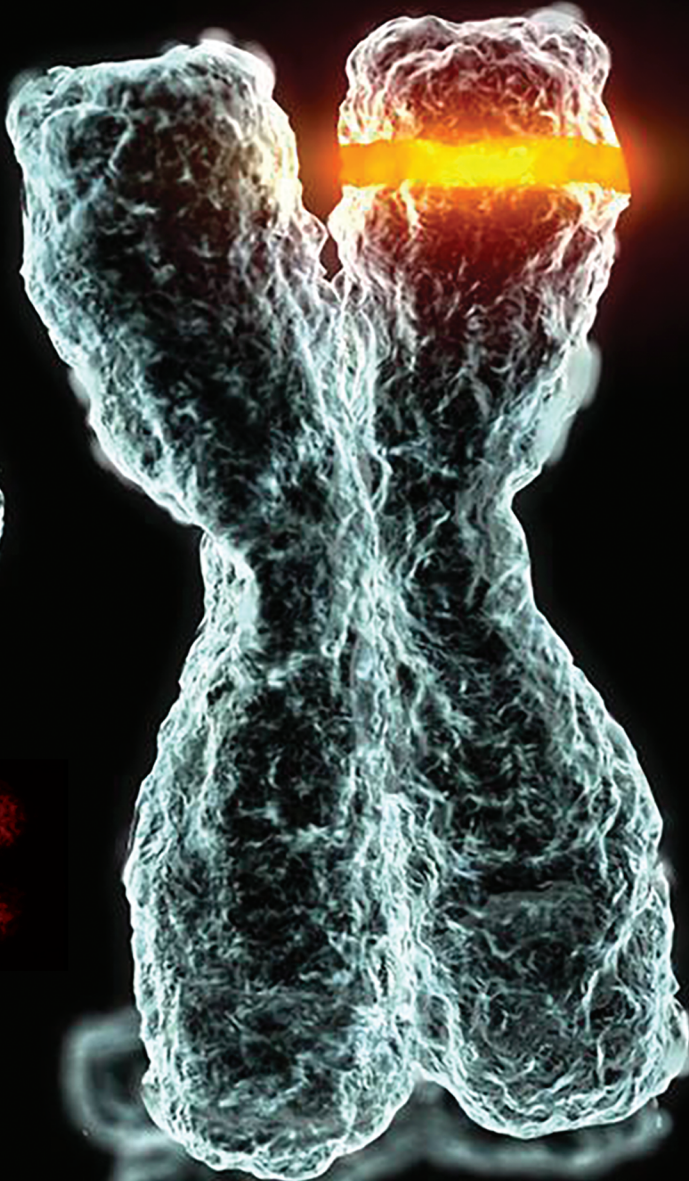
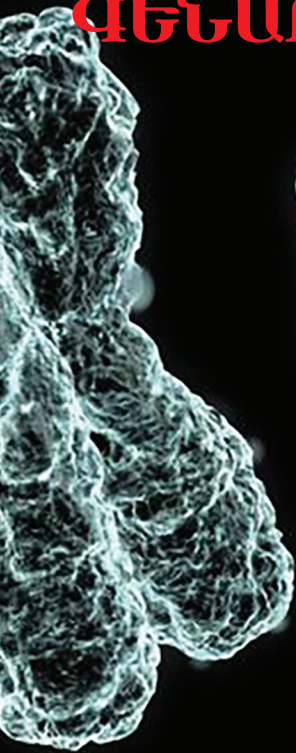


ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ
ՆԱԽՆԱԽԱՐԱՆ

Տիգրան Նարոթյունյան

**ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ
ԳԵՆԱԹՈՒՆԱԲԱՆՈՒԹՅՈՒՆ**



ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ՏԻԳՐԱՆ ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ

ԳԵՆԱԹՈՒՆԱԲԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

ԵՐԵՎԱՆ

ԵՊՀ ՀՐԱՏԱՐԱԿՉՈՒԹՅՈՒՆ

2026

ՀՏԴ 575:615.9
ԳՄԴ 28.04+52.84
Հ 422

*Հրատարակության է երաշխավորել
ԵՊՀ գիտական խորհուրդը:*

Գիրքը տպագրվել է ԵՊՀ գենետիկայի և բջջաբանության ամբիոնում գործող մոլեկուլային բջջագենետիկայի հայ-գերմանական միացյալ լաբորատորիայի գործունեության ու ՀՀ ԿԳՄՄԸ բարձրագույն կրթության և գիտության կոմիտեի ծրագրերի (21AG-1F068; 22SC-BMBF-1C001) շրջանակում:

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

Գրախոսներ՝ **Գ. Գ. Հովհաննիսյան**
ԵՊՀ գենետիկայի և բջջաբանության ամբիոնի պրոֆեսոր,
կենսաբանական գիտությունների դոկտոր

Ա. Ա. Առաքելյան

ՀՀ ԳԱԱ մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտ, կենսաբանական գիտությունների դոկտոր

Գ. Ս. Մելիքյան

ԵՊՀ օրգանական քիմիայի ամբիոնի պրոֆեսոր, քիմիական գիտությունների դոկտոր

Հարությունյան Տիգրան

Հ 422 Մոլեկուլային գենաթունաբանություն: Մենագրություն / Տ. Հարությունյան.- Եր.: ԵՊՀ հրատ., 2026, 412 էջ:

Մենագրությունը անդրադարձ է կատարում շրջակա միջավայրի բազմաբնույթ գործոնների գենաթունային ազդեցություններին ու դրանց կենսամարկերների առաջացման մոլեկուլային մեխանիզմներին (պատճառներին), նաև բնութագրվում են գենաթունայնների խմբերը, դրանց դասակարգման խնդիրները, սկզբունքներն ու թեստավորման ստանդարտացված մեթոդները:

Հակիրճ ներկայացված է մարդու անհատական գենետիկական առանձնահատկությունների և միջավայրի գործոնների նկատմամբ կենսաբանական պատասխանի կապը: Դրա հիման վրա ձևավորվում և զարգանում են անհատականացված կենսաբժշկության արդի ոլորտները, նաև քննության է առնվում գենետիկայի և արհեստական բանականության մեթոդների համակցման նշանակությունը առողջապահության ոլորտի, ներառյալ պոտենցիալ կանցերոզեն միացությունների հայտնաբերման և կենսաբանական թիրախների կանխատեսման համար:

ՀՏԴ 575:615.9
ԳՄԴ 28.04+52.84

ISBN 978-5-8084-2752-5
<https://doi.org/10.46991/YSUPH/9785808427525>

© ԵՊՀ հրատ., 2026
© Հարությունյան Տ., 2026

Բովանդակություն

ԽՐԱԳՐԻ ԽՈՍՔ 6

ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ 9

1. ԷՔՄՊՈԶՈՍ, ԷՔՄՊՈԶՈՍԻԿԱ ՈՒ ԿԵՆՍԱՍԱՐԿԵՐՆԵՐ ... 16

2. ՔՍԵՆՈՐԻՈՏԻԿՆԵՐԻ ԿԵՆՍԱՓՈԽԱԿԵՐՊՄԱՆ
ՀԱՄԱԿԱՐԳ..... 30

 2.1. ՔՍԵՆՈՐԻՈՏԻԿՆԵՐԻ ԿԵՆՍԱՓՈԽԱԿԵՐՊՄԱՆ ՓՈԻԼԵՐԸ..... 30

 2.2. ՑԻՏՈՔՐՈՍ P450-Ի ՊՈԼԻՄՈՐՖԻԶՄՆԵՐԸ 34

3. ՉՏԱՐ, 3D-ՉՏԱՐ ԵՎ ՖԱՐՄԱԿՈՖՈՐՆԵՐ 38

 3.1. ՖԱՐՄԱԿՈՖԵՆԵՏԻԿԱ ՈՒ ՖԱՐՄԱԿՈՖԵՆՈՍԻԿԱ..... 46

 3.2. ԱՐՀԵՏՍԱԿԱՆ ԲԱՆԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ԿԻՐԱՌՈՒՄԸ
(ԳԵՆԱ)ԹՈՒՆԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ ՄԵԶ..... 53

4. ԳԵՆԱԹՈՒՅՆԵՐ ՈՒ ԴՐԱՆՑ ԴԱՄԱԿԱՐԳՈՒՄԸ..... 61

 4.1. ՔԻՄԻԱԿԱՆ ՄՈՒՏԱԳԵՆՆԵՐ 68

 4.1.1. *Ուղղակի ազդեցությամբ քիմիական մուտագեններ ... 69*

 4.1.2. *Անուղղակի ազդեցությամբ քիմիական
մուտագեններ 80*

 4.2. ՖԻԶԻԿԱԿԱՆ ՄՈՒՏԱԳԵՆՆԵՐ 108

 4.2.1. *Իոնացնող ճառագայթման տեսակները..... 109*

 4.2.2. *Ճառագայթային ֆոն..... 117*

 4.2.3. *Իոնացնող ճառագայթման կենսաբանական
էֆեկտները..... 120*

 4.2.4. *Իոնացնող ճառագայթման զենետիկական
էֆեկտները..... 137*

 4.2.5. *Իոնացնող ճառագայթման բայսթենդեր էֆեկտները. 157*

 4.2.6. *Իոնացնող ճառագայթման ժառանգական
էֆեկտները..... 175*

 4.2.7. *Ոչ իոնացնող ճառագայթման կենսաբանական
էֆեկտները..... 179*

4.2.8. Ուլտրամանուշակագույն (ՈւՄ) ճառագայթման գենետիկական էֆեկտները.....	184
4.2.9. Հակաճառագայթային միջոցներ.....	191
4.3. ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՍՈՒՏԱԳԵՆՆԵՐ.....	198
4.3.1. Վիրուսների գենաթունային էֆեկտները.....	198
4.3.2. Տրանսպոզացվող էլեմենտների գենաթունային էֆեկտները.....	212
4.3.3. Բակտերիաների գենաթունային էֆեկտները.....	218
4.4. ԷՊԻԳԵՆԱԹՈՒՅՆՆԵՐ.....	226
4.5. ՄԻԿՐՈՊԼԱՍՏԻԿ.....	237
5. ԳԵՆԱԹՈՒՆԱՅԻՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ	
ԿԵՆՍԱՄԱՐԿԵՐՆԵՐԸ.....	244
5.1. ԴՆԹ ՕՔՍԻԴԱՑՄԱՆ ՎՆԱՍՎԱԾՔՆԵՐ.....	246
5.2. ԴՆԹ ԱՐՈՒԿՏՆԵՐ.....	265
5.3. ԴՆԹ ԿՈՄԵՏՆԵՐ.....	269
5.4. ԿՄ2ԱՄ ԼՈԿՈՒՄՆԵՐ.....	279
5.5. ՔՐՈՍՏՈՍՄԱՅԻՆ ԱԲԵՈՒՑԻԱՆԵՐ.....	284
5.5.1. Քրոմոտրիփսիս.....	289
5.5.2. Քրոմոսոմային տարածքներ.....	291
5.6. ՄԻԿՐՈԿՐՈՒԶՆԵՐ.....	296
5.6.1. ՄԿ կիրառումը մարդկանց պոպուլյացիաներում գենաթունաբանական մշտադիտարկման համար.....	303
5.7. ՄԻՆԻՍԱՏԵԼԻՏԱՅԻՆ ԴՆԹ-Ի ՍՈՒՏԱՅԻԱՆԵՐ.....	306
5.8. ԹԵԼՈՄԵՐՆԵՐԻ ՎՆԱՍՎԱԾՔՆԵՐ.....	309
5.9. ԴՆԹ ԿՐԿԼՕՐԻՆԱԿՆԵՐԻ ԹՎԻ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ (CNV)....	325
5.10. ՄՏԴՆԹ ԻՆՏԵՐՑԻԱՆԵՐԸ ԿՈՐԻԶԱՅԻՆ ԳԵՆՈՍՈՒՄ.....	334
5.11. ԱՐՏԱԲԶԶԱՅԻՆ ԴՆԹ.....	345
6. ԳԵՆԱԹՈՒՆԱԲԱՆԱԿԱՆ ԹԵՍՏԱՎՈՐՄԱՆ	
ՍԿԶԲՈՒՆՔՆԵՐԸ.....	349
6.1. ԳԵՆԱԹՈՒՆԱԲԱՆԱԿԱՆ ԹԵՍՏ-ՄԱՐՏԿՈՅՆԵՐ.....	353

6.2. ԳԵՆԱԹՈՒՆԱԲԱՆԱԿԱՆ ԹԵՍՏԱՎՈՐՄԱՆ ՈՒՂԵՑՈՒՅՑՆԵՐԻ ՍՇԱԿՄԱՆ ԽՆԴԻՐՆԵՐԸ	358
7. ԳԵՆԱԹՈՒՆԱԲԱՆԱԿԱՆ ԹԵՍՏԱՎՈՐՄԱՆ ՍՏԱՆԴԱՐՏ ՄԵԹՈՂՆԵՐ	363
7.1. ԷՅՄՄԻ ԹԵՍՏ (OECD TG 471).....	364
7.2. ՔՐՈՍՈՍՈՄԱՅԻՆ ԱԲԵՌԱՅԻԱՆԵՐԻ ԹԵՍՏ <i>IN VITRO</i> (OECD TG 473).....	372
7.3. ՄԻԿՐՈԿՈՐԻԶՍԻՆ ԹԵՍՏ <i>IN VITRO</i> (OECD TG 487).....	383
7.4. ԳԵՆԱՅԻՆ ՍՈՒՏԱՅԻԱՆԵՐԻ ԳՆԱՀԱՏՄԱՆ ԹԵՍՏԵՐ <i>IN VITRO</i>	393
7.4.1. Գենային մուտացիաների գնահատման <i>MLA/TK6</i> թեստ <i>in vitro</i> (OECD TG 490).....	393
7.4.2. Գենային մուտացիաների գնահատման <i>HPRT/XPRT</i> թեստ <i>in vitro</i> (OECD TG 476).....	395
7.5. ՄԿ ԹԵՍՏ <i>IN VIVO</i> (OECD TG 474).....	396
7.6. ԴՆԹ ԿՈՄԵՏՆԵՐԻ ԹԵՍՏ <i>IN VIVO</i> (OECD TG 489)	401
ԱՍՓՈՓՈՒՄ	408
PE3IOME.....	410
SUMMARY.....	411

Խմբագրի խոսք

Գենետիկական թունաբանությունը գենետիկայի կարևոր ճյուղերից մեկն է, որն ուսումնասիրում է շրջակա միջավայրի գործոնների ազդեցությունը գենոմի վրա: Այն հատկապես արդիական է Հայաստանում՝ շրջակա միջավայրի աղտոտվածության բարձր մակարդակի ու քաղցկեղի աճող դեպքերի պայմաններում: Ցավոք, մինչ օրս ապագա սերունդների բնածին պաթոլոգիաների ու գենետիկական անոմալիաների պատճառները հաճախ մնում են որպես «սև արկղ»: ԴՆԹ մոլեկուլի ու գեների վրա գենաթույնների ազդեցության ուսումնասիրությունը ժամանակակից մոլեկուլային կենսաբանական մոտեցումների կիրառամբ կարող է թույլ տալ գնահատել շրջակա միջավայրի ռիսկերի պատճառներն ու երկարաժամկետ հետևանքները: Մինևույն ժամանակ Հայաստանի առջև կանգնած լուրջ մարտահրավերների պայմաններում գենետիկական թունաբանության զարգացումը մեր երկրում դառնում է խիստ արդիական խնդիր:

Մարդու բջիջների վրա մուտագենների ազդեցության վերաբերյալ հիմնարար հետազոտությունները Հայաստանում սկսվել են դեռևս հիսուն տարի առաջ Երևանի պետական համալսարանի կենսաբանության ֆակուլտետի գենետիկայի և բջջաբանության ամբիոնում: Հետագայում այս ուսումնասիրությունները լրացվել են բույսերի ու կենդանիների վրա փորձարկումների աշխատանքներով: Ընդ որում՝ վերջին տարիների ընթացքում այդ աշխատանքների շրջանակում առաջին անգամ Հայաստանում ներդրվել են ժամանակակից հետազոտական մի շարք մեթոդներ: Ներկայումս գենետիկական թունաբանության ոլորտում աշխատանքներն ակտիվորեն իրականացվում են մեր ֆակուլտետն ավարտած մասնագետների կողմից ինչպես ԵՊՀ կենսաբանության ինստիտուտի ընդհանուր և մոլեկուլային գենետիկայի լաբորատորիայում, այնպես էլ ՀՀ ԳԱԱ մոլեկուլային կենսաբանու-

թյան ինստիտուտի բջջային տեխնոլոգիաների ու «ՔԵՆԴԼ» ինստիտուտի ճառագայթային կենսաբանության լաբորատորիաներում:

Խորհրդանշական է, որ «ՔԵՆԴԼ» ինստիտուտի «ԱՐԵԱԼ» արագացուցիչում մարդու բջիջների վրա արագացված էլեկտրոնների ճառագայթման ազդեցության ուսումնասիրության ոլորտում առաջին արդյունքները ստացվել են մեր ամբիոնի ու լաբորատորիայի աշխատակիցները կողմից:

Գենետիկական թունաբանության հիմունքների, հատկապես դրա մոլեկուլային առանձնահատկությունների իմացությունն անհրաժեշտ է գենետիկայի, մոլեկուլային կենսաբանության, կենսաֆիզիկայի ու կենսաքիմիայի, ճառագայթային կենսաբանության, էկոլոգիայի, հիգիենայի, դեղագիտության, ուռուցքաբանության, արյունաբանության ու վերարտադրողական գիտության ոլորտի ցանկացած ժամանակակից հետազոտողի համար:

Ներկայումս Հայաստանում գենետիկական թունաբանության ոլորտում աշխատում են որակավորված մասնագետներ, իսկ լաբորատորիաները հազեցած են ժամանակակից սարքավորումներով, ինչը հետագա զարգացման նախապայման է: Ավա դ, մինչ օրս հայերենով գենետիկական թունաբանության ու դրա կենսամարկերների առաջացման մոլեկուլային մեխանիզմներին նվիրված մենագրություն չկա: «Մոլեկուլային գենաթունաբանություն» գիրքը, որը շարադրված է կենդանի ու հետաքրքիր ոճով, ոչ միայն լրացնում է այս բացը, այլև, վստահ եմ, խթանելու է մեր գիտության նկատմամբ հետագա հետաքրքրությունը:

Գրքում ներկայացված են ինչպես դասական, այնպես էլ արդի գենաթունաբանության խնդիրներն ու մեթոդները, վերջին տարիներին բացահայտված (այդ թվում՝ մեր աշխատակիցների կողմից) գենաթունաբանական կենսամարկերներն ու գենաթունաբանական հետազոտությունների ներդրումն անհատականացված ֆարմակոլոգիայի զարգացման համար: Գրքի առանց-

քային կարևորություններից մեկն այն է, որ մանրամասն բացատրվում են ներկայացված կենսամարկերների առաջացման մոլեկուլային պատճառները: Քննարկվում են նաև արհեստական բանականության ու գենետիկական թունաբանության զուգակցման արդեն իսկ ստացված արդյունքներն ու հետագա զարգացման միտումները:

*ՀՀ ԳԱԱ թղթակից անդամ, կ.գ.դ.,
պրոֆեսոր Ռուբեն Հարությունյան*

Ներածություն

Երբևիցե մտածե՞լ էք, թե ինչպես են բնության մեջ կենդանիները տարբերում ուտելի ու վնասակար բույսերը կամ թունավոր այլ կենդանիներին: Այդ տեղեկատվությունը կամ հմտությունները կենդանիները ստանում են «գիտափորձերի» ու ձախողումների արդյունքում, ինչպես նաև սովորում են իրենց ծնողներից կամ պոպուլյացիայի ավելի փորձառու (տարեց) առանձնյակներից: Ավելին՝ որոշ կենդանի օրգանիզմներ օգտագործում են բուժական հատկություններով տարբեր բույսեր, միներալներ, միջատներ կամ հոգեակտիվ նյութեր ինքնաբուժման նպատակով՝ հիմք դնելով գոտֆարմակոգնոզիային, որի հիմքում նույնպես ընկած են բազմաթիվ փորձերի արդյունքում *հաճախակի* առաջացող ձախողումներն ու *հազվադեպ* արձանագրվող հաջողությունները: Այսպիսով՝ կարող ենք վստահաբար ասել, որ բնության մեջ առաջացած առավել հին մասնագիտությունը թունաբանությունն է:

Թունաբանության ծագումը

Թունաբանությունը սկիզբ է առնում դեռևս հնագույն ժամանակներից, երբ մարդիկ բացահայտել էին, թե որ բույսերը, սերմերը կամ պտուղներն էին անվտանգ՝ սննդի մեջ օգտագործելու համար: Հավանաբար այդ փորձերի ընթացքում կենսականորեն կարևոր գիտելիքը ձեռք էր բերվում տհաճ զգացողությունների, երբեմն էլ՝ մահվան դեպքերի միջոցով: Սակայն մարդիկ հասկացան, թե օրգանիզմի համար ինչպիսի օտարածին նյութերի ընդունումն է ունենում դրական ու բացասական ազդեցություններ

«Թունաբանության հայրը» շվեյցարացի բժիշկ, փիլիսոփա ու այլքիմիկոս **Պարացելսն է** (Ֆիլիպուս Աուռեռլուս Թեոֆրաստուս Բոմբաստուս ֆոն Հոհենհայմ) (1493-1543 թթ.), որը պնդում էր, թե ցանկացած նյութ թույն է և միայն տվյալ նյութի կոնցենտրացիան

է որոշում թունայնության աստիճանը: Այս գաղափարը, որը հարյուրամյակներ առաջ ներկայացվել էր Պարացելսի կողմից, ներկայումս ընկած է շեմային թունաբանական էֆեկտի (թեստավորված միացության առավել բարձր կոնցենտրացիան, որի ազդեցությամբ չեն դիտվում բացասական հետևանքներ) հիմքում: Պարացելսը (պարա-Ցելս՝ Ցելսից (հին հռոմեացի բժիշկ) վեր) պահանջում էր, որ իր ժամանակի բժիշկները հիմնվեն **փորձարարական փաստերի**, այլ ոչ թե միայն հեղինակությունների (օրինակ՝ Ավիցենայի ու Արիստոտելի) պնդումների վրա:

Պարացելսի առավել հայտնի աշխատանքները առնչվում էին սնդիկի դեղաբանական կիրառությանը: Նա պնդում էր, որ սնդիկի ոչ թունավոր՝ շեմային կոնցենտրացիայից ցածր չափաբաժիններն ունեն բուժիչ ազդեցություն սիֆիլիսի դեմ: Մակայն Պարացելսը չգիտեր, որ սնդիկն ու դրա օրգանական աղերն ունակ են կուտակվելու հյուսվածքներում ու փոխանցվելու սննդային շղթաներով՝ առաջացնելով ծանր ախտաբանական ազդեցություններ: Դրա օրինակն է Մինամատայի հիվանդությունը: 1950 թ. Ճապոնիայի Մինամատա ձկնորսական գյուղի մոտակայքում գտնվող գործարանից դեպի գետն են արտահոսում սնդիկ պարունակող ջրային թափոնները: Կարճ ժամանակ անց ձկնորսների առողջ կանանց մոտ սկսում են ծնվել մտավոր հետամնացությամբ ու սպաստիկ պարապլեգիայով (ոտքերի մկանների տոնուսի անկում ու ոչ կամայական կծկումներ) երեխաներ: Միայն 1962 թ. հնարավոր եղավ պարզել (մշակվեց սնդիկի հայտնաբերման քրոմատոգրաֆիայի մեթոդ), որ սնդիկն ունակ է կուտակվելու ձկնամթերքներում ու մարդու տարբեր հյուսվածքներում (ներառյալ պորտալարի հյուսվածքներում): Այսպիսով պարզ դարձավ, որ հղի կանանց համար սնդիկի անվտանգ չափաբաժինները կարող են ունենալ թունաբանական ազդեցություններ սաղմի մոտ: Ուստի ձևավորվեց նոր գաղափար. ***մարդու անհատական զարգացման ընթացքում նյութի ազդեցության պահը պայմանավորում է այդ նյութի թունայնությունը:***

