյանի

Տպագրված է «ՎԱՌՄ» ՍՊԸ-ում:
Ք. Երևան, Տիգրան Մեծի 48, բն. 43

Ստորագրված է տպագրության՝ 26.06.2020:
Չափսը՝ 60x84 $^{1}/_{16}$: Տպ. մամուլը՝ 10.75:
Տպաքանակը՝ 100:

ԵՊՀ հրատարակչություն
Ք. Երևան, 0025, Ալեք Մանուկյան 1
www.publishing.am



ՀՐԱՏԱՐԱԿՉՈՒԹՅՈՒՆ
ԵՐԵՎԱՆ 2020
publishing.ysu.am