Մարդիկ մասնագիտական գործունեության ընթացքում կարող են ենթարկվել թունաբանական էֆեկտներ ունեցող գործոնների ազդեցությանը, որի հետազոտման հիմքը նույնպես դրել է Պարացելսը: Վերջինիս պնդմամբ «հանքափորների հիվանդությունն» (սիլիկոզ՝ թոքային հյուսվածքի վնասում սիլիցիումի կուտակման պատճառով) առաջանում է ոչ թե մեղսագործության հետևանքով՝ լեռների ոգիների անեծքներից, այլ մետաղների գուլորշիները շնչելու արդյունքում:

Պարացելսն առաջինն էր, որ փորձեց ներմուծել փորձարարական քիմիան բժշկության մեջ: Նրա կարծիքով հիվանդությունները տեղայնացված էին որոշակի օրգաններում (մշակեց «թիրախ օրգան» հասկացությունը), որի հիման վրա զարգացավ թունաբանության առանցքային մոտեցումներից մեկը՝ *օրգան-սպեցիֆիկ թունայնության թեստավորումը*: Պարացելսը պնդում էր, որ գոյություն ունեն օրգաններ, որտեղ համապատասխան քիմիական միացությունները դրսևորում են առավել բարձր թունաբանական ազդեցություններ: Նա խրախուսում էր *կենդանիների օգտագործումը* քիմիական տարբեր նյութերի թեստավորման նպատակով (*in vivo* թեստավորում): Պարացելսը ջանում էր ներմուծել փորձարարական մոտեցումները բժշկության ու կրթության ոլորտներում, ինչն ավելի էր բորբոքում իր ժամանակակիցների զայրույթը:

Ըստ Պարացելսի՝ մասնագետը (ցանկացած ոլորտում) «ծնվում է» գիտելիքի ու փորձի համակցության ճանապարհով: Մինևույն ժամանակ Պարացելսը զգալի նշանակություն էր տալիս մասնագետի բնավորությանն ու մարդկային հատկանիշներին: Նա գրում էր. «Արդյո՞ք կարելի է վստահել անկիրթ ու անտաշ բժշկին, գիտնականին կամ սովորական մարդուն: Արդյո՞ք գիտության մեջ կառաջանային էթիկայի խնդիրները, եթե գիտնականները (բժիշկները) լինեին անսխալ: Քի՛չ հավանական է»:

Բժշկության մեջ իր զգալի ներդրումն է ունեցել Պարացելսի «Der grossen Wundartzney» վիրաբուժության գիրքը:

Այսպիսով՝ Պարացելսը հիմնադրել է ժամանակակից թունաբանության մի շարք գաղափարներ (օրինակ՝ չափաբաժնից կախված էֆեկտ, օրգան-սպեցիֆիկ թունայնություն, նվազագույն անվտանգ չափաբաժին և այլն), որոնք լրացվել և/կամ փոխարինվել են **փորձարարական ու վերաբուժողական արդյունքների** հիման վրա ստացված եզրակացություններով:

Մոլեկուլային գենետիկայի, գենոմիկայի, կենսաքիմիայի ու կենսաինֆորմատիկայի մեթոդների զուգակցված կիրառումը զգալիորեն ընդլայնել է թունաբանության ոլորտն ու ստացվող տվյալների մշակման հնարավորությունները: Ստեղծվել են նյութերի տոքսիկոլոգիայի վերաբերյալ տեղեկատվարաններ ու գրադարաններ, որոնցում զետեղված նյութերի կառուցվածքի մասին տվյալները կարելի է օգտագործել այդ նյութերի հավանական թիրախների ու դրանց թունայնության կանխատեսման համար:

Արդի թունաբանության ու դեղերի մշակման ոլորտում հեղափոխական գործիքներից է նաև արհեստական բանականությունը: Այն թույլ է տալիս տասնյակ անգամ արագացնել թունայնության կանխատեսման գործընթացը, նվազեցնել փորձարարական կենդանիների քանակը (կամ ապագայում լիովին հրաժարվել *in vivo* մոդելներից), խթանել պոլիֆարմակոլոգիայի ու անհատականացված բժշկության մուտքն առողջապահական համակարգ: Միաժամանակ արհեստական բանականությունը կարող է նպաստել թանկարժեք դեղամիջոցների հասանելիությանը: Ներկայումս աշխարհի ամենաթանկ տասը դեղամիջոցների ընդհանուր գումարը կազմում է ավելի քան 30 մլն ԱՄՆ դոլար, մինչդեռ արհեստական բանականության կիրառումը զգալիորեն կարող է նպաստել նմանօրինակ խնդիրների լուծման համար: Ներկայումս ստանդարտ մեթոդների կիրառմամբ նոր դեղամիջոցի արտադրությունը պահանջում է ավելի քան 2 մլրդ ԱՄՆ դոլար և

տևում 6-10 տարի: Դրա արդյունքում 10 թեկնածու միացություններից առանձնացվում է մեկը, որը մտնում է կլինիկա: Ենթադրվում է, որ արհեստական բանականության կիրառումը թույլ կտա եռակի և ավելի անգամ մեծացնել կլինիկա մտնող դեղամիջոցների թիվը՝ ավելի լավ կանխատեսելով դեղանյութի ու դրա թիրախների փոխազդեցությունը, թիրախից դուրս թունայնությունը (և/կամ կողմնակի ազդեցությունները), ֆարմակոկինետիկան և մի շարք այլ չափանիշներ: Այս պարագայում տեղի կունենա Պարացելսից սկիզբ առնող պարադիգմի փոփոխություն. բազմաթիվ փորձարկումները կփոխարինվեն ավելի փոքր թվով փորձարկումներով, իսկ *հաճախակի* առաջացող ձախողումները կդառնան *հազվադեպ* (ինչն այդպես էլ չհաջողվեց գոտֆարմակոգնոզիային):

Արհեստական բանականության ու տեխնոլոգիական մի շարք այլ նոր ձեռքբերումների ու բացահայտումների կիրառական ներուժն ընկալելու համար անհրաժեշտ է մշակել դրանց թեստավորման չափանիշներ, որը կատարվում է դասական ու արդի թունաբանության մոտեցումների համակցմամբ:

Մարդու ժամանակակից թունաբանությունը կարելի է բաժանել երեք հիմնական ճյուղերի՝

- **կլինիկական թունաբանություն**, որն ուսումնասիրում է մարդկանց մոտ տարբեր դեղանյութերի թունաբանական ազդեցությունները,
- **դատական թունաբանություն**, որի նպատակն է նույնականացնել հանցանքի նպատակով կիրառված միացությունները,
- **շրջակա միջավայրի թունաբանություն**, որի հիմնական նպատակն է գնահատել մարդու համար շրջակա միջավայրի գործոնների բացասական ազդեցության ռիսկը (որակական հետազոտություններ) ու բացասական ազդեցությունների առաջացման մեխանիզմները (քանակական հետազոտություններ):

Շրջակա միջավայրի տարբեր բնույթի գործոնների *որակական* ուսումնասիրությունները թույլ են տալիս պարզել տվյալ **գործոնի անվտանգությունը**, իսկ *քանակական* հետազոտությունների դեպքում գնահատվում են տվյալ նյութի տարբեր **կոնցենտրացիաների կենսաբանական ազդեցությունները**: Մարդու առողջության համար ռիսկի գնահատման առաջնային փուլում ուսումնասիրում են զենաթույների մուտագեն ու կանցերոգեն ազդեցությունները:

Իսկ ի՞նչ է գենետիկական թունաբանությունը:

Գենետիկական թունաբանությունը գենետիկայի գիտական ուղղություններից է, որն ուսումնասիրում է շրջակա միջավայրի գործոնների (ախտոտիչների, կենսակերպի ու վարքագծի)՝ **էքսպոզումի** կամ դրա առանձին բաղադրիչների ազդեցությունը գենոմի ամբողջականության վրա: Սա ներառում է նաև մուտագենեզը, որի դեպքում գնահատվում են ԴՆԹ ու քրոմոսոմների այնպիսի կառուցվածքային ու քանակական խաթարումները, որոնք կարող են փոխանցվել բջջային և/կամ օրգանիզմային սերունդներով: Գենետիկական թունաբանության ուսումնասիրման առարկան են նաև գեների էքսպրեսիայի փոփոխությունները, դրանց էպիգենետիկական կարգավորման մեխանիզմները, զենաթույների հանդեպ օրգանիզմների անհատական զգայնության մոլեկուլային պատճառները, որոնց *in silico* հետազոտությունների հիման վրա զարգացել է նոր ուղղություն՝ տոքսիկոգենոմիկան:

Վերջին տարիներին մարդու ու կենդանիների բջիջներում կատարված հետազոտությունների հիման վրա բացահայտվել են մուտագենների ազդեցության նոր մարկերներ (մոլեկուլային ցուցանիշներ)՝ ԴՆԹ կրկնօրինակների թվի փոփոխություններ (անզլերեն՝ DNA copy number variations, CNV) (*չփոթել պլոիդության փոփոխության հետ*), կորիզային գենոմում միտոքոնդրիոմային ԴՆԹ ինսերցիաները, էքզոսոմներով միջնորդավորված գե-

նետիկական ու էպիգենետիկական ազդեցություններն ու արտաբջջային ԴՆԹ տարբեր խմբեր:

«Մոլեկուլային գենաթունաբանություն» գրքում ամփոփված են դասական գենաթունաբանության մեջ կիրառվող կենսամարկերների, դրանց առաջացման մեխանիզմների ու նույնականացման մեթոդների մասին ժամանակակից տեղեկատվությունը: Նաև հակիրճ ներկայացված են վերջին տարիներին բացահայտված նոր կենսամարկերները, որոնց համատեղ կիրառումը դասական գենաթունաբանական վերջնարդյունքների հետ թույլ է տալիս ավելի խորը պատկերացնել մարդու գենոմի ու էքսպրոմի միջև փոխազդեցության սահմաններն ու մեխանիզմները: Կարո՞ղ ենք արդյոք կանխատեսել կամ կարգավորել այս փոխազդեցությունների կենսաբանական ազդեցությունները:

Գիրքը կարող է օգտակար լինել կենսաբանական ու բժշկական մասնագիտությամբ ուսանողների, ինչպես նաև մասնագետների ու առհասարակ գենետիկական թունաբանությամբ հետաքրքրվող անձանց համար:

1. Էքսպոզում, էքսպոզումիկա ու կենսամարկերներ

Ի՞նչ է էքսպոզումը: «Մարդու գենոմ» ծրագրի ավարտից հետո պարզ դարձավ, որ ֆենոտիպային դրսևորումների (ներառյալ ախտաբանական վիճակների) սահմանափակ մասը կարող է բացատրվել միայն գենետիկական փոփոխություններով: Այսպես՝ մարդու քրոնիկ հիվանդությունների գրեթե 80 %-ը պայմանավորված են միջավայրի գործոնների ազդեցությամբ, մինչդեռ գենետիկական պատճառները պայմանավորում են մոտ 20 %-ը: Աշխարհի շուրջ 195 տարածաշրջանում առողջության վրա շրջակա միջավայրի գործոնների բացասական ազդեցության գնահատումը մետաբոլիկ, շրջակա միջավայրի, մասնագիտական ու կենսակերպի 84 գործոնների վերլուծության հիման վրա ցույց է տվել, որ ռիսկային այս գործոնները պատասխանատու են մինչև 60 % մահվան դեպքերի համար: Հետևաբար օրգանիզմի ներքին ու արտաքին միջավայրերի գործոնների համալիր ազդեցությունը գենետիկական, էպիգենետիկական ու ֆիզիոլոգիական հատկանիշների հետ միասին առաջացնում է կենսաբանական տարբեր պատասխաններ: 2005 թ. Քրիստոֆեր Ուայլդն առաջին անգամ կիրառեց «էքսպոզում» տերմինը, որը ներառում է մարդու ամբողջ կյանքի ընթացքում շրջակա միջավայրի բոլոր գործոնների ազդեցությունների (ներառյալ պոպուլյացիայի խտությունն ու սոցիալական պայմանները) ու դրանց նկատմամբ կենսաբանական պատասխանների (ներառյալ միկրոբիոմի) հանրագումարը: Որոշ հեղինակներ նշում են, որ էքսպոզումիկան ցույց է տալիս «կենսագրությունից դեպի կենսաբանություն» անցումը, որտեղ յուրաքանչյուր մարդու հիվանդությունն անհատական ազդեցությունների պատմությունն է՝ համակցված նրանց գենետիկական նախահակվածություններով:

Էքսպոզումիկան հիմնված է **ներքին** ու **արտաքին** ազդեցությունների կամ դոմեյնների չափման մեթոդների վրա: **Ներքին դո-**

մեյնի գնահատման համար կիրառվում են գենոմիկայի, մետաբոմոմիկայի, լիպիդոմիկայի, տրանսկրիպտոմիկայի, ադոկտոմիկայի ու պրոտեոմիկայի ոլորտների տվյալները: Այս բոլոր ուղղություններում օգտագործվում են՝

- կենսամարկերներ, որոնք ցույց են տալիս ազդեցությունը, հիվանդության զարգացումն ու ռիսկային գործոնները,
- տեխնոլոգիաներ, որոնք գեներացնում են մեծ թվով տվյալներ,
- տվյալների փնտրման ու մշակման մեթոդներ, որոնք թույլ են տալիս գտնել վիճակագրական կապեր գենետիկական ու ոչ գենետիկական տարբեր գործոնների ազդեցության, դրանց հետևանքների ու հիվանդությունների միջև:

Արտաքին դոմեյնը բաժանվում է երկու խմբի՝ ընդհանուր ու մասնավոր էքսպոզոմի: Ընդհանուր էքսպոզոմը ներառում է կլիմայական փոփոխությունները, քաղաքային կամ գյուղական միջավայրերի ու սոցիալ-տնտեսական գործոնները, որոնք չափվում են աշխարհագրական քարտեզավորման մեթոդներով: Մասնավոր էքսպոզոմը ներառում է միջավայրի աղտոտիչները, ծխախոտի օգտագործումը, ալերգենները, մանրէները, կենսակերպն ու սննդակարգը, որոնք գնահատվում են կենսամշտադիտարկման (կենսամոնիթորինգ) ու անհատական հարցաթերթիկների միջոցով:

Էքսպոզոմիկայի առանցքային խնդիրներից մեկը ցանկացած ազդեցության չափման ճշգրտությունն է: Ուստի կիրառվում են համաճարակաբանական լայնածավալ տվյալներ միջավայրի գործոնների ու հիվանդությունների միջև կապի բացահայտման համար: Այսպիսի մոտեցումն առանցքային է մարդու համար վնասակար գործոնների, հատկապես կանցերոգենների նույնականացման ու դասակարգման համար:

Էքսպոզոմիկայի՝ որպես գիտական ուղղության զարգացման համար կան մի շարք ակնհայտ խոչընդոտներ: Մարդու էքսպոզո-

մը չափազանց փոփոխական է և դինամիկ ամբողջ կյանքի ընթացքում, և ազդեցությունները կարող են զգալիորեն տարբեր լինել կախված կյանքի փուլից: Օրինակ՝ հղիության որոշակի փուլերում թալիդոմիդի *in utero* ազդեցությունը կարող է հանգեցնել պտղի վերջույթների թերզարգացման, իսկ մանկության վաղ շրջանում կապարի ազդեցությունը՝ ճանաչողական խանգարումների: Մանկության տարիներին ունեցած ազդեցությունները կարող են հանգեցնել քրոնիկ հիվանդությունների զարգացման տարիներ անց:

Շրջակա միջավայրի կամ աշխատանքային պայմաններից բխող ազդեցությունները կարող են տարբեր կերպ դրսևորվել տարբեր անհատների մոտ գենետիկական ու անհատական գործոնների տարբերության պատճառով: Նույն ազդեցությունը կարող է մի մարդու մոտ հանգեցնել հիվանդության, իսկ մյուսի մոտ՝ ոչ: Էքսպոզումի ուսումնասիրությունը կարող է բացահայտել այդ տարբերության հիմքում ընկած պատճառները: Մակայն ամբողջական էքսպոզումի քարտեզագրումը մեկ անհատի մակարդակում չափազանց բարդ է ազդեցությունների ողջ կյանքի կտրվածքով ուսումնասիրման դժվարության պատճառով:

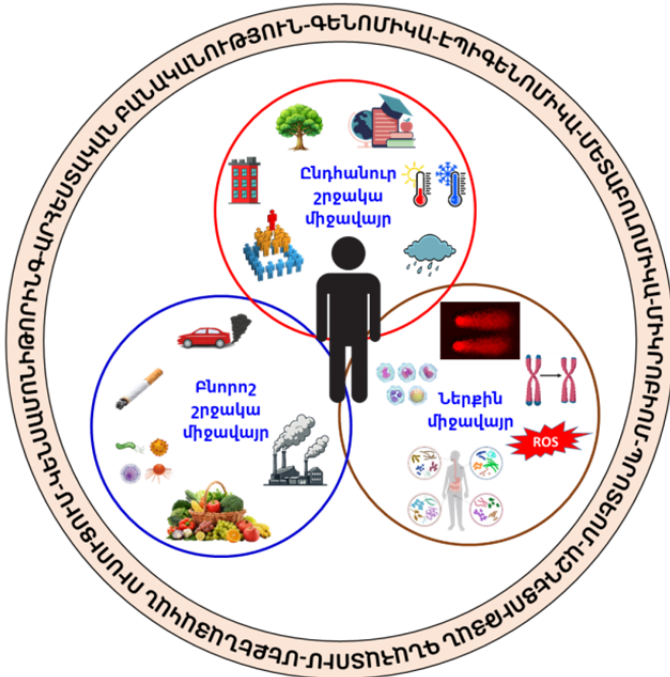
Ակնհայտ դժվարություններից մեկը որոշ ազդեցությունների չափման մեթոդների պակասն է: Քիմիական միացությունների մեծ մասն արագ հեռացվում են օրգանիզմից, և դրանց հայտնաբերումը հնարավոր է միայն կարճ ժամանակահատվածում: Մյուսների դեպքում հնարավոր է օգտագործել կենսամարկերներ, որոնք թույլ են տալիս հայտնաբերել նախկինում տեղի ունեցած ազդեցությունը: Օրինակ՝ հակամարմինները կամ քրոմոսոմներում մակածված կայուն կառուցվածքային փոփոխությունները:

Նախկինում ստուգվում էին հիպոթեզներ՝ առանձին գեների ու ախտաբանական վիճակների զարգացման վերաբերյալ: Ներկայումս գենետիկայի ու տարբեր հիվանդությունների միջև բազմա-

կի կապերի ուսումնասիրման հիման վրա մշակվել է գենոմային ասոցիացիաների հետազոտման մոտեցումը (անգլերեն՝ genome-wide association studies, GWAS), որը թույլ է տալիս արագորեն բացահայտել կապն ազդեցությունների ու հիվանդությունների միջև: Նման մոտեցումը կարող է կիրառվել նաև էքսպոզոմիկայում՝ միաժամանակ չափելով մի քանի կենսամարկերներ: Այս տվյալների վերլուծության արդյունքում հնարավոր կլինի հայտնաբերել ազդեցությունների և առողջական վիճակի միջև կապերը:

Քրիստոֆեր Ուայլդի պատկերացմամբ էքսպոզոմը ներառում է երեք լայն, փոխկապակցված հարթություններ (Նկ. 1).

1. ընդհանուր արտաքին միջավայր (օրինակ՝ սոցիալ-տնտեսական կարգավիճակ, կրթության մակարդակ, շրջակա միջավայր, կլիմա),
2. բնորոշ կամ սպեցիֆիկ արտաքին միջավայր, որտեղ ընդգրկվում են աղտոտիչները, սնունդը, ֆիզիկական ակտիվությունը, արտանետումների ու ծխախոտի ծխի ազդեցությունը, ինչպես նաև վիրուսներն ու բակտերիաները,
3. ներքին միջավայր, որը ներառում է օրգանիզմի ֆիզիոլոգիական վիճակը, միկրոբիոմը, տարիքային փոփոխություններն ու ներքին կենսաբանական գործոնները:



Նկար 1. Մարդու էքսպոզում: Էքսպոզումը նկարագրում է անհատի վրա ընդհանուր (կլիմա, քաղաքային կամ գյուղական) ու բնորոշ (սննդակարգ, աղտոտիչներ, ախտածիններ, կենսակերպ) շրջակա միջավայրերի ու ներքին (իմունային պատասխան, օքսիդային սթրես, միկրոբիոմ, ԴՆԹ վնասվածքներ, ծերացում) միջավայրի գոմարային ազդեցությունները:

Էքսպոզումիկան ուսումնասիրում է էքսպոզումն ու դրա ազդեցությունը մարդու առողջության վրա՝ գնահատելով շրջակա միջավայրի ազդեցությունների նկատմամբ օրգանիզմի մոլեկուլային-կենսաբանական պատասխանները (կենսա)մշտադիտարկման ու «օմիկսների» տեխնոլոգիաների միջոցով: Այսպիսի մոտեցումը թույլ է տալիս մոլեկուլային բժշկության ու համաճարակաբանության համար ստեղծել կապ մարդու առողջության ու շրջակա միջավայրի գործոնների միջև:

ԱՄՆ շրջակա միջավայրի գիտությունների ազգային ինստիտուտում (The National Institute for Environmental Sciences, NIEHS) մշակվել է շրջակա միջավայրի գործոնների ազդեցության ազգային ծրագիր, որի շրջանակում մշակվել են մարդու արտաքին ու ներքին միջավայրերի ազդեցությունները գնահատելու համար գործիքներ: Այդ գործիքները հիմնված են տարբեր «օմիկսների» (օրինակ՝ գենոմիկա, մետաբոլոմիկա, էպիգենոմիկա, պրոտեոմիկա և այլն) վրա, որոնք թույլ են տալիս «ընթերցել» շրջակա միջավայրի ազդեցությունների կենսամարկերները: Միաժամանակ կուտակվում են տարբեր տիպի կենսամարկերների վերաբերյալ մեծ թվով տվյալներ, որոնց վավերացման (վալիդացման) համար մշակվում են թեստավորման ու տվյալների վիճակագրական վերլուծության չափանիշներ: Ինչի՞ համար է սա անհրաժեշտ: Քանի որ գոյություն չունի այնպիսի կենսամարկեր, որը թույլ կտա բացահայտել մարդու վրա ազդող բազմաթիվ գործոնների բոլոր էֆեկտները, ապա միջավայրի գործոնների ու առողջության միջև կապը բացահայտելու համար **անհրաժեշտ է վերլուծել մի քանի կենսամարկերներ, իսկ երբեմն դրանց համակցություններ:**

Նոր տեխնոլոգիաների մշակումն առանցքային նշանակություն ունի էքսպոզոմիկայի զարգացման համար: Դրան զգալիորեն նպաստել է «Մարդու գենոմ» ծրագիրն ու հետագա գենոմային հետազոտությունները, որոնց հիման վրա հնարավոր է եղել բացահայտել գեների ու հիվանդությունների միջև կապերը: Այս տվյալների կիրառումը կենսամշտադիտարկման ոլորտում թույլ է տվել մշակել երկու տիպի կենսամարկեր՝

- ուշ ազդեցության կենսամարկեր,
- պատասխանի կենսամարկեր:

Ուշ ազդեցության կենսամարկերները նախկինում տարբեր գործոնների ազդեցությանը ենթարկվելու ցուցիչներ են, որոնք կարող են մատնանշել քիմիական որոշակի միացությունների կամ դրանց խմբին պատկանող գործոնի ազդեցությանը ենթարկ-

ված լինելը: Օրինակ՝ ԴՆԹ-ալկիլացնող մուտագենները, որոնք կարող են հայտնաբերվել մարդու սննդում, աշխատանքային միջավայրում կամ ծխախոտի ծխի մեջ: Նման կենսամարկերներից են, օրինակ՝ ԴՆԹ-աղուկոտները, մուտացիաները, էպիգենետիկական փոփոխությունները, մինչդեռ պատասխանի կենսամարկերները ցույց են տալիս, թե տարբեր գործոնների հանդեպ ինչպիսի կենսաբանական պատասխան է դիտվում, օրինակ՝ հակամարմինները, մետաբոլիտները, գեների էքսպրեսիայի փոփոխություններն ու այլն:

Ներկայումս մշակվել են էքսպոզոմային տվյալների տեղեկադարաններ, որոնցից են Առողջապահության համաշխարհային կազմակերպության քաղցկեղի ուսումնասիրման միջազգային գործակալության տվյալների շտեմարանը՝ «Exposome-Explorer»-ը (<http://exposome-explorer.iarc.fr/>): Այստեղ գետեղված են տեղեկություններ 908 կենսամարկերի մասին, որոնք ներառում են սննդամթերքների բաղադրիչներին առնչվող 185 կենսամարկեր, ինչպես նաև բացահայտվել են ավելի քան 1300 կապեր սննդային բաղադրիչների ազդեցության ու քաղցկեղի առաջացման հնարավոր ռիսկի միջև:

Աշխարհում գործում են նաև էքսպոզոմիկայի մի շարք կենտրոններ, որոնցից խոշորագույնի՝ Եվրոպական Միությունում հիմնադրված «EXPoSOMICS»-ի նպատակն է բացահայտել շրջակա միջավայրի աղտոտիչների և քրոնիկ հիվանդությունների՝ քաղցկեղի ու սիրտ-անոթային հիվանդությունների միջև կապերը: «HELIX» (The Human Early-Life Exposome) ծրագիրը մեկնարկել է 2013 թվականին՝ ուսումնասիրելու կյանքի վաղ շրջանի ազդեցություններն ու դրանց ազդեցությունը առողջության վրա՝ ծննդյան պահից մինչև դեռահասություն: Այն համադրում է շրջակա միջավայրի տվյալները, նորածինների վերաբերյալ հետազոտությունների արդյունքները, կենսաբանական նմուշներն ու

«օմիկսների» վերլուծությունները՝ կյանքի վաղ շրջանի էքսպոզիցիայի ամբողջականորեն ուսումնասիրելու նպատակով:

Ապագայում համադրելով գենոմի ու էքսպոզիցիայի վերաբերյալ տվյալները՝ հնարավոր կլինի ավելի ճշգրտորեն գնահատել հիվանդությունների ռիսկը՝ անհատականացված մոտեցում կիրառելով մշտադիտարկման հաճախականության, կանխարգելիչ միջոցների ու բուժման ծրագրերի հարցում: Այն կարող է նաև օգտակար լինել մարդու վրա վտանգավոր ազդեցությունները մեղմացնելու ու առողջ միջավայր ապահովելու նպատակով: Մակայն ոլորտը դեռ գտնվում է զարգացման վաղ փուլում:

Իսկ ի՞նչ է կենսամարկերը:

Կենսամարկերները կարևոր նշանակություն ունեն դեղերի արտադրության, բժշկական սարքավորումների մշակման, հիվանդների ախտորոշման ու բուժման մեթոդների կայուն զարգացման համար: Մակայն գիտական հետազոտություններում ու կլինիկական պրակտիկայում դեռևս պահպանվում են որոշ անորոշություններ՝ կապված կենսամարկերներին առնչվող հիմնական սահմանումների ու հասկացությունների հետ: Ուստի ԱՄՆ սննդի ու դեղերի անվտանգության հարցերով զբաղվող գործակալությունը (անգլերեն՝ U.S. Food and Drug Administration, FDA) ու առողջապահության ազգային ինստիտուտները (անգլերեն՝ National Institutes of Health, NIH) մշակել են կենսամարկերների սահմանումն ու դրանց դասակարգման սկզբունքները (Biomarkers, EndpointS, and other Tools, **BEST**):

Կենսամարկերը օբյեկտիվ չափանիշ է, որը կարելի է չափել կենսաբանական նորմալ գործընթացներում, ախտաբանական գործընթացներում կամ տարբեր ազդեցությունների պատասխանի ժամանակ: Օրինակ՝ արյան մեջ ալանին ամինոտրանսֆերազի մակարդակի բարձրացումը կապված է լյարդի վնասվածության հետ:

Կենսամարկերները կարելի է դասակարգել 7 հիմնական խմբերում (Նկ. 2)։



Նկար 2. Կենսամարկերների խմբերը՝ ըստ BEST-ի

1. Ախտորոշիչ կենսամարկերները ցույց են տալիս կամ հաստատում են որևէ հիվանդության կամ հետազոտվող վիճակի առկայությունը կամ նույնականացնում են հիվանդության ենթատեսակ ունեցող անհատներին։ Օրինակ՝ արյան մեջ գլյուկոզի (շաքար) պարունակության կամ հեմոգլոբին A1c (HbA1c) մակարդակը կարող է ծառայել որպես ախտորոշիչ կենսամարկեր՝ 2-րդ տիպի շաքարային դիաբետով տառապող հիվանդներին նույնականացման կամ քրտինքի մեջ քլորի մակարդակը՝ ցիստիկ ֆիբրոզի (CFTR գենի մուտացիայի պատճառով առաջացող թոքերի հիվանդություն) հաստատման համար։

2. Մշտադիտարկման (մոնիթորինգային) կենսամարկերները չափվում են որոշակի հաճախականությամբ՝ հիվանդության կարգավիճակի, դեղանյութի կամ միջավայրի գործոնների ազդեցությունների բացահայտման համար։ Այսպիսի կենսամարկերները խիստ կարևոր են ֆարմակոդինամիկայի ու հետազոտության մեջ ներգրավված մարդկանց անվտանգության գնահատ-

ման համար: Օրինակ՝ հեպատիտ C վիրուսի ՌՆԹ մակարդակը կարելի է օգտագործել որպես մշտադիտարկման կենսամարկեր քրոնիկ հեպատիտ C-ով հիվանդների խմբում բուժման ընթացքում պատասխանը (վիրուսի ՌՆԹ մակարդակի փոփոխությունը) գնահատելու համար:

3. Կանխատեսող (պրեդիկտիվ) կենսամարկերները թույլ են տալիս կանխատեսել դրական կամ բացասական էֆեկտների առաջացման հավանականությունը, եթե մարդիկ ենթարկվել են որևիցե գործոնի ազդեցությանը: Պրեդիկտիվ կենսամարկերը կիրառվում է այն անձանց նույնականացման համար, որոնք, համեմատած տվյալ կենսամարկերը չունեցող, բայց նմանատիպ անհատների հետ, ավելի հավանական է, որ ունենան դրական կամ բացասական էֆեկտ՝ պայմանավորված դեղամիջոցի կամ շրջակա միջավայրի գործոնի ազդեցությամբ: Օրինակ՝ հերցեպտինով բուժման դրական պատասխանն ունի բարձր հավանականություն HER2 դրական կրծքագեղձի քաղցկեղով (քաղցկեղային բջիջներում դիտվում է HER2 գենի ամպլիֆիկացում) հիվանդների խմբում, մինչդեռ եռակի բացասական կրծքագեղձի քաղցկեղի ժամանակ՝ ոչ: Մեկ այլ օրինակ է TPMT գենի պոլիմորֆիզմները կամ դրա էքսպրեսիան, որը կարելի է օգտագործել որպես պրեդիկտիվ կենսամարկեր 6-մերկապտոպուրինով կամ ազաթիոպրինով բուժվողների խմբում՝ բարձր տոքսիկության ռիսկային խմբի հիվանդներին նույնականացնելու համար: BRCA1/2 (Breast CAncer genes 1 and 2) գեների մուտացիաները կարելի է կիրառել որպես պրեդիկտիվ կենսամարկեր պլատինային թերապիայի հանդեպ զգայուն ձվարանների քաղցկեղով կանանց խմբում, որպեսզի նույնականացնեն այն հիվանդներին, որոնք բարձր հավանականությամբ դրական կպատասխանեն պոլի(ՍԿՖ-ռիբոզ) պոլիմերազի (PARP) արգելակիչներով բուժման նկատմամբ:

4. Պրոգնոստիկ կենսամարկերներն օգտագործվում են ախտորոշված հիվանդների խմբում որոշակի կլինիկական (ախտա-

բանական) իրադարձության, հիվանդության կրկնվելու կամ դրա զարգացման հավանականությունը գնահատելու համար: Օրինակ՝ BRCA1/2 գեների մուտացիաները կարող են կիրառվել որպես պրոգնոստիկ կենսամարկերներ կրծքագեղձի քաղցկեղով կանանց խմբում՝ երկրորդ կրծքագեղձի քաղցկեղի առաջացման հավանականությունը գնահատելու համար: Կամ 17p քրոմոսոմային դելեցիաների ու TP53 գենի մուտացիաների կիրառումը՝ որպես պրոգնոստիկ կենսամարկերներ, քրոնիկ լիմֆոցիտային լեյկոմիայով հիվանդների մահացության հավանականությունը որոշելու նպատակով: Ուստի պրոգնոստիկ կենսամարկերը ցույց է տալիս ապագա կլինիկական իրադարձության՝ հիվանդության կրկնման կամ պրոգրեսիայի հավանականության բարձրացում (կամ ցածրացում) մարդկանց որոշակի պոպուլյացիայում: Որպես կանոն պրոգնոստիկ կենսամարկերներն ունենում են սահմանային արժեքներ, որոնցից բարձր կամ ցածր արժեքները թույլ են տալիս եզրակացություն կատարել ախտաբանական վիճակի (կամ դրա բացակայության) վերաբերյալ: Օրինակ՝ սրտամկանի ինֆարկտով ախտորոշված հիվանդների խմբում արյան բարձր ճնշումը, ցածր խտությամբ խոլեստերինի բարձր մակարդակն ու բարձր խտությամբ խոլեստերինի ցածր մակարդակը պրոգնոստիկ կենսամարկերներ են, որոնք մատնանշում են ինֆարկտի կրկնման բարձր ռիսկը:

Պրոգնոստիկ ու պրեդիկտիվ կենսամարկերները հաճախ դժվար է տարբերել, սակայն դրանք նույնը չեն: Պրոգնոստիկ կենսամարկերները ցույց են տալիս, թե ինչ վիճակում են գտնվում հիվանդները՝ անկախ բուժումից, մինչդեռ պրեդիկտիվ կենսամարկերները ցույց են տալիս, թե մարդկանց որ խմբում տվյալ բուժումը (կամ ազդեցությունը) կլինի առավել արդյունավետ (կամ վնասակար):

5. Ռիսկի գնահատման կենսամարկերները ցույց են տալիս ախտաբանական վիճակի զարգացման հավանականությունն

այն անհատների մոտ, որոնք դեռևս չունեն տվյալ հիվանդությունը կամ ախտաբանական վիճակը: Օրինակ՝ BRCA1/2 գեների մուտացիաները կարող են ծառայել որպես ռիսկի գնահատման կենսամարկեր, որպեսզի նույնականացնեն կրծքագեղձի քաղցկեղով հիվանդանալու նախահակվածությամբ անհատներին: Կամ ապոլիպոպրոտեին E գենի (APOE) պոլիմորֆիզմները կարող են կիրառվել Ալցհեյմերի հիվանդություն ունենալու նախահակված մարդկանց նույնականացնելու համար:

Ռիսկի գնահատման կենսամարկերները նման են պրոգնոստիկ կենսամարկերներին նրանով, որ մատնանշում են ապագայում ախտաբանական վիճակի առաջացման մասին: Սակայն առանցքային տարբերությունն այն է, որ պրոգնոստիկ կենսամարկերները գնահատվում են ախտորոշված հիվանդների խմբում, մինչդեռ ռիսկի գնահատման կենսամարկերները կարող են օգտագործվել դեռևս առողջ (տվյալ ախտաբանությամբ չտառապող) անհատների խմբում:

6. Անվտանգության գնահատման կենսամարկերները չափվում են տարբեր գործոնների ազդեցությունից առաջ կամ հետո, որպեսզի բացահայտեն տոքսիկ էֆեկտների առաջացման հավանականությունը կամ դրանց ուժգնությունը: Դրանք կարող են օգտագործվել բնակչությանը շրջակա միջավայրի վտանգավոր գործոնների ազդեցությանը ենթարկված լինելու ռիսկի գնահատման կամ ազդեցությունից հետո բնակչության մշտադիտարկման համար: Օրինակ՝ արյան մեջ լյարդի ամինոտրասֆերազների ու քիլիբրուֆինի մակարդակները կարող են կիրառվել որպես քիմիական միացությունների անվտանգության կենսամարկեր հնարավոր հեպատոտոքսիկությունը գնահատելու կամ արյան շիճուկում կրեատինինի մակարդակը երիկամների վրա ազդող դեղանյութեր ընդունող բուժառուների խմբում նեֆրոտոքսիկության որոշման համար:

7. Կենսաբանական պատասխանի կենսամարկերները ցույց են տալիս պոտենցիալ օգտակար կամ վնասակար պատասխան, որն առաջացել է դեղանյութի կամ շրջակա միջավայրի գործոնին ենթարկված անհատների խմբում: Այսպիսի կենսամարկերները ներառում են նաև ֆարմակոդինամիկ կենսամարկերներ, որոնք ցույց են տալիս դեղամիջոցի կամ շրջակա միջավայրի գործոնի կենսաբանական ակտիվությունն առանց դրա արդյունավետության կամ հիվանդության էլքի վերաբերյալ եզրակացության: Նաև ազդող գործոնի ու հայտնի կենսաբանական մեխանիզմի միջև կապի նույնականացումը պարտադիր չէ: Ֆարմակոդինամիկ կենսամարկերի հնարավոր կիրառությունները ներառում են հասկացության հաստատումը, դեղաչափի ընտրության օժանդակումը կամ կենսաբանական պատասխանի գնահատումը դեղամիջոցների կամ շրջակա միջավայրի գործոնների ազդեցության դեպքում, այդ թվում՝ որպես հնարավոր վնասի ցուցիչ: Որոշ դեպքերում նման չափումներ կարող են կիրառվել որպես երկրորդային էլքային ցուցանիշներ կլինիկական փորձարկումներում և կարող են նշվել դեղամիջոցի պիտակագրման մեջ:

Մշակվել են նաև **բազմաբաղադրիչ կենսամարկերներ**, որոնք երկու ու ավելի կենսամարկերների սահմանված համադրություն են, որում առանձին կենսամարկերների չափումների համադրությունը թույլ է տալիս ստանալ նորմալ, ախտաբանական կամ որևիցե գործոնի ազդեցության նկատմամբ կենսաբանական պատասխանը նկարագրող ընդհանուր արժեք: Ընդ որում՝ բազմաբաղադրիչ կենսամարկերի արժեքը կարող է ստացվել տարբեր մեթոդներով չափումների արդյունքում, օրինակ՝ ուղեղի հետազոտություն, էլեկտրասրտագրություն, գենոմային հետազոտություն կատարելիս: Բազմաբաղադրիչ կենսամարկերի օրինակ են էքզոտոմները՝ բջիջների կողմից արտազատվող վեզիկուլները, որոնք կարող են պարունակել սպիտակուցներ, նուկլեինաթթուներ, տարբեր մետաբոլիտներ, և արտացոլում են քաղցկեղային

բջիջների վիճակը: Բազմաբաղադրիչ կենսամարկերի կիրառման օրինակ է «OncoHost» ընկերության կողմից մշակված «PROphet» թեստը: Դրա միջոցով վերլուծվում են մոտ 7000 սպիտակուցներ բուժում չստացած քաղցկեղով հիվանդների արյան նմուշում, որը թույլ է տալիս ուռուցքաբաններին կանխատեսել, թե որքան արդյունավետ կլինի տվյալ անհատի քաղցկեղի բուժումը «anti-PD-1/PD-L1» իմունաթերապիայի մեթոդով: Դրա շնորհիվ բժիշկները կարող են կողմնորոշվել առաջին գծի բուժման ռազմավարությունը ընտրելու գործում:

Քանի որ կենսաբանական համակարգերը խիստ բարդ են, ապա մեկ կենսամարկերի վերլուծությունը թույլ չի տալիս ճշգրիտ գնահատել թունաբանական ռիսկերն առանց այլ տվյալների առկայության: Ուստի անհրաժեշտ է կիրառել մի քանի կենսամարկերներ կամ դրանց մարտկոցներ:

Գրականության ցանկ

1. Rappaport SM. Genetic Factors Are Not the Major Causes of Chronic Diseases. PLoS One. 2016;11(4):e0154387.
2. GBD 2016 Risk Factors Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 [published correction appears in Lancet. 2017 Oct 14;390(10104):1736] [published correction appears in Lancet. 2017 Oct 28;390(10106):e38]. Lancet. 2017;390(10100):1345-1422.
3. Vineis P, Robinson O, Chadeau-Hyam M, Dehghan A, Mudway I, Dagnino S. What is new in the exposome?. Environ Int. 2020;143:105887.
4. Wan M, Simonin EM, Johnson MM, et al. Exposomics: a review of methodologies, applications, and future directions in molecular medicine. EMBO Mol Med. 2025;17(4):599-608. doi:10.1038/s44321-025-00191-w.
5. Califf RM. Biomarker definitions and their applications. Exp Biol Med (Maywood). 2018;243(3):213-221. doi:10.1177/1535370217750088.
6. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/>.

2. Քսենոբիոտիկների կենսափոխակերպման համակարգ

Օրգանիզմ ներթափանցած ցանկացած քիմիական միացություն՝ քսենոբիոտիկ (օտարածին միացություն), ենթարկվում է կենսափոխակերպման կամ մետաբոլիզացման, որի արդյունքում փոփոխվում են քսենոբիոտիկների կառուցվածքն ու թունաբանական ազդեցությունները: Կենսափոխակերպման հիմնական ռեակցիաներն ընթանում են լյարդում, սակայն կենսափոխակերպման ռեակցիաներ տեղի են ունենում նաև երիկամներում, թոքերում, մաշկում ու աղիներում:

Կենսափոխակերպումն այն գործընթացն է, որի ժամանակ օրգանիզմ ներթափանցած հիդրոֆոբ կամ լիպոֆիլ քիմիական միացությունները, ինչպիսիք են քսենոբիոտիկները (օրգանիզմի համար օտարածին քիմիական նյութեր), փոխարկվում են հիդրոֆիլ մոլեկուլների՝ օրգանիզմից արագ դուրսբերման կամ էլիմինացիայի նպատակով: Առանց կենսափոխակերպման քսենոբիոտիկները կարող են կուտակվել սննդային շղթայի տարբեր օղակներում՝ բարձրացնելով թունաբանական ռիսկը: Այդպիսի քսենոբիոտիկներից են պոլիքլորինացված բիֆենիլներն ու պոլիքլորինացված դիբենզոֆուրանները, որոնք հայտնաբերվում են մարդու հյուսվածքներում, մինչդեռ հիդրոֆիլ միացությունները հեշտությամբ հեռացվում են օրգանիզմից մեզի միջոցով:

2.1. Քսենոբիոտիկների կենսափոխակերպման փուլերը

Կենսափոխակերպման գործընթացը տեղի է ունենում երեք հիմնական փուլով՝ I, II, ու III, որոնք ավարտվում են մեզի ու լեղու միջոցով մետաբոլիտների էքսկրեցիայով կամ էլիմինացիայով: Այս փուլերը կարող են ընթանալ զուգահեռաբար կամ հաջորդաբար: **I փուլում** տեղի է ունենում հիդրոֆոբ միացության բևեռացում կամ ակտիվացում օքսիդացման, ռեդուկցիայի ու

հիդրոլիզի միջոցով, որի ժամանակ առաջանում են ջրալույծ միացություններ:

I փուլի օքսիդացման ռեակցիաները կատալիզող սպիտակուցներն են՝

- ցիտոքրոմ P450,
- ֆլավին պարունակող մոնօօքսիգենազ,
- ակոհոլ դեհիդրոգենազ,
- ալդեհիդ դեհիդրոգենազ,
- մոնոամին օքսիդազ,
- H₂O₂-կախյալ պերօքսիդազ:

I փուլի ռեդուկցիայի ռեակցիաները կատալիզող սպիտակուցներն են՝

- ցիտոքրոմ P450.
- NADPH-P450 ռեդուկտազ,
- կարբոնիլ ռեդուկտազ:

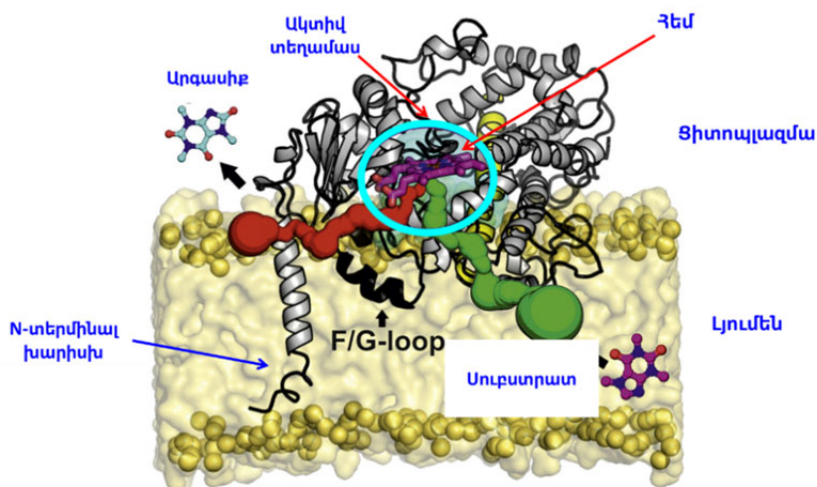
I փուլի հիդրոլիզի ռեակցիաները կատալիզող սպիտակուցներն են՝

- էպօքսիդ հիդրոլազ,
- կարբօքսիլէպթերազ/ամիդազ:

I փուլի ռեակցիաները գլխավորապես կատալիզվում են թաղանթային տեղակայմամբ **ցիտոքրոմ P450** (ածխածնի մոնօօքսիդին միացած ֆերմենտի սպեկտրոֆոտոմետրիկ արտաբերիչի առավելագույն զագաթը դիտվում է 450 նմ) գերընտանիքի ֆերմենտներով, որոնց առավել բարձր կոնցենտրացիաները հայտնաբերվում են լյարդի հեպատոցիտների էնդոպլազմային ցանցում:

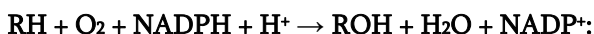
Կաթնասունների ցիտոքրոմների մեծ մասը միացած է էնդոպլազմային ու միտոքոնդրիումային թաղանթներին ցիտո-

պլազմային ու լյուսենալ հատվածներում: Ցիտոքրոմները լյուսենալ հատվածին միանում են կարճ N-ամինոտերմինալ հատվածի α -պարույրով, մինչդեռ կատալիտիկ կամ ակտիվ տեղամասը գտնվում է ցիտոպլազմային հատվածում (Նկ. 3): N-ամինոտերմինալ հատվածի հիդրոֆոբ ամինաթթվային հաջորդականությունն ապահովում է էնդոպլազմային ցանցի թաղանթի ֆոսֆոլիպիդների հետ փոխազդեցությունը:



Նկար 3. Ցիտոքրոմ P450-ի կառուցվածքը: Ցույց են տրված հեմի մոլեկուլն ու ակտիվ տեղամասը (կապույտ օղակ), ինչպես նաև սուբստրատի՝ դեպի ակտիվ կենտրոն տեղափոխման (կանաչ) ու արգասիքի դուրսբերման (կարմիր) ուղիները (Šrejber et al., 2018):

Առավել հաճախ ցիտոքրոմ P450-ը կատալիզում է մոնօօքսիդենազային ռեակցիա, որի ընթացքում թթվածնի մեկ ատոմ ներկառուցվում է օրգանական միացության (RH) ալիֆատիկ դիրքում, իսկ թթվածնի երկրորդ ատոմը մասնակցում է ջրի մոլեկուլի առաջացմանը.



Ցիտոքրոմ P450-ի կառուցվածքում հեմի մոլեկուլի կենտրոնում տեղակայված երկաթի ատոմը միացած է սպիտակուցին ցիստեին-թիոլային կապով: Երկաթի ատոմը (Fe^{3+}) կարող է գոյություն ունենալ երկու սպինային վիճակներում: Ցածր սպինի վիճակում հինգ 3d էլեկտրոնները գտնվում են առավելագույն զույգված վիճակում, մինչդեռ բարձր սպինի վիճակում՝ առավելագույն չզույգված: Սուբստրատի հետ չկապված սպիտակուցում ջրի մոլեկուլը կապվում է Fe^{3+} և կայունացնում է ցածր սպինի վիճակը: Սուբստրատի հետ փոխազդեցության արդյունքում, որը միանում է հեմի մոլեկուլին կից գտնվող ակտիվ տեղամասում, փոխվում է ակտիվ տեղամասի կոնֆորմացիան, և ջուրը դուրս է մղվում հեմի կազմից: Դրա հետևանքով փոխվում է նաև երկաթի տարածական դիրքը հեմի կազմում, որտեղ երկաթն անցնում է բարձր սպինի վիճակին և ցիտոքրոմ P450 ռեդուկտագով, որը պարունակում է ֆլավին ադենին դինուկլեոտիդ ու ֆլավին մոնոնուկլեոտիդ, միջնորդում է էլեկտրոնի տեղափոխումը NADPH-ից ցիտոքրոմին: Դրա հետևանքով հեմի կենտրոնում Fe^{3+} փոխազդում է մոլեկուլային թթվածնի հետ ու ձևավորում $Fe^{3+}-O_2^-$ անկայուն կոմպլեքսը, որը կարող է կապել պրոտոններ՝ առաջացնելով ջուր: Իսկ սուբստրատի մոլեկուլը ենթարկվում է հիդրօքսիլացման ու անցնում ռեակցիոնունակ վիճակի:

II փուլում ակտիվացված մոլեկուլները չեզոքացվում են կոնյուգացիայի ռեակցիաներով, որոնց ժամանակ տեղի է ունենում գլյուկոզոտրանսֆերացում, մեթիլացում, ացետիլացում, սուլֆատացում և կոնյուգացում գլյուտաթիոնի ու ամինաթթուների (գլիցին, տաուրին, գլյուտամաթթու) հետ: Այն քսենոբիոտիկները, որոնք արդեն պարունակում են $-OH$, $-COOH$ և $-NH_2$ խմբեր, կարող են անմիջապես անցնել կոնյուգացման փուլ՝ առանց I փուլում ակտիվացման:

III փուլում տեղի է ունենում հիդրօքսիլ արգասիքի դուրսբերում բջջային թաղանթով տրանսպորտերների ու բջջային

էֆլյուքսի սպիտակուցների (օրինակ՝ P-գլիկոպրոտեինը ադի-
քային էպիթելի բջիջներում) միջոցով:

Կենսափոխակերպման կամ կենսաակտիվացման արդյուն-
քում ինակտիվ միացությունները կարող են փոխակերպվել նաև
գենաթունային և/կամ մուտագեն հատկություններով արգասիք-
ների: Այդպիսի գործոնները կոչվում են պրոմուտագեններ,
որոնք, փոխարկվելով էլեկտրոֆիլների, կարող են մակածել ԴՆԹ
վնասվածքներ ու մուտացիաներ (տե՛ս Գլուխ 4.1.2.):

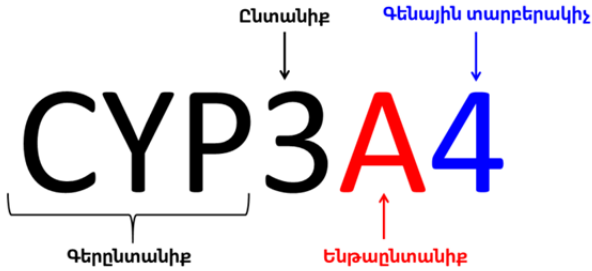
2.2. Ցիտոքրոմ P450-ի պոլիմորֆիզմները

Բացահայտվել է, որ դեղամիջոցների կլինիկական արդյու-
նավետությունը պայմանավորված է ցիտոքրոմները կողավորող
գեների էքսպրեսիայի առանձնահատկություններով: Այս հե-
տազոտությունների հիմքը դրվեց, երբ 1977 թ. բացահայտվեց
CYP2D6 ցիտոքրոմի պոլիմորֆիզմը, որի արդյունքում CYP2D6-ի
սինթեզն արգելակվեց:

Ցիտոքրոմ P450 գերընտանիքն ընդգրկում է 400-500 ամի-
նաթթվից կազմված ու հեմ պարունակող մոնօօքսիգենազային
սպիտակուցներ, որոնք հայտնաբերվել են կենդանիների, բույսե-
րի, սնկերի, պրոտիստների, բակտերիաների ու արքենների բջիջ-
ներում: Ներկայումս հայտնի են ավելի քան 50.000 դասակարգ-
ված ցիտոքրոմային սպիտակուցներ (CYP), որոնք կողավորող ա-
վելի քան 13.000 գեների տարբերակները նշանակվում են «CYP»
շեղ տառերով: Ենթադրվում է, որ բոլոր CYP գեներն առաջացել
են մեկ նախնիից մոտ 3 մլրդ տարի առաջ:

CYP ֆերմենտների գերընտանիքը դասակարգվում է առան-
ձին ընտանիքների՝ հիմնվելով ամինաթթվային հաջորդականու-
թյան նմանության վրա, որոնք էլ ստորաբաժանվում են ենթաըն-
տանիքների: Օրինակ՝ CYP3A4 ֆերմենտի նշանակումը ցույց է

տալիս, որ սպիտակուցը գտնվում է կաթնասունների CYP գերընտանիքի ընտանիք 3-ում, ենթաընտանիք A-ում, իսկ գենային կամ իզոէնզիմային տարբերակիչը 4 է (Նկ. 4):

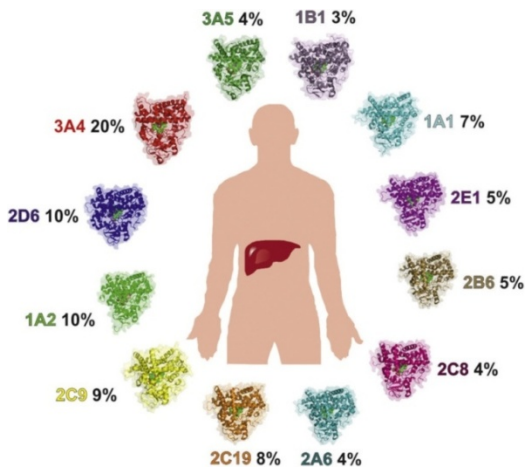


Նկար 4. CYP գերընտանիքի ցիտոքրոմների ու դրանք կոդավորող գեների նոմենկլատուրայի օրինակ:

Տարբեր ալելների առկայության ժամանակ գենի տարբերակչից հետո նշվում է աստղանիշ և գրվում ալելի համարը: Օրինակ՝ CYP2C19 ֆերմենտը կոդավորվում է *CYP2C19* գենով, որի *CYP2C19*2* ալելը (առաջանում է էքզոն 5-ի մուտացիայի (681G>A) արդյունքում) կրող մարդիկ գտնվում են «վատ կամ դանդաղ մետաբոլիզացնողների» խմբում, մինչդեռ *CYP2C19*17* հոմոզիգոտ ալելը (առաջանում է պրոմոտորային հատվածում երկու մուտացիաների (-806C>T և -3402C>T) արդյունքում) կրողների մոտ դիտվում է գենի գերէքսպրեսիա և գտնվում են «գերարագ մետաբոլիզացնողների» խմբում: CYP ընտանիքներում սպիտակուցների ամինաթթվային հաջորդականությունների միջև նվազագույն նմանությունը կազմում է 40 %, իսկ ենթաընտանիքների միջև՝ >55 %: Ներկայումս մշակվել են ցիտոքրոմների դասակարգման, տարբեր օրգանիզմների մոտ հանդիպող պոլիմորֆիզմների ու դեղերի մետաբոլիզացման հետ կապված ալելների մասին տեղեկադարաններ (օրինակ՝ <https://drnelson.uthsc.edu/>, <https://www.pharmgkb.org/>): Մարդու CYP ալելների «PharmVar» (Pharmacogene Variation) տեղեկադարանում գրանցված է ալելի

քան 350 ֆունկցիոնալ պոլիմորֆ տարբերակների մասին տեղեկատվություն (<http://www.pharmvar.org/>), որում առավել մեծ թվով ալելներ նկարագրվել են CYP2D6 (63 ալել), CYP2B6 (28 ալել) ու CYP2A6 (22 ալել) ցիտոքրոմների համար:

Մարդու գենոմում բացահայտվել են մոտ 57 տարբեր CYP գեներ (նաև 58 փսևդոգեներ): Նույնականացվել են նաև ցիտոքրոմների 18 տարբեր ընտանիքներ ու 44 ենթաընտանիքներ, որոնցից 1-3 ընտանիքի ֆերմենտները (CYP1, CYP2, և CYP3) մետաբոլիզացնում են կլինիկական նշանակությամբ քսենոբիոտիկների մոտ 80 %-ը: Օրինակ՝ դեղերի մետաբոլիզացիայի համար առավել կարևոր նշանակություն ունեցող ցիտոքրոմներն են՝ CYP3A, CYP2D6, CYP2C, CYP1A2 և CYP2E1 (ըստ կարևորության նվազման): 57 ֆունկցիոնալ CYP-ներից 12-ը (CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2J2, CYP3A4 և CYP3A5) մասնակցում է օգտագործվող դեղամիջոցների մոտ 70-80 % մետաբոլիզացմանը (Նկ. 5):



Նկար 5. Մարդու լյարդում բոլոր քիմիական միացությունների մետաբոլիզացմանը մասնակցող CYP սպիտակուցների ընտանիքներն ու մետաբոլիզացման գործընթացում յուրաքանչյուրի մասնաբաժինը (Šrejber et al., 2018):

Գրականության ցանկ

1. Manikandan P., Nagini S. Cytochrome P450 Structure, Function and Clinical Significance: A Review. *Curr Drug Targets*. 2018;19(1):38-54. doi: 10.2174/1389450118666170125144557. PMID: 28124606.
2. Šrejber M, Navrátilová V, Paloncýová M, et al. Membrane-attached mammalian cytochromes P450: An overview of the membrane's effects on structure, drug binding, and interactions with redox partners. *J Inorg Biochem*. 2018;183:117-136. doi:10.1016/j.jinorgbio.2018.03.002.
3. Taylor C, Crosby I, Yip V, Maguire P, Pirmohamed M, Turner RM. A Review of the Important Role of CYP2D6 in Pharmacogenomics. *Genes (Basel)*. 2020;11(11):1295. doi: 10.3390/genes11111295.
4. Waring RH. Cytochrome P450: genotype to phenotype. *Xenobiotica*. 2020;50(1):9-18. doi: 10.1080/00498254.2019.1648911.
5. Zhao M, Ma J, Li M, Zhang Y, Jiang B, Zhao X, Huai C, Shen L, Zhang N, He L, Qin S. Cytochrome P450 Enzymes and Drug Metabolism in Humans. *Int J Mol Sci*. 2021 Nov 26;22(23):12808. doi: 10.3390/ijms222312808.
6. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544353/>.

3. QSAR, 3D-QSAR և ֆարմակոֆորներ

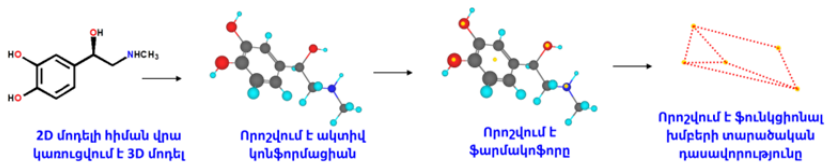
Տասնյակ հազարավոր միացությունների կառուցվածքի ու դրանց թունաբանական թեստավորումների տվյալների հիման վրա մշակվել են տեղեկադարաններ ու համակարգչային ծրագրեր, որոնք թույլ են տալիս մոդելավորման միջոցով կանխատեսել կենսաբանական թիրախներն ու ազդեցությունները՝ հիմնվելով միացության կառուցվածքի վրա: Այդպիսի համակարգչային կամ *in silico* մոդելները թույլ են տվել բացահայտել նյութերի քիմիական կառուցվածքի ու դրանց կենսաբանական ատիվության միջև կապը (անզլերեն՝ structure–activity relationships, **SAR**): SAR վերլուծությունը հիմնված է այն գաղափարի վրա, որ նման կառուցվածքով մոլեկուլներն ունեն նման կենսաբանական էֆեկտներ: Օրինակ՝ նոր սինթեզված միացության գենաթունային էֆեկտները կարելի է կանխատեսել՝ հիմնվելով նման կառուցվածք ունեցող ու նախկինում թեստավորված այլ միացությունների գենաթունայնության տվյալների վրա: Այսպիսով՝ SAR վերլուծությունը հիմնված է քիմիական միացության մեկ կամ մի քանի դեսկրիպտորների՝ նկարագրիչների կիրառման վրա, որոնցից մեկը մոլեկուլի 2D կառուցվածքն է: Հիմնական խնդիրն այն է, թե ինչպես կարելի է որոշել տարբերությունները մոլեկուլային մակարդակում, քանի որ ակտիվության յուրաքանչյուր տեսակ, օրինակ՝ ռեակտիվությունը, բիոտրանսֆորմացիան, լուծելիությունը, թիրախային ակտիվությունը և այլն, կարող են կախված լինել տարբեր տիպի մոլեկուլային նմանություններից: Այս խնդրի կարևորությունը կարելի է հասկանալ **բիոդոստերիզմի** օրինակով, որը կիրառվում է կլինիկական ֆարմակոլոգիայում: Բիոդոստերիզմի շնորհիվ մեկ մոլեկուլի քիմիական խմբերը կամ ատոմները (օրինակ՝ -H, -OH), որոնք ունեն նման ֆիզիկաքիմիական հատկանիշներ, կարող են առաջացնել նման կենսաբանական էֆեկտներ, երբ տեղակայվում են մեկ այլ մոլեկուլի կառուց-

վածքում: Օրինակ՝ պոտենցիալ դեղամիջոցի կառուցվածքում՝ մետաբոլիկ օքսիդացմանը ենթարկվող տեղամասում, երբ ջրածնի ատոմը փոխարինվում է ֆտորի ատոմով, և կանխվում է մետաբոլիզացումը: Քանի որ ֆտորի ատոմի չափը նման է ջրածնի ատոմի չափին, ապա մոլեկուլի տոպոլոգիայում էական փոփոխություն չի առաջանում, և ցանկալի կենսաբանական էֆեկտը պահպանվում է: Սակայն այս դեպքում երկարում է պոտենցիալ դեղամիջոցի կիսատրոհման ժամանակը և բարձրանում պոտենցիալ տոքսիկության ռիսկը: Դրանից բխում է SAR պարադոքսը, ինչը նշանակում է, որ նման կառուցվածքով միացությունները կարող են տարբերվել կենսաբանական հատկություններով:

Ներկայումս մշակվել են *in silico* մոդելավորման նոր մեթոդներ, որոնցից է քանակական կառուցվածք-ակտիվություն կապը՝ QSAR-ը: QSAR մոդելները մշակվում են մոլեկուլների կառուցվածքային դեսկրիպտորների արժեքների ու այդ մոլեկուլների կենսաբանական էֆեկտների միջև փորձարարական, գծային ու ոչ գծային կապերի որոշման ճանապարհով: QSAR մոդելները թույլ են տալիս կազմել քանակական կապեր կենսաբանական ակտիվության (օրինակ՝ աֆինությունը, արգելակող հատկությունը) ու քիմիական կառուցվածքի միջև, որոնց հիման վրա կարելի է իրականացնել կանխատեսումներ և մշակել ցանկալի հատկություններով նոր քիմիական միացություններ: Այս մոդելները զարգանում են արհեստական բանականության ու մեքենայական ուսուցման մեթոդների կիրառմամբ, ինչը թույլ է տվել զգալիորեն կրճատել դեղամիջոցների արտադրության համար ծախսերը:

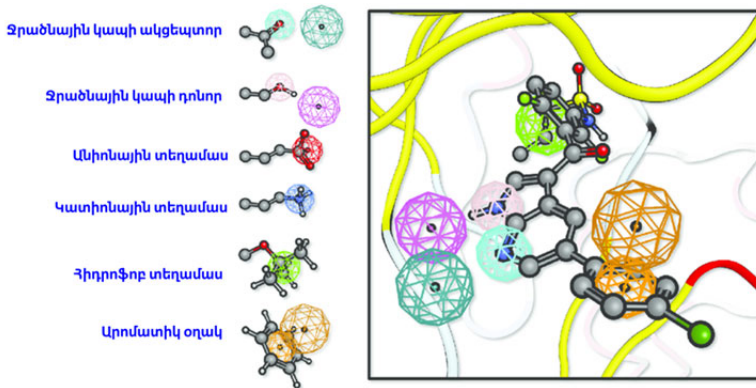
Մշակվել են նաև 3D-QSAR մոդելավորման մեթոդներ, որոնք հաշվի են առնում մոլեկուլի ստերիկ՝ տարածական ու էլեկտրոստատիկ հատկանիշները: Այս դեպքում համակարգը սովորում է կառուցել մոդելները՝ հիմնվելով լիգանդ-սպիտակուց կրիստալոգրաֆիկ կամ տարածական տվյալների հիման վրա:

Նոր դեղանյութերի սինթեզման համար կիրառվող 3D-QSAR մոդելավորման ժամանակ վերլուծվում են նաև միացությունների ֆարմակոֆորները (Նկ. 6): **Ֆարմակոֆորը** մոլեկուլի ստերիկ ու էլեկտրաստատիկ հատկությունների ամբողջությունն է, որն անհրաժեշտ է կենսաբանական մակրոմոլեկուլի կողմից լիգանդի ճանաչման ու ցանկալի կենսաբանական էֆեկտի առաջացման համար:



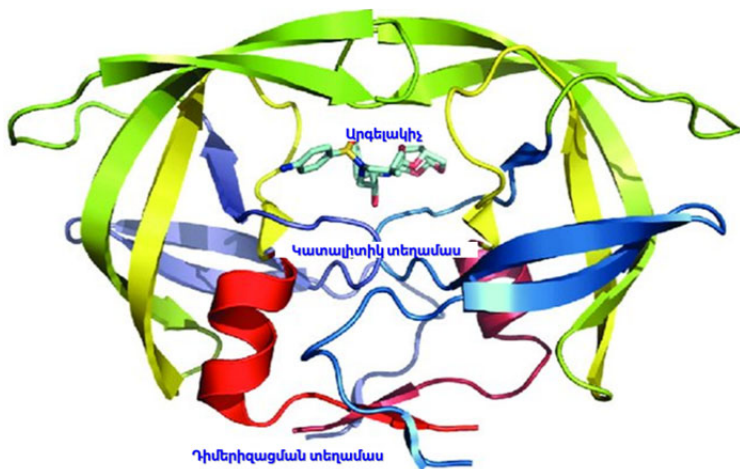
Նկար 6. Քիմիական միացության ֆարմակոֆորի որոշման քայլերի հաջորդականությունը (<https://slideplayer.com/slide/7994054/>):

Ֆարմակոֆորային մոդելավորումը հիմնված է այն ենթադրության վրա, որ եթե տարբեր կառուցվածք ունեցող մոլեկուլներում առկա են միևնույն ֆունկցիոնալ խմբերը, և դրանք ունեն միևնույն տարածական դասավորությունը, ապա այդ մոլեկուլները կարող են կապվել միևնույն թիրախի հետ և առաջացնել կենսաբանական նման էֆեկտ: Ֆարմակոֆորների բացահայտումը թույլ տվեց բացատրել, թե ինչպես են տարբեր կառուցվածքով միացությունները դրսևորում միանման կենսաբանական էֆեկտներ: Առավել կարևոր ֆարմակոֆորային հատկանիշներն են՝ ջրածնային կապերի ակցեպտորներն ու դոնորները, հիդրոֆոբ, անիոնային ու կատիոնային տեղամասերը, արոմատիկ խմբերն ու մետաղ կոորդինացնող տեղամասերը (Նկ. 7):



Նկար 7. Առանցքային ֆարմակոֆորային հատկանիշները լիգանդի կազմում (Qing et al., 2014):

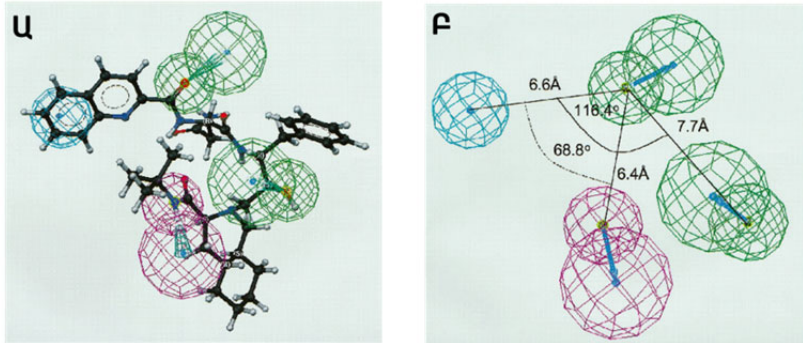
3D-QSAR մոդելավորումն ու ֆարմակոֆորների բացահայտումը կարևոր նշանակություն ունի ոչ միայն նոր դեղանյութերի սինթեզի, այլև առկա դեղամիջոցների արդյունավետությունը բարձրացնելու համար: Օրինակ՝ սաքվինավիր դեղամիջոցը (Ինվիրազ), որը կիրառվում է բիտոնավիրի (Նորվիր) հետ համակցությամբ՝ ՁԻԱՀ-ով հիվանդների բուժման համար: Սաքվինավիրն առաջին պրոտեազային արգելակիչն է, որը սինթեզվել է ՄԻԱՎ-ի պրոտեազն արգելակելու նպատակով: ՄԻԱՎ-ի պրոտեազը ասպարագինաթթվային պրոտեազ է (ռետրոպեպսին), որն ակտիվանում է հոմոդիմերիզացման շնորհիվ, իսկ կատալիտիկ տեղամասում պարունակում է ասպարագինաթթու (Նկ. 8):



Նկար 8. ՄԻԱՎ-ի պրոտեազի կառուցվածքը՝ արգելակչի հետ կապված վիճակում (Lv et al., 2015):

ՄԻԱՎ-ի պրոտեազը կտրում է վիրուսի Gag ու Gag-Pol պոլիպրոտեինները, որի արդյունքում ձևավորվում են հասուն վիրիոններն ու վարակում այլ բջիջներ: Սաքվինավիրը կապվում է պրոտեազի ակտիվ կենտրոնում և կանխում վիրուսային պոլիպրոտեինների կտրումն ու վիրուսի հասունացումը:

Սաքվինավիրի կիրառումն ԱՄՆ-ում թույլ տվեց կրճատել մահացությունների թիվը 55.000-ից մինչև 18.000-ի՝ երկու տարվա ընթացքում: Սակայն այս դեղամիջոցի կենսամատչելիությունը հիվանդների մոտ արագ նվազում էր ժամանակի ընթացքում: Ուստի սաքվինավիրը կիրառվում է մեկ այլ պրոտեազային արգելակչի՝ ռիտոնավիրի հետ համակցված, որի դեպքում բուժումը զգալիորեն ավելի արդյունավետ է: Իսկ ի՞նչն է այդ արդյունավետության պատճառը: Բացահայտվել է, որ սաքվինավիրի ֆարմակոֆորը համապատասխանում է CYP3A4 ֆերմենտով մետաբոլիզացվող սուբստրատների ֆարմակոֆորին (Նկ. 9):

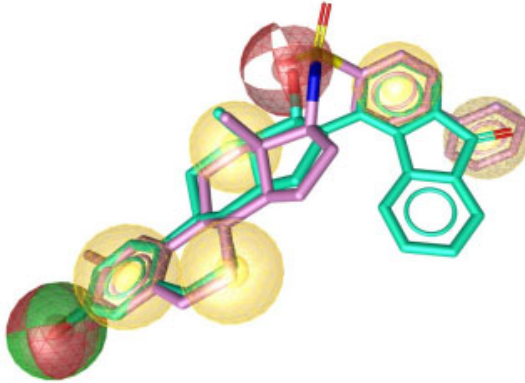


Նկար 9. (Ա) Սաքվինավիրի կառուցվածքն ու (Բ) CYP3A4 ֆերմենտով մետաբոլիզացվող դեղանյութերի ֆարմակոֆորի կառուցվածքները: Ֆարմակոֆորի կազմության մեջ տարբերում են հիդրոֆոբ տեղամաս (ցիան), ջրածնային կապի դոնոր (մանուշակագույն) ու ջրածնային կապի ակցեպտոր (կանաչ) տեղամասերը (Ekins et al., 1999):

Օրգանիզմում սաքվինավիրը մետաբոլիզացվում է CYP3A4 ֆերմենտով, որի արդյունքում առաջանում է դեղանյութի ինակտիվ տարբերակն ու արագ հեռացվում օրգանիզմից: Մինչդեռ րիտոնավիրը CYP3A4 ֆերմենտի արգելակիչ է, ինչի արդյունքում սաքվինավիրն ավելի երկար ժամանակ է պահպանվում օրգանիզմում ակտիվ վիճակում:

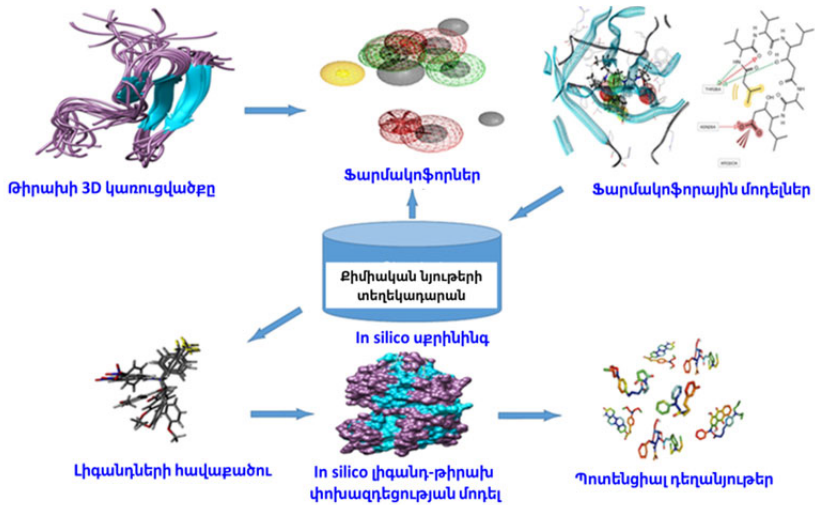
Ֆարմակոֆորների վերլուծությունը կիրառվում է ավանդական բժշկության մեջ օգտագործվող բնական ծագմամբ դեղանյութերի շարքում պոտենցիալ հակաքաղցկեղային միացությունների բացահայտման համար: Այդպիսի միացություններից են ստերոիդ սուլֆատազի (STS) արգելակիչները: STS-ն էնդոպլազմային ցանցի թաղանթում փոխարկում է սուլֆատացված էստրոգեններն ազատ հորմոնների և գերակտիվ է քաղցկեղային բջիջներում: STS-ի բնական արգելակիչը բացահայտելու համար առաջին փուլում 3D-QSAR մեթոդով հետազոտվել են STS-ի 65 հայտնի արգելակիչներ, և նկարագրվել է արգելակչի ֆարմակոֆորը (Նկ. 10): Այնուհետև արգելակիչների շարքից առանձնացրել

են անհրաժեշտ ֆարմակոֆորին համապատասխանող 58 միացություն, որոնք համեմատվել են չինական ավանդական բժշկության մեջ կիրառվող բնական ծագմամբ միացությունների տեղեկադարանի >32.000 միացության հետ: Արդյունքում բացահայտվել են 3 դեղանյութեր, որոնք պատկանում են լամնոստանային տրիտերպենների խմբին:



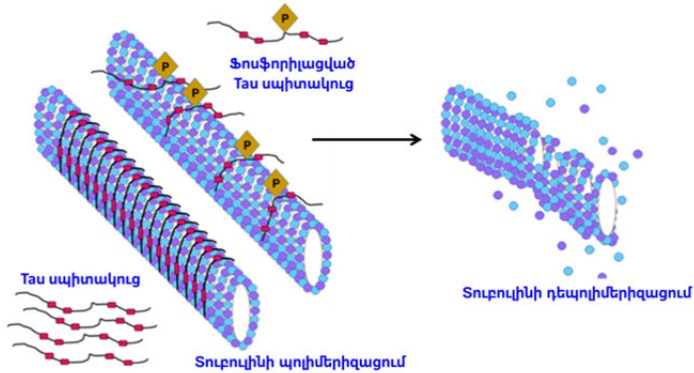
Նկար 10. Ստերոիդ սուլֆատազի (STS) արգելակչի ֆարմակոֆոր: Ֆարմակոֆորի կազմության մեջ տարբերում են ջրածնային կապի ակցետոններ (կարմիր), ջրածնային կապի դոնորներ (կանաչ), հիդրոֆոր (դեղին) ու արոմատիկ (կապույտ) տեղամասեր (Seidel et al., 2020):

Ֆարմակոֆորների վերլուծության հիման վրա փորձում են բացահայտել նաև Ալցհեյմերի հիվանդության դեմ առավել արդյունավետ դեղամիջոցները (Նկ. 11):



Նկար 11. Ալցհեյմերի հիվանդության դեմ արդյունավետ դեղանյութերի ֆարմակոֆորների բացահայտման աշխատանքների սխեման (Pradeepkiran et al., 2018):

Ալցհեյմերի հիվանդությամբ տառապողների նեյրոններում խաթարվում են արքուններով ազդանշանի նեյրոտրանսմիսիան ու նյութերի, վեզիկուլների ու օրգանոիդների փոխադրումը դեպի նեյրոնների տերմինալ հատվածները միկրոխողովակների ապակայունացման արդյունքում: Նեյրոններում տուբուլինի միկրոխողովակները կայունացվում են tau սպիտակուցի միջոցով, մինչդեռ հիպերֆոսֆորիլացված P-tau սպիտակուցը խթանում է դեպոլիմերիզացիան (Նկ. 12): Ուստի փորձում են բացահայտել այն միացությունները, որոնք կարգելակեն tau սպիտակուցի ֆոսֆորիլացումը:



Նկար 12. Թաու սպիտակուցի փոխազդեցությունը տուբուլինի հետ առաջացնում է միկրոխողովակների պոլիմերիզացում, իսկ ֆոսֆորիլացումը (P-tau) մակածում է դեպոլիմերիզացում (Pradeepkiran et al., 2018):

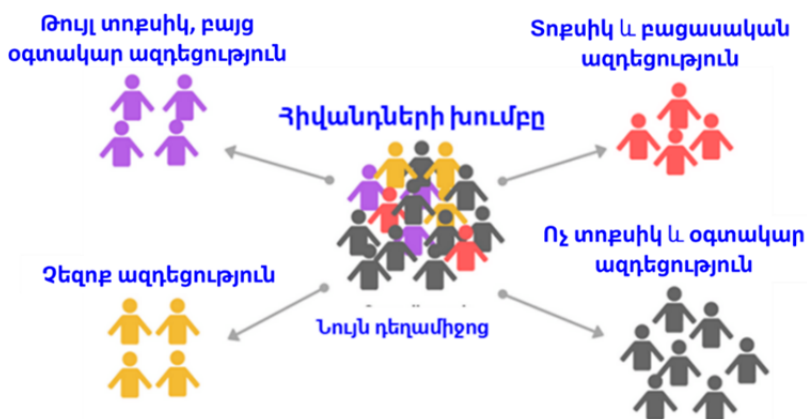
Այսպիսով՝ QSAR վերլուծությունը թույլ է տալիս համակարգչային մոդելավորման միջոցով բացահայտել մեզ հետաքրքրող թիրախներին համապատասխան լիգանդներ, որոնք կարելի է առանձնացնել տասնյակ հազարավոր միացությունների շարքից կամ սինթեզել *de novo*: Իսկ ինչպե՞ս կարելի է այս մոտեցումը դարձնել անհատականացված:

3.1. Ֆարմակոգենետիկա ու ֆարմակոգենոմիկա

Կլինիկական բժշկության կանոններից մեկն այն է, որ միևնույն դեղամիջոցի նկատմամբ հիվանդների մոտ դիտվում են տարբեր պատասխաններ: Որոշ հիվանդների մոտ դեղանյութերի արդյունավետ չափաբաժինները կարող են լինել անարդյունավետ կամ նույնիսկ առաջացնել տոքսիկ էֆեկտներ (Նկ. 13): Այսպիսի անբարենպաստ ռեակցիաները ԱՄՆ-ում ներհիվանդանոցային մահերի 4-6-րդ հիմնական պատճառներից են: Հետևաբար դրսևորվում են միջանհատական տարբերություններ, որոնց հիմ-

քում ընկած մոլեկուլային մեխանիզմների հետազոտությունները թույլ են տվել նույնականացնել գենետիկական մի շարք մարկերներ:

Գենետիկական պոլիմորֆիզմների, գենոմային տեխնոլոգիաների, QSAR հետազոտությունների ու ֆարմակոֆորների վերլուծության հիման վրա զարգացել են գիտական նոր ուղղություններ՝ ֆարմակոգենետիկական ու ֆարմակոգենոմիկական: Դրանց շնորհիվ զգալիորեն խթանվել է **անհատականացված բժշկությունը**, որի նպատակն է մշակել կանխարգելիչ ու բուժական մեթոդներ՝ ելնելով մարդկանց անհատական գենետիկական առանձնահատկություններից:

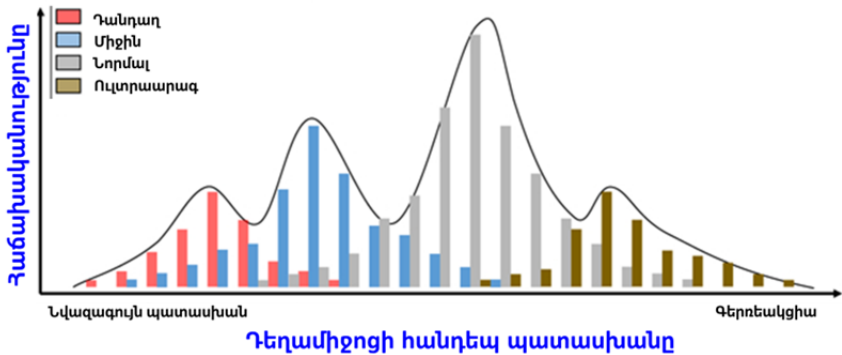


Նկար 13. Միննույն դեղամիջոցով բուժված մարդկանց խմբում առաջանում են միջանհատական տարբերություններ, որոնք պայմանավորված են գենետիկական առանձնահատկություններով:

Բացահայտվել է, որ դեղամիջոցների հանդեպ միջանհատական զգայնության ու ֆարմակոկինետիկայի վրա ազդող հիմնական գործոններից են ցիտոքրոմային սպիտակուցների գեների պոլիմորֆիզմները: Այս հետազոտությունների հիմքը դրվեց, երբ 1977 թ. բացահայտվեց CYP2D6 ցիտոքրոմի պոլիմորֆիզմը, որի

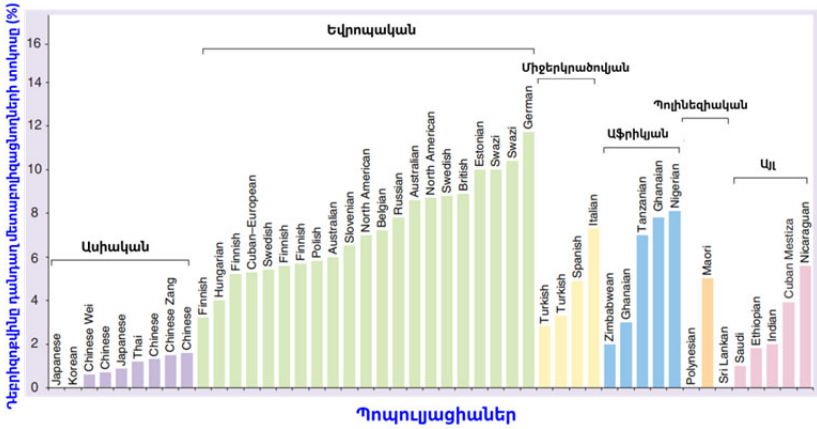
արդյունքում CYP2D6-ի սինթեզն արգելակվեց: CYP2D6-ը մետաբոլիզացնում է դեղամիջոցների մոտ 25 %-ը, այդ թվում՝ Դեբրիզոքսիլին հակահիպերտենզիվ դեղամիջոցը: Ըստ դեղամիջոցները մետաբոլիզացնելու ակտիվության՝ տարբերում են (Նկ. 14)

- **դանդաղ մետաբոլիզացնողներ** (ունեն երկու ինակտիվ ալել),
- **միջին ակտիվությամբ մետաբոլիզացնողներ** (ունեն մեկ ակտիվ ու մեկ ինակտիվ ալելներ),
- **նորմալ ակտիվությամբ մետաբոլիզացնողներ** (ունեն երկու ակտիվ ալելներ),
- **ուլտրաարագ մետաբոլիզացնողներ** (ունեն դուպլիկացիաներ կամ գերակտիվացնող մուտացիաներ):



Նկար 14. Տարբեր ակտիվությամբ մետաբոլիզացնողների բաշխումը պոպուլյացիայում՝ ըստ միևնույն դեղամիջոցի հանդեպ միջանհատական զգայնության (Roden et al., 2020):

Բացահայտվել են CYP2D6-ի ակտիվության տարբերությունները էթնիկ խմբերի ու ազգությունների միջև: Օրինակ՝ դանդաղ մետաբոլիզացնողների ամենամեծ պոպուլյացիան հանդիպում է Գերմանիայում՝ 11.7 %, իտալացիների մոտ՝ 4.7 %, իսկ Զիմբաբվեում ու Գանայում՝ 2-3 % (Նկ. 15):

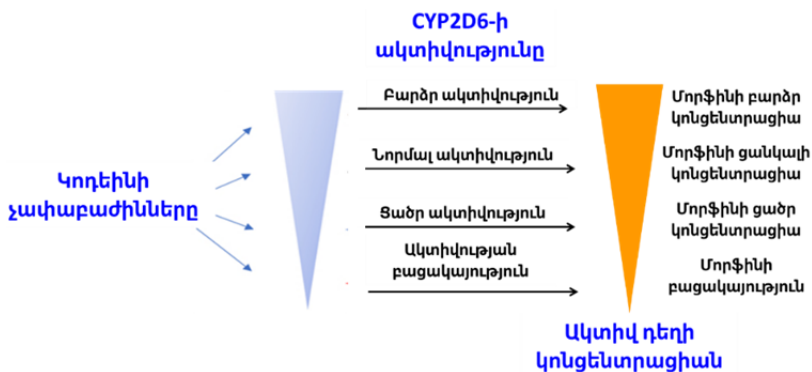


Նկար 15. Դեբրիզոբլին դեղամիջոցը դանդաղ մետաբոլիզացնողների տոկոսը (%) (Llerena et al., 2009):

Նկատի ունենալով, որ ցիտոքրոմային գեների պոլիմորֆիզմները կապված են դեղանյութերի ֆարմակոկինետիկայի միջէթնիկական տարբերությունների հետ՝ 2017 թ. իրականացվել է դեղերի մետաբոլիզացիայի համար առավել նշանակալի 208 ալելների բաշխման ուսումնասիրում հինգ հիմնական պոպուլյացիաներում (Եվրոպական, Աֆրիկյան, Հարավասիական, Արևելասիական ու տարակազմ կամ խառը Ամերիկյան) (59.898 մարդ): Այս աշխատանքի առանցքային արդյունքներից մեկն այն էր, որ բացահայտվեցին դեղերի վնասակար ազդեցության հետ կապված ալելների հանդիպման հաճախականությունները տարբեր պոպուլյացիաներում: Օրինակ՝ CYP3A4*20 ալելը, որը գլոբալ առումով ցածր հաճախականությամբ է հանդիպում, սակայն բարձր հաճախականությամբ հանդիպում է Բսպանիայում, որտեղ զգալիորեն ազդում է պակլիտաքսելի թերապիայի ժամանակ դիտվող վնասակար էֆեկտների ուժգնության վրա:

Ֆարմակոգենետիկական հետազոտությունների արդյունքներն առանցքային նշանակություն ունեն ցավազրկող միջոցների

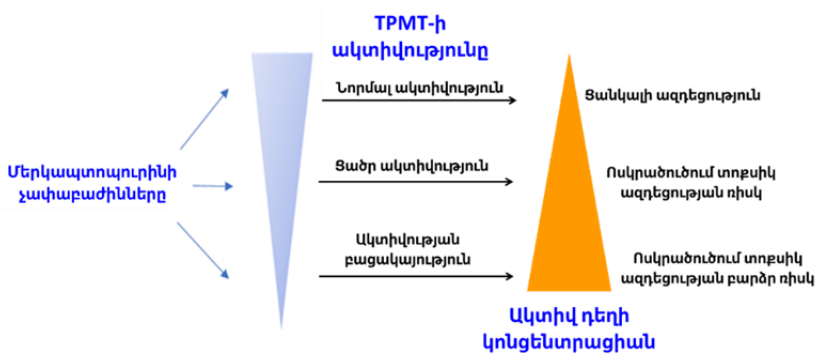
հանդեպ միջանհատական տարբերությունները հասկանալու համար: Օրինակ՝ կոդեինի մետաբոլիզացման արդյունքում առաջանում է մորֆին և կիրառվում է որպես ցավազրկող, ինչպես նաև հազի բուժման համար: CYP2D6 ցիտոքրոմի բարձր ֆերմենտային ակտիվությունը հանգեցնում է մորֆինային տոքսիկության, իսկ ցածր ակտիվության ժամանակ չի դիտվում ցավազրկող ազդեցություն (Նկ. 16):



Նկար 16. Կոդեինը (նախադեղ) մետաբոլիզացնող ֆերմենտի գերակտիվությունն առաջացնում է մորֆինային տոքսիկություն, իսկ դրա թերակտիվությունը՝ ցավազրկող ազդեցության բացակայություն (Roden et al., 2020):

Սակայն կարող է դիտվել նաև հակառակ պատկերը, որի ժամանակ ֆերմենտի թերակտիվությունը կարող է հանգեցնել տոքսիկ էֆեկտների առաջացմանը: Օրինակ՝ թիոպուրին S-մեթիլտրանսֆերազը (TPMT) S-մեթիլացմամբ ինակտիվացնում է երեխաների սուր լեյկոզի բուժման համար կիրառվող մերկապտոպուրինը: TPMT գենի ինակտիվացնող պոլիմորֆիզմները բարձրացնում են դեղի տոքսիկությունը, որի արդյունքում երեխաների մոտ վնասվում է ոսկրածուծը: Հետևաբար որքան ցածր լինի TPMT ֆերմենտի ակտիվությունը, այնքան ավելի բարձր կոնցենտրացիայով օրգանիզմում առկա կլինի ոսկրածուծի բջիջների

համար տոքսիկ ակտիվ մերկապտոպորինը: Գենի հոմոզիգոտ պոլիմորֆիզմները հազվադեպ են՝ 0.3 % պոպուլյացիայի, սակայն միջանկյալ տոքսիկության ռիսկի խմբում են հետերոզիգոտները՝ 10 %, որոնց մոտ առկա է միայն մեկ ակտիվ ալել: **Այդ պատճառով ԱՄՆ-ում մերկապտոպորինով բուժումից առաջ թեստավորում են *TPMT* գենի պոլիմորֆիզմները (Նկ. 17):**



Նկար 17. Մերկապտոպորինին ինակտիվացնող *TPMT* ֆերմենտի նորմալ ակտիվությունը հանգեցնում է ցանկալի արդյունքի առաջացմանը: Մինչդեռ ֆերմենտի թերակտիվությունը կամ դրա բացակայությունը բարձրացնում է ոսկրածուծում տոքսիկ էֆեկտների առաջացման ռիսկը (Roden et al., 2020):

Այսպիսով՝ ֆարմակոգենետիկան ուսումնասիրում է առանձին գեների ու դրանց մուտացիաների կապը տարբեր դեղանյութերի նկատմամբ պատասխանի ու զգայնության հետ:

Բացահայտվել է, որ միանման գենետիկական պոլիմորֆիզմով մարդկանց մոտ կարող են առաջանալ տարբեր աստիճանի բացասական կողմնակի ազդեցություններ: Հետևաբար առանցքային նշանակություն ունեն նաև գեների էքսպրեսիայի մակարդակն ու մուտացիաների համակցությունները, որոնք առկա են անհատի մոտ: **Ֆարմակոգենոմիկան** ուսումնասիրում է գեների էքսպրեսիայի ու գենոմների տարբերությունները, որոնք

կոռելացվում են հիվանդության հանդեպ նախահակվածությանն ու բջջային, հյուսվածքային, անհատական ու պոպուլյացիոն մակարդակներում դեղամիջոցների նկատմամբ կենսաբանական պատասխանի հետ:

Գրականության ցանկ

1. Հովհաննիսյան Գ., Գենետիկական թունաբանության հիմունքներ: Խմբագիր՝ Ռ. Հարությունյան, ԵՊՀ հրատարակչություն, 2016, ISBN 978-5-8084-2113-4:
2. Vilar S, Costanzi S. Predicting the biological activities through QSAR analysis and docking-based scoring. *Methods Mol Biol.* 2012;914:271-84.
3. Qing X, Lee XY, De Raeymaecker J, Tame J, Zhang K, De Maeyer M, Voet A. Pharmacophore modeling: advances, limitations, and current utility in drug discovery. *Journal of Receptor, Ligand and Channel Research.* 2014;7:81-92. doi.org/10.2147/JRLCR.S46843.
4. Ekins S, Bravi G, Wikel JH, Wrighton SA. Three-dimensional-quantitative structure activity relationship analysis of cytochrome P-450 3A4 substrates. *J Pharmacol Exp Ther.* 1999 Oct;291(1):424-33. PMID: 10490933.
5. Seidel T, Wieder O, Garon A, Langer T. Applications of the Pharmacophore Concept in Natural Product inspired Drug Design. *Mol Inform.* 2020 Nov;39(11):e2000059. doi: 10.1002/minf.202000059.
6. Pradeepkiran JA, Reddy AP, Reddy PH. Pharmacophore-based models for therapeutic drugs against phosphorylated tau in Alzheimer's disease. *Drug Discov Today.* 2019 Feb;24(2):616-623. doi: 10.1016/j.drudis.2018.11.005. Epub 2018 Nov 16. PMID: 30453058; PMCID: PMC6397090.
7. Zhou Y, Ingelman-Sundberg M, Lauschke VM. Worldwide Distribution of Cytochrome P450 Alleles: A Meta-analysis of Population-scale Sequencing Projects. *Clin Pharmacol Ther.* 2017; 102(4):688-700.
8. Llerena A, Dorado P, Peñas-Lledó EM. Pharmacogenetics of debrisoquine and its use as a marker for CYP2D6 hydroxylation capacity. *Pharmacogenomics.* 2009 Jan;10(1):17-28. doi: 10.2217/14622416.10.1.17. PMID: 19102711.
9. Roden DM, McLeod HL, Relling MV, Williams MS, Mensah GA, Peterson JF, Van Driest SL. *Pharmacogenomics.* *Lancet.* 2019 Aug

- 10;394(10197):521-532. doi: 10.1016/S0140-6736(19)31276-0. Epub 2019 Aug 5. PMID: 31395440; PMCID: PMC6707519.
10. Qing X, Lee XY, De Raeymaecker J, Tame J, Zhang K, De Maeyer M, Voet A. Pharmacophore modeling: advances, limitations, and current utility in drug discovery. *Journal of Receptor, Ligand and Channel Research*. 2014;7:81-92 <https://doi.org/10.2147/JRLCR.S46843>.
 11. Lv Z, Chu Y, Wang Y. HIV protease inhibitors: a review of molecular selectivity and toxicity. *HIV AIDS (Auckl)*. 2015;7:95-104. Published 2015 Apr 8. doi:10.2147/HIV.S79956.
 12. Ekins S, Bravi G, Wikel JH, Wrighton SA. Three-dimensional-quantitative structure activity relationship analysis of cytochrome P-450 3A4 substrates. *J Pharmacol Exp Ther*. 1999 Oct;291(1):424-33. PMID: 10490933.

3.2. Արհեստական բանականության կիրառումը (գենա)թունաբանության մեջ

(գրվել է ChatGPT4o արհեստական բանականության մասնակցությամբ)

Արհեստական բանականությունը (անգլերեն՝ artificial intelligence, AI) վերաբերում է մարդկային բանականության մոդելավորմանը համակարգչային միջավայրում կամ մեքենաներում, որոնք ծրագրավորված են մարդկանց նման մտածելու ու գործելու համար: AI (արտասանվում է «էյ-այ») համակարգերը դրան հասնում են՝ օգտագործելով քայլաշարեր (ալգորիթմներ), տվյալներ ու հաշվողական մեթոդներ՝ ճանաչողական գործառույթները ընդօրինակելու համար: Ինչպես կասեր ChatGPT-ն իր մասին. «AI-ը կարծես լինի համակարգիչ, որին տվել են ուղեղ՝ ոչ թե իրական, այլ շատ խելացի ալգորիթմներով աշխատող ուղեղ, որը կարող է սովորել, ճանաչել օրինաչափություններ ու նույնիսկ կանխատեսել ապագան: Դա կախարդանք չէ: Դա մաթեմատիկա է՝ վեհ ամբիցիաներով»:

AI-ի հիմքը **մեքենայական ուսուցումն** է. համակարգիչը սովորում է օրինակներից՝ առանց յուրաքանչյուր խնդրի համար առանձին հրահանգներ պահանջելու: Իսկ երբ **ուսուցումը խորքային** է (անզլերեն՝ deep learning), համակարգիչը սկսում է գործել նեյրոնային ցանցերի նման՝ վերլուծելով բարդ տվյալներ, ինչպիսիք են պատկերները, զեները կամ քիմիական կառուցվածքները: Գենետիկական թունաբանության ոլորտում սա նշանակում է, որ AI-ն կարող է վերլուծել կենսաբանական ու քիմիական մեծածավալ տվյալներ ու կանխատեսել՝ արդյոք որևէ միացություն կարող է վնասել ԴՆԹ-ն: Այս նպատակով կիրառվում են միկրոչիպերի հիման վրա ստացված **տոքսիկոգենոմիկայի** լայնածավալ տվյալները, որոնք հնարավորություն տվեցին **անցում** կատարելու նկարագրականից դեպի **մեխանիզմային թունաբանություն**:

Տոքսիկոգենոմիկական մեծ ներուժ ունի դեղերի անվտանգության բարձրացման ու անհատականացված բուժման զարգացման մեջ, սակայն դրա կիրառման համար անհրաժեշտ է հաղթահարել մի շարք մարտահրավերներ: Դրանց թվում են մեծածավալ տվյալների ինտեգրված ու գերարագ վերլուծությունը, ստանդարտ մեթոդների ու կլինիկական որոշումների աջակցության գործիքների պակասը, ինչպես նաև տարբեր երկրներում գործող կարգավորող ու էթիկական շրջանակների տարբերությունը: Տեխնոլոգիաների արագ զարգացումը հանգեցրել է արդյունքների վերարտադրելիության խնդիրների ու թեստավորումների տվյալների միջև անհամապատասխանությունների: Չնայած այդ սահմանափակումներին՝ տոքսիկոգենոմիկական՝ որպես հետազոտական ոլորտ, խոստանում է նոր հնարավորություններ հիվանդների ստրատիֆիկացման ու դեղերի մշակման համար՝ կիրառելով AI տեխնոլոգիաները:

Քիմիական միացությունների հնարավոր թունավոր ազդեցությունների ու անցանկալի արդյունքների կանխատեսման համար ավանդաբար կիրառվել են QSAR մոդելները: Սակայն որոշ

դեպքերում այդ մոդելներն ունեն սահմանափակ կանխատեսողական կարողություն, քանի որ հիմնվում են բացառապես քիմիական դեսկրիպտորների վրա: Մինչդեռ AI-ն օգտագործվում է թունաբանության ոլորտում՝ քիմիական միացությունների թունայնությունը կանխատեսելու համար՝ վերլուծելով դրանց մոլեկուլային կառուցվածքներն ու կենսաբանական փոխազդեցությունները:

Այսպիսով՝ AI տեխնոլոգիաները սրընթաց զարգանում են, որոնք ներկայումս կարելի է կիրառել թունաբանական հետազոտությունների ոլորտում միաժամանակ մի քանի առանցքային ուղղություններով:

Թունաբանական ռիսկի կանխատեսում

AI-ը կարող է նույնականացնել պոտենցիալ վնասակար միացությունները և տալ առաջնայնություն դրանց հետագա թեստավորման համար: Օրինակ՝ կանցերոգենության թեստավորումն անհրաժեշտ է դեղերի արտադրության ժամանակ՝ պոտենցիալ քաղցկեղածին գործոնների բացահայտման համար: Փոքր մոլեկուլների կանցերոգենության բացահայտման համար մշակվել է «DeepCarc» մոդելը, որը ներառում է 692 միացությունների մասին տվյալներ: Այս մոդելը կիրառել են ԱՄՆ թունաբանական հետազոտությունների ազգային կենտրոնի լյարդի քաղցկեղի տեղեկադարանում զետեղված 171 միացությունների կիրառմամբ: Բացահայտվել է, որ խորքային ուսուցման հիման վրա կառուցված «DeepCarc» մոդելը 37 %-ով գերազանցել է QSAR մոդելներին կանցերոգենության կանխատեսման փորձում:

Տվյալների վերլուծություն

Տոքսիկոգենոմիկական թունաբանության ճյուղ է, որը ուսումնասիրում է քիմիական միացությունների կամ քսենոբիոտիկնե-

րի վնասակար ազդեցությունները օրգանիզմի որոշակի բջիջներում կամ հյուսվածքներում՝ գեների և/կամ սպիտակուցների մակարդակում: Այս նպատակով օգտագործվում են գենոմային տեխնոլոգիաներ, ինչպիսիք են գեների էքսպրեսիայի պրոֆիլավորումը, պրոտեոմիկան, մետաբոլոմիկան և այլ «օմիկսներ»:

Տոքսիկոգենոմիկան, բացի պրեդիկտիվ թունաբանության համար կենսամարկերների դեր կատարելուց, դարձել է նաև առանցքային գործիք՝ հայտնաբերելու համար հնարավոր մոլեկուլային ուղիները, որոնք պատասխանում են շրջակա միջավայրի քսենոբիոտիկների ազդեցությանը բջիջների կամ հյուսվածքների մակարդակում: Այս մոլեկուլային վերջնարդյունքները հնարավոր է կապել *in vivo* պայմաններում դիտվող՝ կարգավորիչ մարմինների համար կարևոր ֆենոտիպային թունավոր ազդեցությունների կամ տոքսիկոլոգիկ չափանիշների հետ՝ կիրառելով, օրինակ, մեքենայական ուսուցման մոդելներ: Ենթադրվում է, որ այս մոտեցումը կարող է նպաստել ԱՄՆ կառավարության կողմից մշակված «Tox21» ծրագրի իրագործմանը, որի նպատակն է ապագայում փոխարինել *in vivo* թունաբանական թեստավորումները մարդու և իրական կյանքի համար կիրառելի *in vitro* թեստավորումների արդյունքներով: Օրինակ՝ վերջերս ցույց են տվել այս մոտեցման արդյունավետությունը՝ վերլուծելով ԴՆԹ ռեպարացիային մասնակցող 38 առանցքային սպիտակուցների (ընդգրկում են ԴՆԹ ռեպարացիայի բոլոր ճանաչված ուղիները) գեների էքսպրեսիայի վերաբերյալ *in vitro* տոքսիկոգենոմիկայի տվյալների պրեդիկտիվ պոտենցիալը: Այդ նպատակով մոդելում ներառել են Էյմսի գենաթունաբանական ու *in vivo* կանցերոգենության թեստերում դրական արդյունք ցույց տված 20 գենաթույներով (նաև մոդելային գենաթույներ) ու ոչ գենաթունային միացություններով մշակված բջիջների ռեպարացիայի գեների էքսպրեսիայի տվյալները: Գեների էքսպրեսիայի ու գենաթունային կամ կանցերոգեն էֆեկտների միջև կորելյացիան ցույց է տվել

76 % ճշգրտությամբ *in vivo* կանցերոզենության ու 70 % ճշգրտությամբ էյմսի թեստի գենաթունայնության կանխատեսում: Ուստի AI-ը հնարավորություն է ստեղծում այսպիսի մոդելներով կանխատեսելու *in vivo* կանցերոզենությունը *in vitro* տվյալների հիման վրա:

Ռիսկի գնահատում

AI-ը կարող է վերլուծել մեծածավալ տվյալներ ինչպես շրջակա միջավայրի, այնպես էլ մարդու վրա ազդեցության հետազոտություններից՝ օրինաչափություններ հայտնաբերելու ու քիմիական նյութերի կամ այլ գործոնների ազդեցության ռիսկը կանխատեսելու նպատակով: Այս համատեքստում մեքենայական ու խորքային ուսուցման հիման վրա մշակված AI տեխնոլոգիաներով տվյալների վերլուծությունը ամփոփում է ներկայումս հասանելի գիտելիքը՝ մոլեկուլային իրադարձության ու մարդու առողջության համար բացասական կենսաբանական պատասխանի միջև կապը:

Մեքենայական ուսուցման մոդելները, ինչպիսիք են «eToxPred»-ի նման գործիքներում օգտագործվողները, գնահատում են նյութերի թունաբանական պոտենցիալը դեղերի մշակման գործընթացի վաղ փուլում: Սա հատկապես կարևոր է, եթե հաշվի առնենք, որ դեղամիջոցները ստանում են 10^{60} թվով մոլեկուլների բազմազանությունից: Օրինակ՝ «eToxPred»-ը կիրառվել են փոքր օրգանական մոլեկուլների թունաբանական հատկություններն ու սինթեզի հնարավորությունը գնահատելու համար՝ ցույց տալով մինչև 72% ճշգրտություն: «SEA» համակարգը կիրառվել է 656 դեղամիջոցների կողմնակի ազդեցությունները գնահատելու համար 73 թիրախների հետ փոխազդեցության մոդելում: «TargeTox»-ը թիրախի վրա հիմնված դեղերի թունաբանական հատկությունների կանխատեսման համակարգ է: Այն կառուցում է սպիտակուցային ցանցերի տվյալներ և համախմբում

դեղանյութերի ֆարմակոլոգիական ու ֆունկցիոնալ հատկությունները (սպիտակուցային թիրախներ)՝ թեստավորվող նյութերի թունայնությունը կանխատեսելու համար: «PrOCTOR» համակարգը՝ վերլուծելով քիմիական միացությունների հավանական դեղամիջոց լինելու հատկությունները, մոլեկուլային, թիրախային առանձնահատկություններն ու սպիտակուցային թիրախների հատկությունները կարող է կանխատեսել, թե արդյոք դեղամիջոցը կձախողվի կլինիկական փորձարկումներում իր թունաբանական հատկությունների պատճառով: Դրանք նաև ճանաչել են որպես FDA-ի կողմից հաստատված դեղամիջոցներ, որոնք հետագայում դրսևորել են բացասական էֆեկտներ: «Tox21» ծրագրի շրջանակում թեստավորել են մեքենայական ուսուցման հիման վրա մշակված «DeepTox» AI համակարգի կանխատեսող ունակությունը: «DeepTox»-ը վերլուծել էր 12707 քիմիական միացություն և կարողացել կանխատեսել դրանց թունաբանական հատկությունները՝ հիմնվելով 2500 տոքսիկոֆորների վրա ստացված տեղեկությունների:

AI համակարգերը կարող են նաև կանխատեսել դեղանյութերի պոտենցիալ թիրախները՝ վերլուծելով մեծ քանակով սպիտակուց-լիզանդ փոխազդեցությունները: Օրինակ՝ AI համակարգը, որն ուսուցանվել է 15000 սպիտակուց-լիզանդ փոխազդեցությունների հիման վրա, կարողացել է բացահայտել 9 նոր միացություն ու 4 խիստ կարևոր նոր թիրախ: Այսպիսի տվյալները հետագայում ներառվում են դեղամիջոցների վերախմաստավորման (անզլերեն՝ drug repurposing) գործընթացում, որի շնորհիվ դեղամիջոցն անմիջապես կարող է անցնել կլինիկական փորձարկումների II-րդ փուլ: Այս դեպքում ծախսը կազմում է մոտ 8.4 մլն ԱՄՆ դոլար 41 մլն ԱՄՆ դոլարի փոխարեն:

AI համակարգերը կիրառվել են նաև COVID-19 համավարակի պատճառ դարձած SARS-CoV-2 վիրուսի դեմ դեղամիջոցների ու պատվաստանյութերի մշակման համար: Այս համակարգերն

ուսուցանվել են SARS-CoV-2 վիրուսի և տեր բջջի ինտերակտոմի հիման վրա և կարողացել են գեներացնել տվյալներ վիրուսի SP գլիկոպրոտեինի հետ առավել արդյունավետ փոխազդելու ներուժով հակամարմինների կառուցվածքի վերաբերյալ տվյալները: Ավելին, AI համակարգերը թույլ են տվել բացահայտել վիրուսի SP գլիկոպրոտեինի հավանական կառուցվածքային տարբերակները, որոնց հետ կկարողանային փոխազդել գոյություն ունեցող հակամարմինները: Արդյունքում AI համակարգերը թույլ են տվել զգալիորեն արագացնել պատվաստանյութերի մշակումը SARS-CoV-2 վիրուսի դեմ՝ փրկելով միլիոնավոր կյանքեր աշխարհում: Ներկայումս AI համակարգերն ակտիվորեն կիրառվում են հակաբիոտիկների հանդեպ պաթոգեն բակտերիաների կայունության խնդրի լուծման համար՝ օգտագործելով տասնյակ հազարավոր թիրախ-լիգանդ տվյալների հսկայական տեղեկադարաններ ու կատարելով միլիոնավոր սիմուլյացիաներ:

Ներկայումս նոր սինթեզված 10 դեղանյութերից միայն մեկն է անցնում կլինիկական փորձարկումների վերջնական փուլ: Ընդ որում՝ փորձարկումների տևողությունը կազմում է միջինում մինչև 8 տարի, և ծախսվում մոտ 3 մլրդ ԱՄՆ դոլար: Այսպիսի կորուստների գլխավոր պատճառը դեղերի չկանխատեսված թունային էֆեկտների առաջացումն է փորձարկվող հիվանդների խմբում կամ դրա ոչ արդյունավետությունը, ինչն էլ կազմում են փորձարկումների մոտ 86 % դեպքերը: AI համակարգերը հնարավորություն են տալիս կանխատեսելու հիվանդների այն խմբերը, որոնցում դեղանյութերի փորձարկումները կլինեն առավել արդյունավետ: Հիվանդների որոշակի խմբերն ընտրվում են՝ օգտագործելով հիվանդի գենոմ-էքսպոզոմ պրոֆիլի վերլուծությունը, ինչը կարող է օգնել ընտրված հիվանդների մոտ դեղերի հասանելի թիրախների վաղ կանխատեսմանը, օգնել կլինիկական փորձարկումների II-րդ ու III-րդ փուլերում ներգրավման համար:

Ներկայումս AI համակարգերը թույլ են տալիս հասնել հեղափոխական արդյունքների և մեծ քայլերով խթանել տարբեր կենսաբժշկական, թունաբանական, անհատականացված բժշկության ու մի շարք այլ ոլորտներ, որոնք ապահովում են մարդու կյանքի որակի լավացումը: Սակայն այս համակարգերի լայնածավալ ներդրումը մարդու կյանքում անխոսափելիորեն կունենան բացասական ազդեցություն, ինչպիսին է աշխատատեղերի կրճատումը: Արդյո՞ք ապագայում արհեստականը կկարողանա փոխարինել «բնական» բանականությունը:

Գրականության ցանկ

1. Lin Z, Chou WC. Machine Learning and Artificial Intelligence in Toxicological Sciences. Toxicol Sci. 2022;189(1):7-19. doi:10.1093/toxsci/kfac075.
2. Kleinstreuer N, Hartung T. Artificial intelligence (AI)-it's the end of the tox as we know it (and I feel fine). Arch Toxicol. 2024;98(3):735-754. doi:10.1007/s00204-023-03666-2.
3. Rahman SM, Lan J, Kaeli D, Dy J, Alshawabkeh A, Gu AZ. Machine learning-based biomarkers identification from toxicogenomics - Bridging to regulatory relevant phenotypic endpoints. J Hazard Mater. 2022;423(Pt B):127141. doi:10.1016/j.jhazmat.2021.127141.
4. Carini C, Seyhan AA. Tribulations and future opportunities for artificial intelligence in precision medicine. J Transl Med. 2024;22(1):411. Published 2024. doi:10.1186/s12967-024-05067-0.
5. Singh AV, Chandrasekar V, Paudel N, et al. Integrative toxicogenomics: Advancing precision medicine and toxicology through artificial intelligence and OMICs technology. Biomed Pharmacother. 2023;163:114784. doi:10.1016/j.biopha.2023.114784.
6. Keshavarzi Arshadi A, Webb J, Salem M, et al. Artificial Intelligence for COVID-19 Drug Discovery and Vaccine Development. Front Artif Intell. 2020;3:65. Published 2020 Aug 18. doi:10.3389/frai.2020.00065.

4. Գենաթույններ ու դրանց դասակարգումը

«ԴՆԹ-ն այնքան կարևոր և միաժամանակ այնքան խոցելի է, որ այսօր արդեն գիտենք՝ բջիջը էվոլյուցիայի ընթացքում մշակել է ռեպարացիայի բազմազան մեխանիզմներ՝ իր ԴՆԹ-ն ճառագայթման, քիմիական նյութերի և այլ վտանգավոր գործոնների ազդեցությունից պաշտպանելու համար: Մա հենց այնպիսի երևույթ է, որի ձևավորումը կարելի էր ակնկալել բնական ընտրությամբ ընթացող էվոլյուցիայի արդյունքում»:

(Sir Francis Crick (1988) What Mad Pursuit. Basic Books: New York).

Ինչպես կարծում էր Ֆրենսիս Բրիկը, կյանքի բոլոր դրսևորումները պատասխանում են միջավայրի տարբեր գործոնների բազմաբնույթ ազդեցություններին: Էվոլյուցիայի ընթացքում բջիջներում զարգացել են մի շարք բարդ մոլեկուլային մեխանիզմներ, որոնք պաշտպանում են գենոմը ԴՆԹ-ն վնասող գործոններից: Իսկ որոնք են այդ վնասակար գործոնները, և ի՞նչ սկզբունքներով են դրանք դասակարգվում:

Գենոմում կառուցվածքային և/կամ քանակական խաթարումներ մակածող գործոնները կոչվում են գենաթույներ, որոնք կարող են ունենալ կանցերոգեն, մուտագեն ու տեռատոգեն էֆեկտներ: Հետևաբար բոլոր մուտագենները գենաթույներ են, բայց ոչ բոլոր գենաթույներն են մուտագեններ: Օրինակ՝ գենոմի այն վնասվածքները, որոնք ռեպարացվում են (օրինակ՝ ԴՆԹ շղթաների կտրվածքները) և չեն փոխանցվում բջջային հաջորդ սերնդին, մուտագեն ազդեցության արդյունք չեն:

Գենաթույների ազդեցության մեխանիզմների ուսումնասիրման, մոլեկուլային թիրախների բացահայտման, բացասական էֆեկտների կանխարգելման ու թերապևտիկ միջոցների մշակման նպատակով անհրաժեշտ է գենաթունային գործոնները դասակարգել:

Գենաթույները տարբերվում են իրենց ծագմամբ (էնդոգեն, էկզոգեն), բնույթով (քիմիական, ֆիզիկական, կենսաբանական), օրգանիզմ ներթափանցելու ուղիներով (օրալ, դերմալ, շնչուղիներով), կենսաբանական էֆեկտներով, մոլեկուլային, բջջային ու հյուսվածքային թիրախներով և այլն: Հատկանշական է, որ գենաթույների էֆեկտները կարող են դրսևորվել ուղղակիորեն ու անուղղակիորեն կամ կախված լինել օրգանիզմի կողմից կլանման, բաշխման, մետաբոլիզացման ու էքսկրեցիայի ակտիվությունից՝ ֆարմակոկինետիկայից:

Գենաթույները կարող են դրսևորել նաև էմբրիոթունային և/կամ տեռատոգեն էֆեկտներ: Էմբրիոթունայնությունը ներառում է զարգացող սաղմի վրա բացասական ազդեցությունների ավելի լայն շրջանակ, ինչպիսիք են սաղմի մահը, զարգացման ընկճումն ու ֆունկցիոնալ խաթարումները: Մինչդեռ տեռատոգեն էֆեկտները պայմանավորված են բնածին արատների ու սաղմնային զարգացման ընթացքում հյուսվածքային անոմալիաների հետ (օրինակ՝ վերջույթների, սրտի կամ նյարդային խողովակի զարգացման արատներ): Ուստի բոլոր տեռատոգեն գործոնները էմբրիոթույներ են, բայց ոչ բոլոր էմբրիոթույներն են տեռատոգեններ: Օրինակ՝ հետազոտվող գործոնը կարող է առաջացնել սաղմի զարգացման ընկճում առանց տեսանելի կառուցվածքային խաթարումներ մակածելու: Էմբրիոթունային ակտիվություն դիտվել է տարբեր կանցերոգեն գենաթույների (օրինակ՝ բենզոպիրեն, ֆորմալդեհիդ, իոնացնող ճառագայթում և այլն) *in utero* ուսումնասիրությունների ժամանակ: Օրինակ՝ իոնացնող ճառագայթման >50 մԳր դոզաները համարվում են վտանգավոր մարդու սաղմնային զարգացման համար: Ցույց է տրվել, որ մարդու սաղմնային զարգացման 3-8 շաբաթներում (օրգանոգենեզ) իոնացնող ճառագայթման 1-2 Գր չափաբաժիններով ազդեցության ժամանակ առաջանում են աչքերի, նյարդային ու կմախքային համակարգերի անոմալիաներ: Իսկ >2 Գր դոզաների դեպքում՝

մահ: Սակայն ներկայումս չկան հստակ տեղեկություններ ճառագայթման ու բնածին քաղցկեղի առաջացման վերաբերյալ: Հայտնի է, որ մասնագիտական գործունեությունից բխող ճառագայթման ազդեցության բացակայության պայմաններում առանց բնածին արատների ու քաղցկեղով հիվանդ երեխա ունենալու հավանականությունը կազմում է միջինում 95.93 %: Իսկ բնական ճառագայթման տարեկան դոզան (2.4 մՋվ) գերազանցող 5 մԳր դոզայով սաղմի ճառագայթահարման ժամանակ՝ 95.88 %: Ուստի այս հավանականությունները չեն տարբերվում, և էմբրիոտոքսիկության ու մուտացիաների արդյունքում առաջացող քաղցկեղի միջև կապը դեռևս քննության առարկա է:

Անկախ նրանից, թե գենաթույների էֆեկտները ինչպիսի դրսևորում ունեն, դրանք բոլորն առաջանում են ԴՆԹ նատիվ կառուցվածքի խաթարման արդյունքում: Ընդ որում, եթե սոմատիկ բջիջների մուտացիաներով առաջացող կանցերոզեն էֆեկտները սահմանափակվում են տվյալ օրգանիզմով, ապա սեռական բջիջների մուտացիաները կարող են փոխանցվել հաջորդ սերնդին: Ելնելով այս սկզբունքից՝ ՄԱԿ **գլոբալ համաձայնեցման համակարգում** (անգլերեն՝ globally harmonized system, **GHS**) գենաթույները դասակարգվում են հետևյալ երկու խմբերում՝

- սեռական բջիջների մուտագեններ,
- կանցերոզեններ:

Յուրաքանչյուր խումբ ներառում է երեք ենթախումբ՝ 1a (ծանր տիպի վնասվածքներ մակաձող), 1b ու 2 (համեմատաբար թույլ տիպի վնասվածքներ մակաձող):

Սեռական բջիջների մուտագենների 1a խմբում ընդգրկվում են այն միացությունները, որոնք մարդու սեռական բջիջներում մակաձում են ժառանգվող մուտացիաներ: 1b խմբում ներառվում են այն միացությունները, որոնք կենդանիների սեռական բջիջներում մակաձում են ժառանգվող մուտացիաներ: Այս խմբում ընդգրկվում են նաև մարդու սեռական բջիջներում մուտացիաներ

մակաձող միացությունները, որոնց ժառանգումը հաջորդ սերնդին ցույց տրված չէ: 2-րդ խմբում ընդգրկված են մարդու սեռական բջիջների պոտենցիալ մուտագենները, որոնց գենաթունային էֆեկտները ցույց են տրված կաթնասունների մոտ կամ *in vitro* թեստերում:

Կանցերոգենների 1a խմբում ընդգրկված են այն միացությունները, որոնց կանցերոգենությունը ցույց է տրված մարդկանց մոտ: 1b խմբում ընդգրկված են այն միացությունները, որոնք պոտենցիալ կանցերոգեն են մարդու համար, սակայն կանցերոգենությունը գլխավորապես ցույց է տրված կենդանիների մոտ: Այս դեպքում հաշվի են առնում մարդու ու թեստ-օբյեկտների համար ընդհանուր մոլեկուլային մեխանիզմները:

2-րդ խմբում ընդգրկված են այն միացությունները, որոնց կանցերոգենությունը ցույց է տրված մարդու ու կենդանիների բջիջներում, սակայն չկան բավարար տվյալներ՝ 1-ին խմբում դասակարգելու համար: Որոշ երկրներում, ինչպիսիք են Եվրոպական միության երկրները, այս դասակարգումները հիմք են տարբեր նյութերի կիրառման սահմանափակումների կամ շրջանառությունից լրիվ հեռացման համար: Այսպիսով՝ գենաթունային էֆեկտների բացահայտումը մարդու համար կանցերոգենության ռիսկի գնահատման նախնական փուլն է, որին հաջորդում է մոլեկուլային մեխանիզմների ու առողջության հետ դրանց կապի ուսումնասիրումը:

ԱՀԿ քաղցկեղի ուսումնասիրման միջազգային գործակալությունը (անգլերեն՝ International Agency for Research on Cancer, **IARC**) 2019 թ. միջազգային հանձնաժողովի նախորդ տարիների հետազոտությունների հիման վրա մշակել է ցանկացած գործոնի կանցերոգենության տասը առանցքային չափանիշ:

Էլեկտրոֆիլ է կամ կարող է մետաբոլիզացման ճանապարհով դառնալ էլեկտրոֆիլ:

1. Գենաթույն է:

2. Խաթարում է ԴՆԹ ռեպարացիան կամ առաջացնում է գենոմային անկայունություն:

3. Մակաձում է էպիգենետիկական խաթարումներ:

4. Մակաձում է օքսիդային սթրես:

5. Մակաձում է քրոնիկ բորբոքում:

6. Իմունոսուպրեսոր է:

7. Ներգործում է ընկալիչներով միջնորդավորված ազդեցության վրա:

8. Առաջացնում է բջիջների անմահացում:

9. Խաթարում է բջիջների պրոլիֆերացիան, բջիջների ծրագրավորված մահն ու սննդանյութերի կլանումը:

Առանցքային չափանիշները, ինչպիսիք են՝ «գենաթույն է», «իմունոսուպրեսոր է» և «ներգործում է ընկալիչներով միջնորդավորված ազդեցության վրա», հիմնված են մարդու կանցերոզենների քիմիական ու կենսաբանական հատկանիշների էմպիրիկ տվյալների և IARC կողմից նախկինում կատարված ուսումնասիրությունների վրա: Այս չափանիշները տարբերվում են քաղցկեղի կենսամարկերներից (անգլերեն՝ hallmarks of cancer), որոնք կապված են քաղցկեղային բջջի հատկությունների հետ: Առանցքային չափանիշները տարբերվում են նաև կանցերոզենզի ընթացքում դիտվող կենսաբանական իրադարձությունների՝ մոլեկուլային ուղիների ակտիվության փոփոխության հաջորդականությունից:

Հիմնվելով մարդու ու կենդանիների տարբեր նյութերի կանցերոզենության, դրանց մոլեկուլային մեխանիզմների վերլուծության տվյալների վրա՝ IARC-ի կողմից մշակվել է կանցերոզենների չորս խումբ:

Խումբ 1 (IARC 1) – մարդու կանցերոզեններն են, որոնք ներառում են 121 գործոն: Այս խմբում դասակարգվում են այն գործոնները, որոնց կանցերոզենությունը միանշանակորեն ցույց է

տրված մարդկանց ու կենդանիների մոտ, ու համապատասխանում են կանցերոզների առանցքային չափանիշներին: Այդպիսի կանցերոզներ են ակոհոլային խմիչքները, ծխախոտի օգտագործումը, փայտի փոշին, իոնացնող ճառագայթումը, վերամշակված մսի օգտագործումը, *Helicobacter pylori*, աֆլատոքսինները և այլն:

Խումբ 2A (IARC 2A) – մարդու հավանական կանցերոզներ, որոնք ներառում են 88 գործոն: Այս խմբում ընդգրկվում են այն գործոնները, որոնք համապատասխանում են հետևյալ չափանիշներից երկուսին՝ ներառելով նաև մարդու բջիջների կիրառմամբ հետազոտությունները՝

➤ մարդու համար կանցերոզնության վերաբերյալ տվյալները սահմանափակ են,

➤ լաբորատոր կենդանիների մոտ կանցերոզնության վերաբերյալ տեղեկությունները բավականաչափ են,

➤ հետազոտվող գործոնն ունի կանցերոզներին բնորոշ առանցքային հատկանիշները:

Մարդու հավանական կանցերոզներ են կապարի անօրգանական միացությունները, ցիսպլատինը, ադրիամիցինը (դոքսոտոբիցին), հիդրազինը, գիշերային հերթափոխով աշխատելը (ցիրկադային ռիթմի խաթարման դեպքում), 65°C բարձր ջերմաստիճանով խմիչքների օգտագործումը, կարմիր մսի օգտագործումը և այլն: Այս խմբում կարող են գրանցվել նաև այն գործոնները, որոնց ազդեցության մեխանիզմները համապատասխանում են **1** կամ **2A** խմբերում ընդգրկված գործոնների ազդեցության մեխանիզմներին:

Խումբ 2B (IARC 2B) – մարդու հնարավոր կանցերոզներ, որոնք ներառում են 313 գործոն: Այս խմբում ընդգրկվում են այն գործոնները, որոնք համապատասխանում են հետևյալ չափանիշներից որևիցե մեկին.

➤ մարդու համար կանցերոզնության վերաբերյալ տվյալները սահմանափակ են,

➤ լաբորատոր կենդանիների մոտ կանցերոզենության վերաբերյալ տեղեկությունները բավականաչափ են,

➤ հետազոտվող գործոնն ունի կանցերոզեններին բնորոշ առանցքային հատկանիշները (անկախ նրանից, թե այդ արդյունքները ստացվել են ազդեցությանը ենթարկված մարդկանց, մարդու բջիջների, թե լաբորատոր մոդելների կիրառմամբ):

Մարդու հնարավոր կանցերոզեններ են քլորոֆենոքսի հերբիցիդները, տրիպան կապույտը, հեքսաքլորոցիկլոհեքսանները, տետրահիդրոֆուրանը, *Aloe vera* բույսի ամբողջական տերևների ջրային լուծամզվածքները (լիզինիացված ֆիբրիլների հեռացմամբ), գերցածր հաճախականությամբ մագնիսական դաշտերը, ռադիոհաճախականությամբ էլեկտրոմագնիսական դաշտերը, պահածոյացված բանջարեղենը, հրշեջ ծառայությունում աշխատելը, ատաղձագործությունը և այլն:

Խումբ 3 (IARC 3) – ներառում է 499 գործոն: Այս խմբում ընդգրկվում են բոլոր այն գործոնները, որոնք չեն համապատասխանում մնացած խմբերին: Որպես կանոն, այս խմբի գործոնների կանցերոզենության վերաբերյալ տեղեկությունները անբավարար են, իսկ կենդանիների մոտ կանցերոզենության մեխանիզմները կիրառելի չեն մարդու համար: Եթե լաբորատոր կենդանիների մոտ որևիցե ուռուցքային գոյացություն համապատասխանում է մարդուն, ապա այս խմբի գործոնները կարող են դասակարգվել ավելի բարձր խմբերում: Այս խմբին են պատկանում գեարալենոնը, դեօքսինիվալենոլը, նիվալենոլը, ացետամինոֆենը (պարացետամոլ), հիդրօքսիուրեան, մազերի ներկման միջոցների օգտագործումը, սուրճի օգտագործումը, գերցածր հաճախականությամբ ու ստատիկ էլեկտրական դաշտերը, ստատիկ մագնիսական դաշտերը և այլն:

Գործոնները կարող են փոխել իրենց խմբային պատկանելիությունը նոր տվյալների հիման վրա: Օրինակ՝ նեյտրոնային ճառագայթումը, բիֆենիլները, որոշ դիօքսիններ ու վերամշակ-

ված մսի օգտագործումը **2A** խմբից տեղափոխվել են **1** խումբ մարդկանց մոտ կանցերոզենության նոր տվյալների վերլուծության հիման վրա:

Գենաթունային ազդեցության մոլեկուլային մեխանիզմների ուսումնասիրման նպատակով առավել հաճախ կիրառվում է գենաթույների դասակարգումն ըստ բնույթի՝ քիմիական, ֆիզիկական ու կենսաբանական:

4.1. Քիմիական մուտագեններ

«Մուտացիա» (լատիներեն՝ *mutatio* – փոփոխություն) տերմինն առաջին անգամ կիրառել է հոլանդացի կենսաբան Հուգո դե Վրիզը (1901 թ.), որը *Oenothera lamarckiana* բույսի մոտ բացահայտել էր ֆենոտիպային մի քանի տարբերակներ: Հետագայում ցույց տրվեց, որ մուտացիաները կարող են մակածվել ֆիզիկական ու քիմիական գործոնների ազդեցությամբ:

Քիմիական մուտագենեզի սկիզբը դրել են Վլադիմիր Սախարովը (ԽՍՀՄ), Իոսիֆ Ռապոպորտն (ԽՍՀՄ) ու Շառլոտ Աուերբախը (Միացյալ թագավորություն) 1932-1947 թթ.:

Քիմիական մուտագենները գենաթույների շարքում ամենաբազմազան խումբն են և կարող են ունենալ էնդոգեն կամ էքզոգեն ծագում: Էնդոգեն մուտագեններն առաջանում են օրգանիզմի նորմալ կենսագործունեության արդյունքում (օրինակ՝ ֆորմալդեհիդը, որն առաջանում է պեկտինի տրոհումից, կրեատինի մետաբոլիզացումից ու ֆոլատային ցիկլից), մինչդեռ էքզոգեն մուտագենները օրգանիզմ են ներթափանցում մարդու շրջակա միջավայրից: Շրջակա միջավայրի գործոնների կանցերոզենության մասին առաջին տվյալները գրանցվել են 1773 թ. անգլիացի վիրաբույժ Փերսիվալ Փոթի կողմից, որն առաջինը նկատեց ծխնելույզները մաքրողների մոտ ամորձապարկի քաղցկեղի ու մրի ազդեցության միջև կապը:

Տարբերում են **ուղղակի** ու **անուղղակի** (պրոմոտագեններ) **ազդեցությամբ մուտագեններ** և/կամ կանցերոգեններ, ինչպես նաև էպիմուտագեններ, որոնց ազդեցության ֆենոտիպային դրսևորումները պայմանավորված չեն ԴՆԹ կառուցվածքի խաթարմամբ (տե՛ս Գլուխ 3.4):

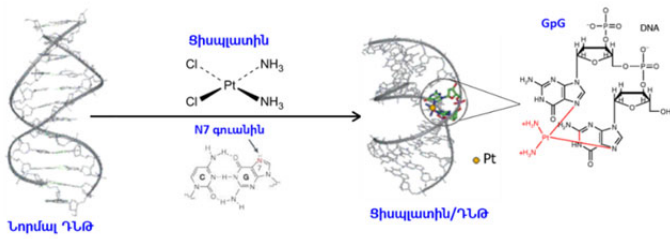
4.1.1. Ուղղակի ազդեցությամբ քիմիական մուտագեններ

Ուղղակի ազդեցությամբ մուտագեններին և/կամ կանցերոգեններին բնորոշ են հետևյալ նկարագրիչները.

- բարձր ռեակցիոնունակությամբ էլետրոֆիլներ,
- մուտագեն ու կանցերոգեն էֆեկտների դրսևորման համար մետաբոլիզացում չի պահանջվում,
- գերակշռող մասը դրական են գենաթունաբանական թեստ-մարտկոցներում,
- մակածված ուռուցքներն առավել հաճախ առաջանում են քիմիական միացության հետ առաջնային փոխազդեցության հյուսվածքներում,
- ցածր հյուսվածքային ու տեսակային սպեցիֆիկության (կամ բացակայության) պատճառով ուռուցքների մակածում տարբեր տեսակների մոտ՝ մեկից ավելի հյուսվածքներում:

Այս էլեկտրոֆիլների կանցերոգենության ներուժը կախված է ԴՆԹ-ի հետ փոխազդեցությունների հաճախականությունից, իսկ հարաբերական ակտիվությունը՝ բջջային տարբեր նուկլեոֆիլների ու քիմիական միացության միջև մրցակցային ռեակցիաներից, ինչպես նաև թունագերծման (կամ դետոքսիֆիկացման) ֆերմենտների ակտիվությունից: Ուղղակի ազդեցությամբ կանցերոգենները կովալենտ կապով փոխազդում են ԴՆԹ-ի հետ՝ առաջացնելով ադուկտներ, որոնք հանգեցնում են ԴՆԹ վնասվածքների ու մուտացիաների:

Ուղղակի ազդեցությամբ մուտագեններից է հակաքաղցկեղային դեղամիջոց ցիսպլատինը ($[Pt(NH_3)_2Cl_2]$) (IARC 2A), որը կիրառվում է միզապարկի, սերմնարանների, ձվարանների, արգանդի վզիկի, կրծքագեղձի, թոքերի, գլխուղեղի ու քաղցկեղի մի շարք տեսակների բուժման ժամանակ: Ցիսպլատինի հակաքաղցկեղային ազդեցության հիմնական մեխանիզմը ԴՆԹ-ում պուրինների հետ ներշղթայական (GpG՝ 90 %, ApG՝ 10 %) ու միջշղթայական (հազվադեպ) կարանների առաջացումն ու ռեպլիկացիայի արգելակումն է, ինչպես նաև օքսիդային սթրեսի բարձրացումը (Նկ. 18): Առավել հաճախ ցիսպլատինը կապվում է N7 գուանինի հետ: Բջջի ցիտոպլազմայում ցիսպլատինի քլորի ատոմներից մեկը փոխարինվում է ջրի մոլեկուլով $[PtCl(NH_3)_2(H_2O)]^+$, որն էլ հեշտությամբ փոխարինվում է գուանինով ($[PtCl(G-DNA)(NH_3)_2]^+$) ԴՆԹ-ի հետ կապված ժամանակ: Հարևան գուանինների միջև (GpG) կարանների առաջացման ժամանակ ցիսպլատին-գուանին կոմպլեքսից դուրս է մղվում երկրորդ քլորի ատոմը և փոխարինվում միևնույն շղթայի հարևան գուանինով: Դրա արդյունքում խաթարվում է ԴՆԹ տարածական կառուցվածքը. առաջանում է մոլեկուլի ծովածություն, որը խոչընդոտում է ԴՆԹ-ի հետ ռեպարացիայի ու ռեպլիկացիայի գործոնների փոխազդեցությունը: Բջջի բաժանման ժամանակ այսպիսի վնասվածքների չռեպարացվելու արդյունքում ակտիվանում է ապոպտոզը, և բջիջը մահանում է:



Նկար 18. Ցիսպլատինի ու ԴՆԹ փոխազդեցությունը: ԴՆԹ-ում ցիսպլատինը կապվում է N7 գուանինի հետ, և առաջացնում մոլեկուլի տարածական ծովածություն:

Հակաքաղցկեղային մի շարք դեղանյութերի (դոքսոռուբիցին, էտոպոզիդ, պակլիտաքսել, ցիկլոֆոսֆամիդ, հիդրօքսիուրեա, գեմցիտաբին, 5-ֆլյուրոուրացիլ) *in vitro* թեստավորման արդյունքում (DT40 հավի լիմֆոբլաստոիդ բջիջներ) բացահայտվել է, որ առավել շատ տրանսվերսիաներ, տրանզիցիաներ ու ինդելներ մակաձվում են ցիսպլատինի ազդեցությամբ: Ընդ որում՝ գերակշռում են CG→AT տրանսվերսիաները, A/T և GGT > GGTT ինսերցիաներն ու GpG/ApG դելեցիաները: Ուստի ենթադրվում է, որ ցիսպլատինն ունի մուտացիաների մակաձման որոշակի սպեկտր (մուտացիոն պրոֆիլ) կամ, այսպես կոչված, «մուտացիոն ստորագրություն»: Հետաքրքիր է, որ ցիսպլատինի մակաձած մուտացիոն պրոֆիլը կոռելացվում է մարդու բջիջներում ծխախոտի օգտագործման ու աֆլատոքսինի համար սպեցիֆիկ մուտացիոն պրոֆիլների հետ: Այստեղից հետևում է պարզ եզրակացություն. այս գործոններով մակաձված մուտացիաներն առաջանում են նման մեխանիզմներով: Իսկապես, պարզվել է, որ ցիսպլատինը, աֆլատոքսիններն ու ծխախոտի ծխի պոլիցիկլիկ արոմատիկ ածխաջրածինները ԴՆԹ-ում առաջացնում են տարածական ադուկներ՝ կապվելով N7 գուանինի հետ:

Քաղցկեղային ու նորմալ բջիջների ամբողջական գենոմների սերվենավորմամբ նույնականացվել են հազարավոր ուղեկցող մուտացիաներ, հազվադեպ՝ խթանող մուտացիաներ, որոնցից յուրաքանչյուրի նուկլեոտիդային փոփոխությունների հաճախականության հարաբերակցությունը դրա գենոմային համատեքստի հետ նկարագրվում է որպես մուտացիոն պրոֆիլ (*):

Տարբեր գործոնների մուտացիոն պրոֆիլների համեմատությունները թույլ են տալիս բացահայտել միանման մեխանիզմով ազդող միացությունները, ինչի շնորհիվ կարելի է կանխատեսել նաև այդ միացությունների գենաթունաբանական էֆեկտները: Այս մոտեցումը խիստ կարևոր է մուտագեն գործոններով քաղցկեղի բուժման ու ռեզիստենտության մեխանիզմների բացահայտման, ինչպես նաև մուտագենների դասակարգման համար: Ցույց

է տրվել, որ ցիսպլատինով առավել հաճախ մակաձվող GGT>GGTT ինսերցիան BRCA2 գենի մուտացիայով կրծքագեղձի քաղցկեղային բջիջներում կարող է մակաձել BRCA2 գենի ֆունկցիայի վերականգնում, ինչի արդյունքում զգալիորեն խթանվում է ԴՆԹ ռեպարացիայի համակարգերի ակտիվությունն ու զարգանում է ցիսպլատինի նկատմամբ ռեզիստենտություն: Ուստի վերջին տարիներին մշակվել է մարդու քաղցկեղային բջիջներում սպոնտան ու էքզոգեն գործոններով մակաձված կարճ նուկլեոտիդային փոխարինումների (1-2 նգ) ու ինդելների (1-50 նգ) մուտացիոն պրոֆիլների տեղեկադարան (COSMIC Mutational Signatures, <https://cancer.sanger.ac.uk/signatures/>), որը թույլ է տալիս կապել մուտացիոն պրոֆիլները հնարավոր կանցերոզեն ֆենոտիպի հետ: Այս մոտեցումը թույլ է տալիս նաև համեմատել տարբեր բնույթ ու ծագում ունեցող մուտագենները՝ հիմնվելով դրանց մուտացիոն պրոֆիլների վրա:

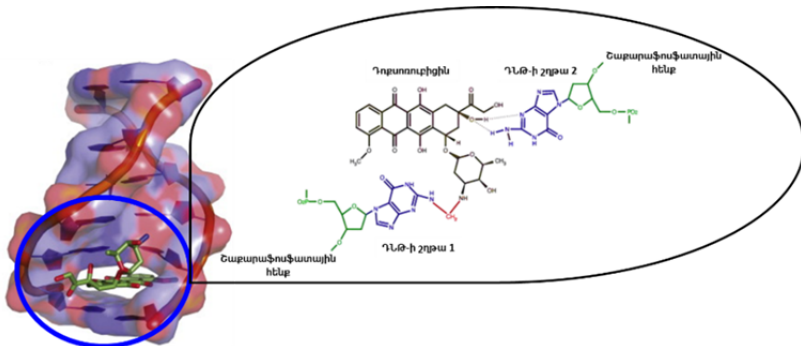
Մեկ այլ լայնորեն կիրառվող հակաքաղցկեղային դեղանյութերից է դոքսոռուբիցինը (ադրիամիցին, C27H29NO11), որը ցույց է տվել բարձր արդյունավետություն միզապարկի, կրծքագեղձի, ստամոքսի, թոքերի, ձվարանների, վահանաձև գեղձի, փափուկ հյուսվածքի սարկոմայի, միելոմաների և այլ տիպի քաղցկեղի բուժման համար: Դոքսոռուբիցինն (IARC 2A) անտրացիկլինային հակաբիոտիկ է, որն առաջին անգամ անջատվել է 1970 թ. հողում ապրող *Streptomyces peucetius* բակտերիաներից:

Դոքսոռուբիցինի գենաթունային էֆեկտները պայմանավորված են մի քանի մեխանիզմներով.

- դոքսոռուբիցինն ինտերկալացվում է ԴՆԹ շղթայում նուկլեոտիդների միջև և առաջացնում է ԴՆԹ աղուկտներ,
- դոքսոռուբիցինը կապվում է տոպոիզոմերազ II ֆերմենտին (TOP2) և արգելակում դրա աշխատանքը,
- դոքսոռուբիցինը կուտակվում է միտոքոնդրիումներում և բարձրացնում ԴՆԹ վնասվածքներ մակաձող թթվածնի ակտիվ ռադիկալների (ROS) մակարդակը:

ԴՆԹ-ի հետ դոքսոտուրիցինի ինտերկալացման մեխանիզմները դեռևս լիովին չեն պարզաբանվել: Ինտերկալացման ժամանակ դոքսոտուրիցինի արոմատիկ խումբը «սահում է» հարևան նուկլեոտիդների միջև (հատկապես ԳՑ հարուստ տեղամասերում) և առաջանում է ջրածնային կապ գուանինի հետ: Դրա արդյունքում առաջանում է ԴՆԹ մոլեկուլի տեղային ապապարուրում ու ընդարձակում, որը խաթարում է ԴՆԹ կրկնապատկման ու գեների էքսպրեսիայի գործընթացները: Ենթադրվում է, որ այսպիսի ապապարուրման արդյունքում ԴՆԹ-ում առաջանում է դրական պտտական լարվածություն, որի հետևանքով ապակալունանում է նուկլեոտմի կառուցվածքը:

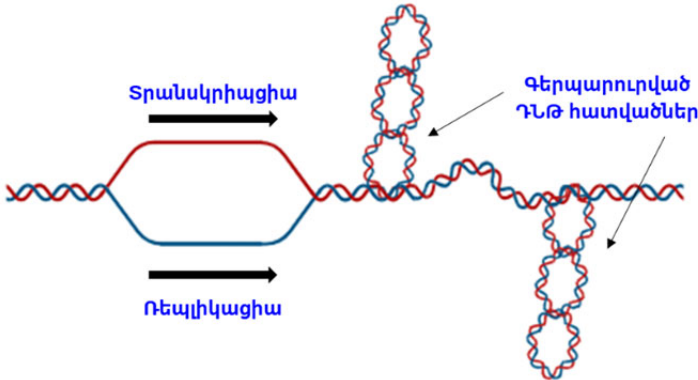
Ներկայումս առաջարկվում է նաև մեկ այլ մոդել, որի համաձայն՝ ԴՆԹ շղթաներից մեկի գուանինի հետ դոքսոտուրիցինը ձևավորում է կովալենտ կապ բջջում առաջացող ֆորմալդեհիդի միջնորդավորմամբ, իսկ գուադանեռ շղթայի գուանինի հետ՝ ջրածնային կապեր (Նկ. 19):



Նկար 19. Դոքսոտուրիցինի ինտերկալացումն ու կովալենտ կապի առաջացումը ԴՆԹ մոլեկուլի հետ: Կարմիրով նշված է ֆորմալդեհիդի միջնորդավորմամբ առաջացող կովալենտ կապը (Yang et al., 2014):

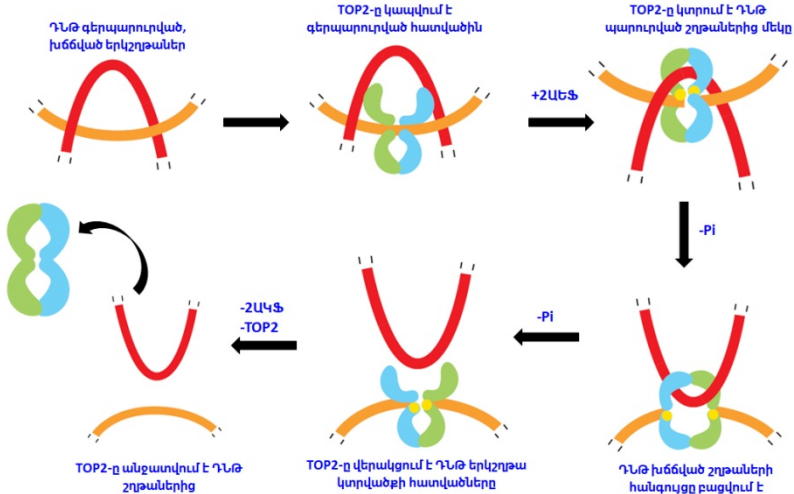
ԴՆԹ կրկնապատկման ու տրանսկրիպցիայի ժամանակ կոմպլեմենտար շղթաներն ապապարուրվում են: Դրա արդյունքում մոլեկուլում առաջանում են մեխանիկական լարվածություն

ու ԴՆԹ գերպարուրված հատվածներ, որոնք չվերացնելու դեպքում բջջի կրկնապատկումն ու տրանսկրիպցիան խաթարվում են, ու բջիջը մահանում է (Նկ. 20):



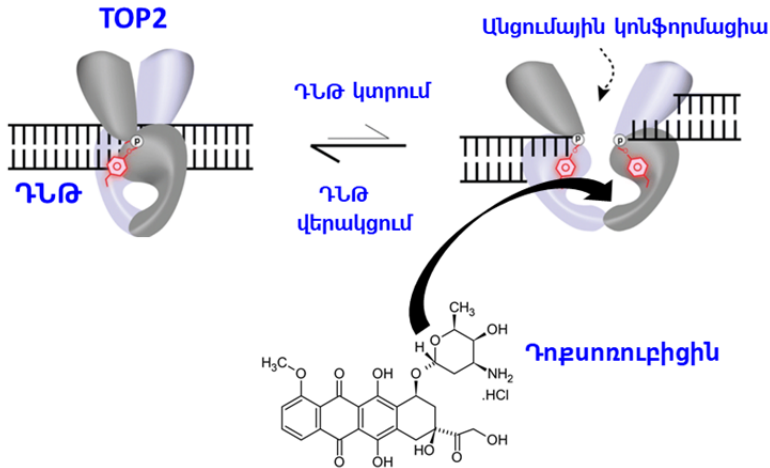
Նկար 20. ԴՆԹ ռեպլիկացիայի ու տրանսկրիպցիայի ժամանակ ԴՆԹ ապապարուրման ուղղությամբ առաջանում են ԴՆԹ գերպարուրված հատվածներ (պատրաստված է BioRender համակարգով):

Նշված խնդիրը լուծվում է TOP2 ֆերմենտի միջոցով: Ֆերմենտը կապվում է ԴՆԹ գերպարուրյունների ու խճճված հատվածների հետ, կտրում է մեկ ԴՆԹ դուպլեքսի երկու շղթաները, անցկացնում է մյուս դուպլեքսը առաջացած ճեղքի միջով և վերակցում ԴՆԹ կտրված հատվածները, որի արդյունքում թուլանում է ԴՆԹ մոլեկուլում առաջացող պտտական լարվածությունը (Նկ. 21):



Նկար 21. TOP2-ի աշխատանքի մեխանիզմը: TOP2-ն ԱԵՖ-կախյալ ֆերմենտը, որը հիդրոլիզում է ԱԵՖ-ն ու օգտագործում անջատված էներգիան ԴՆԹ խճճված շղթաների հանգույցներում երկշղթա կտրվածների առաջացման, հանգույցի բացման ու ԴՆԹ վերակցման համար (Alberts, 7th edition):

Դոքսոռուբիցինը կապվում և կայունացնում է TOP2-ը ԴՆԹ երկշղթա կտրվածք առաջացնելուց հետո, ինչն արգելակում է ԴՆԹ վերակցումն ու ռեպլիկացիան (Նկ. 22): Այս հատկության պատճառով դոքսոռուբիցինը (և անտրացիկլինները) կոչվում է տոպոիզոմերազի թույն, այլ ոչ թե արգելակիչ: Արգելակիչները, որպես կանոն, խաթարում են ֆերմենտի ակտիվությունն ու դրսևորում ցիտոստատիկ ազդեցություն, մինչդեռ տոպոիզոմերազի թույնները մակածում են լետալ ԴՆԹ վնասվածքներ ու բջջի մահ (ցիտոտոքսիկ ազդեցություն):

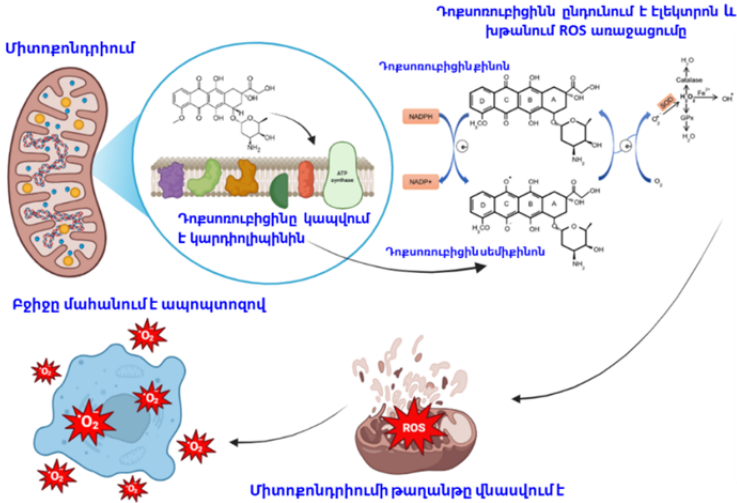


Նկար 22. Դոքսոռուբիցինը ձերբակալում է TOP2-ը ԴՆԹ կտրման կոնֆորմացիայում և կանխում ֆերմենտով կտրված ԴՆԹ ռեվիզացիան (Riccio et al., 2020):

Դոքսոռուբիցինը դրսևորում է նաև չափաբաժնից կախված արդյունավետություն: Սակայն դեղամիջոցի բարձր չափաբաժինների կիրառումը սահմանափակվում է դրա կարդիոտոքսիկ հատկությամբ, որի մեխանիզմները երկար ժամանակ կապում էին գենաթունային էֆեկտների հետ: Սա համարվում էր համոզիչ վարկած, քանի որ կարդիոտոքսիկ էֆեկտներն առաջանում են բուժման ուշ փուլերում՝ ենթադրաբար ԴՆԹ վնասվածքների կուտակման հետևանքով: Սակայն վերջին տարիների հետազոտությունները ցույց տվեցին, որ դոքսոռուբիցինը վնասում է կարդիոմիոցիտների միտոքոնդրիումները՝ մակաձեռնով ապոպտոզ: Ո՞րն է սրա պատճառը:

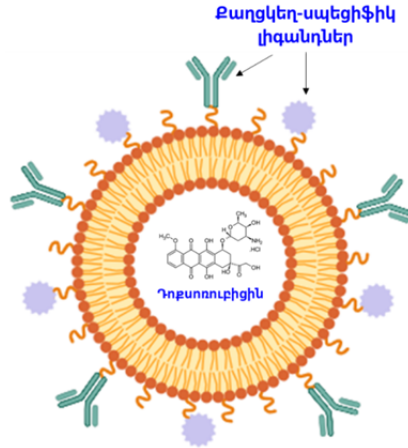
Միտոքոնդրիումների ներքին թաղանթի ֆոսֆոլիպիդների կազմի մեջ է մտնում նաև կարդիոլիպինը, որը մասնակցում է թաղանթում ցիտոքրոմ c-ի ու էլեկտրոնների փոխանցման շղթայի սպիտակուցների տեղակայմանը, միտոֆագիայի կարգավորմանը, սպիտակուցների փոխադրմանը և մի շարք այլ ֆունկ-

ցիաների կարգավորմանը: Բացահայտվել է, որ ամֆիպատիկ հասկուությամբ դոքսոռուբիցինը (ունի հիդրոֆիլ ու լիպոֆիլ հասկություններ) բարձր աֆինությամբ կապվում է դրական լիցք ունեցող կարդիոլիպինի հետ և կուտակվում միտոքոնդրիումների ներքին թաղանթում: Միտոքոնդրիաներում դոքսոռուբիցինը՝ որպես էլեկտրոնների ակցեպտոր, ռեդուկցվում է NADH դեհիդրոգենազի կողմից՝ առաջացնելով սեմիքինոնային ռադիկալներ, որոնք ենթարկվում են ինքնաօքսիդացման և առաջացնում են սուպերօքսիդ անիոններ՝ փոխանցելով իրենց չզույգված էլեկտրոնները թթվածնին ու բարձրացնելով ROS արտադրությունը: Կարդիոմիոցիտներում ROS-ի բարձրացումը կարող է առաջացնել կալցիումի արտազատում սարկոպլազմային ցանցից, որն արագորեն կուտակվում է միտոքոնդրիաներում՝ առաջացնելով միտոքոնդրիումների թափանցելիության բարձրացում, միտոքոնդրիումային արտաքին թաղանթի վնասում, միտոքոնդրիումային ԴՆԹ (մտԴՆԹ) ու ցիտոքրոմ c-ի արտահոսք: Արդյունքում բջիջը մահանում է ապոպտոզի ճանապարհով, այսինքն՝ ԴՆԹ-ում բազմաթիվ միաշղթա ու երկշղթա վնասվածքների ու միտոքոնդրիումների վնասվելու հետևանքով (Նկ. 23): Օքսիդային սթրեսը մակածում է նաև կորիզային ԴՆԹ ու քրոմոսոմների վնասվածքներ, որոնք ոսկրածուծի բջիջներում դոքսոռուբիցինով բուժվող անհատների մոտ կարող են դառնալ արյան քաղցկեղի պատճառ:



Նկար 23. Միտոքոնդրիումների ներքին թաղանթում դոքսոտուրիցինը կապվում է կարդիոլիպինին, որի արդյունքում խթանվում են օքսիդացման ռեակցիաները: Միտոքոնդրիումների թաղանթի վնասվելու արդյունքում բջջում առաջանում է օքսիդային սթրեսը, այնուհետև՝ ապոպտոզ (պատրաստված է BioRender համակարգով):

Ներկայումս մշակվել է դոքսոտուրիցինի լիպոսոմային տարբերակը, որն օժտված է ավելի բարձր թափանցելիությամբ, ցածր կարդիոտոքսիկությամբ ու բարձր գենաթունայնությամբ ուռուցքային բջիջներում: Այսպիսի լիպոսոմների թաղանթում քաղցկեղային բջիջների ընկալիչներին սպեցիֆիկ լիգանդների ամրացումը թույլ կտա ապագայում դեղամիջոցները թիրախային կերպով հասցնել քաղցկեղային բջիջներ (Նկ. 24):



Նկար 24. Ցածր թունայնությամբ ու քաղցկեղային բջիջներին թիրախային կերպով դոքսոուրիցինը հասցնող լիպոսոմ: Լիպոսոմի թաղանթում երևում են քաղցկեղ-սպեցիֆիկ լիզանդները (պատրաստված է BioRender համակարգով):

***Հետաքրքիր է:** Քաղցկեղային բջիջներում վերջին տարիներին կատարված ուսումնասիրությունները թույլ են տվել բացահայտել ավելի քան 30 տարբեր մուտացիոն պրոֆիլներ, որոնք կարող են ծառայել որպես էնդոգեն ու էքզոգեն մուտագեն ազդեցության կենսամարկերներ: Այս մոտեցումը տարբերվում է դասական գենաթունաբանական թեստավորումից, առանձին թեստերում մուտագենության կենսամարկերը, որպես կանոն ցույց է տալիս մեկ չափանիշի փոփոխություն (օրինակ՝ քրոմոսոմային խաթարումների մակարդակը, միկրոկորիզների մակարդակը, ԴՆԹ վնասվածքների մակարդակը և այլն): Մուտացիոն պրոֆիլների վերլուծության ժամանակ, սակայն, գնահատվում են մուտացիաների համակցությունները՝ նկատի ունենալով նաև փոփոխված հատվածի հարևան տեղամասերի նուկլեոտիդային համատեքստը: Սակայն այս մոտեցումն ունի մի շարք առանցքային թերություններ և սահմանափակումներ: Մասնավորապես ան-

հնարին է որոշել քիմիական միացությունների տարբեր խմբերի մուտագենության սահմանային կոնցենտրացիաները: Մինևույն ժամանակ չեն սահմանվել այս մոտեցման սպեցիֆիկության ու զգայնության չափանիշները: Հարկավոր է հիշել նաև, որ քաղցկեղային բջիջներում առաջանում են հարյուրավոր մուտացիաներ (երբեմն հազարավոր), որոնցից մի մասն է կապված կանցերոզենեզի հետ: Մուտացիոն պրոֆիլների վերլուծությունը խոստումնալից մոտեցում է կանցերոզեն էֆեկտների գնահատման համար, սակայն ներկայումս հստակ չափորոշիչների բացակայության պատճառով այս տվյալները զգուշորեն մեկնաբանելու խորհուրդ է տրվում:

4.1.2. Անուղղակի ազդեցությամբ քիմիական մուտագեններ

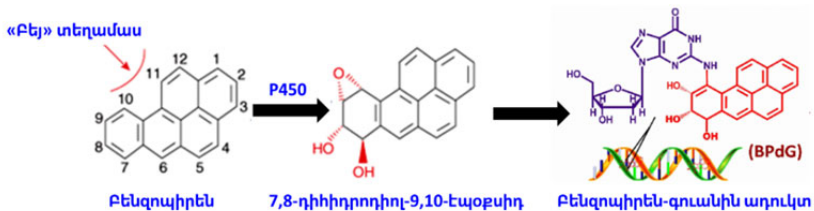
Անուղղակի ազդեցությամբ մուտագեններին և/կամ կանցերոզեններին բնորոշ են հետևյալ նկարագրիչները.

- քիմիապես կայուն միացություններ են,
- մուտագեն ու կանցերոզեն էֆեկտների դրսևորման համար պահանջվում է կենսափոխակերպում,
- գերակշռող մասը դրական են գենաթունաբանական թեստ-մարտկոցներում մետաբոլիզացման ֆերմենտների առկայությամբ,
- պրոմուտագեններով մակաձված ուռուցքներն առաջանում են այս նյութերը մետաբոլիզացնող հյուսվածքներում և հազվադեպ են առաջանում ներարկման հատվածներում,
- ունեն բարձր հյուսվածքային ու տեսակային սպեցիֆիկություն:

Քենզոպիրեն ու AHR ակտիվացում

Մարդու շրջակա միջավայրում առավել տարածված պրո-մուտագեններից են պոլիցիկլիկ արոմատիկ ածխաջրածինները

(ՊԱԱ), նիտրիտներն ու նիտրոզո միացությունները, դիօքսինները, որոշ դեղանյութեր, միկոտոքսինները և այլն: ՊԱԱ(*) շարքի հայտնի պրոմոտագեններից է **բենզոպիրենը** (IARC 1), որը հայտնաբերվում է ածխի խեժի, ծխախոտի ծխի, ավտոմեքենաների արտանետումների, խորոված մսի ու օրգանական այլ միացությունների թերայրման (300-600°C) արգասիքների մեջ: Բենզոպիրենը կազմված է հինգ բենզոլային օղակներից (C₂₀H₁₂), որի կենսափոխակերպման արդյունքում առաջացող «բեյ» տեղամասով դիոլ էպօքսիդն (7,8-դիհիդրոդիոլ-9,10-էպօքսիդ) ուժեղ էլեկտրոֆիլ է և նուկլեոֆիլ թիրախների հետ (ինչպիսին է ԴՆԹ-ն) առաջացնում է կովալենտ աղուկտներ (Նկ. 25):

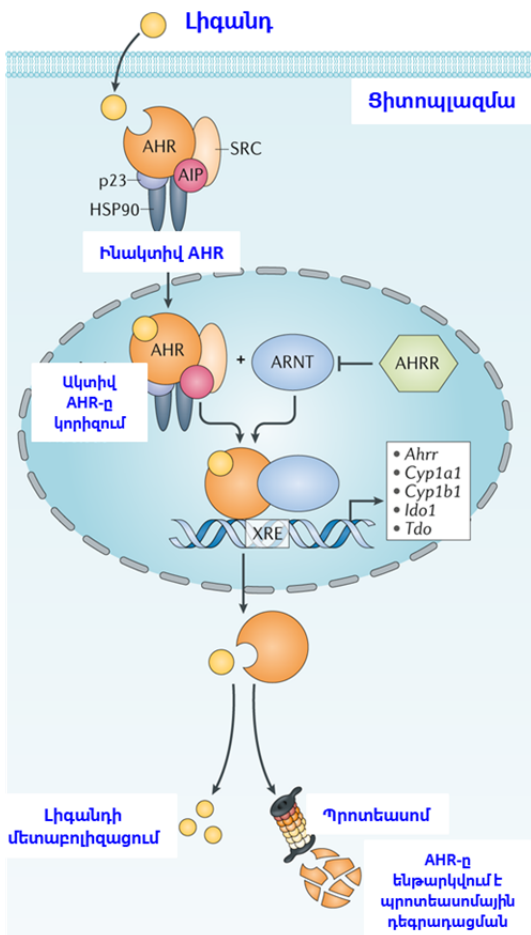


Նկար 25. Բենզոպիրենի կառուցվածքը և մետաբոլիզացման արդյունքում ԴՆԹ աղուկտ առաջացնող էպօքսիդը (Barnes et al., 2018):

Բենզոպիրենը պասիվ դիֆուզիայով ներթափանցում է բջջի ցիտոպլազմ, որում կապվում է արիլ հիդրոկարբոնների ընկալիչի (անզլերեն՝ aryl hydrocarbon receptor, AHR) հետ: AHR-ը տրանսկրիպցիայի գործոն է, որը α-պարույրի հիմնային ամինաթթուներով կապվում է ԴՆԹ մեծ ակոսի առանցքային հաջորդականությունների (տրանսկրիպցիայի գործոնի ճանաչման տիրույթ) հետ: AHR-ը լիգանդով ակտիվացվող տրանսկրիպցիայի գործոն է, որի երկրորդային կառուցվածքը կայունացվում է շապերոնային սպիտակուցների միջոցով (HSP90, AIP, XAP-2, SRC, p23) և ցիտոպլազմայում գտնվում է ինակտիվ վիճակում: Բենզոպիրենի (նաև դիօքսիններ, ֆուրաններ, պոլիքլորինացված բիֆենիլներ, պոլիցիկլիկ արոմատիկ ածխաջրածիններ) հետ փոխազդեցու-

թյան արդյունքում փոփոխվում են AHR կոնֆորմացիան ու աֆինությունը շապերոնների նկատմամբ: Դրա հետևանքով AHR N-ամինոտերմինալ հատվածում գտնվող հիդրոֆիլ՝ արգինին-հարուստ կորիզային տեղակայման հաջորդականությունը (անգլերեն՝ nuclear localization signal, NLS) փոխազդում է իմպորտին α/β կարիոֆերինների հետ և կապվում նուկլեոպորինային կոմպլեքսին: Այնուհետև նուկլեոպորինային անցուղու ֆենիլալանին-գլիցին հարուստ անցուղով տեղափոխվում է կորիզ, որտեղ փոխազդում է Ran GTP-ի հետ: Արդյունքում իմպորտինները դիսոցացվում են AHR-բենզոպիրեն կոմպլեքսից, որն առաջացնում է ակտիվ հետերոդիմեր ARNT (անգլերեն՝ AHR nuclear translocator) սպիտակուցի հետ: Դրա հետևանքով AHR հիդրոֆոբ՝ լեյցին-հարուստ կորիզային էքսպորտի հաջորդականությունը (անգլերեն՝ nuclear export signal, NES) չի կարողանում փոխազդել էքսպորտինների հետ և տեղակայվում է կորիզում: Կորիզում AHR/ARNT հետերոդիմերը կապվում է CYP1A1, CYP1A2 ու CYP1B1 ցիտոքրոմների գեների պրոմոտորներում ու էնհանսերներում քսենոբիոտիկների կամ դիօքսինների պատասխանի հաջորդականություններին (անգլերեն՝ xenobiotic or dioxin response element, XRE or DRE) և բարձրացնում դրանց էքսպրեսիան: XRE-ն կազմված է 10 նգ կոնսենսուս հաջորդականությունից (5'-(T/G)NGCGTG(A/C)(G/C)A-3'), որը ներառում է 5'-GCGTG-3' առանցքային հաջորդականությունը՝ AHR-ի հետ փոխազդեցության համար: Մարդու գենոմում հայտնաբերվել են ավելի քան 880 AHR/ARNT փոխազդեցության տեղամասեր: AHR/ARNT կոմպլեքսը բարձրացնում է նաև AHR ռեպրեսորի ակտիվությունը, որն արգելակում է AHR/ARNT կոմպլեքսի առաջացումը: Այնուհետև AHR/ARNT կոմպլեքսը դիսոցացվում է ԴՆԹ-ից, փոխազդում է էքսպորտինների հետ և դուրս բերվում ցիտոպլազմա, որտեղ կովալենտ կապվում է ուբիքվիտինի հետ և ենթարկվում պրոտեասոմային

դեգրադացման (Նկ. 26): Սա AHR ակտիվացմամբ մոլեկուլային ազդակի փոխանցման դասական ուղին է:



Նկար 26. AHR ընկալիչի ազդանշանային ուղին: Ինակտիվ AHR-ը տեղակայված է ցիտոպլազմայում՝ շապերոնների (HSP90, AIP և SRC) հետ կապված վիճակում: Լիգանդի հետ փոխազդեցության հետևանքով AHR-ն առանձնանում է համալիրից և տեղափոխվում դեպի բջջակորիզ, որտեղ կապվում է ARNT գործոնին ու միանում տարբեր գեների XRE պրոմոտորային տեղամասերին՝ մակաձեղով դրանց էքսպրեսիան (Rothhammer et al., 2019):

CYP1A1 ու CYP1B1 ցիտոքրոմներն օքսիդացնում են բենզապիրենը մինչև 7,8-էպօքսիդի, որը միկրոտոմային էպօքսիդ հիդրոլազների կողմից փոխարկվում է 7,8-դիհիդրոդիոլի: Վերջինս CYP1A1-ի կողմից ակտիվացվում է մինչև 7,8-դիհիդրոդիոլ-9,10-էպօքսիդի, որն էլ կովալենտ կապվում է գուանինի N2 դիրքին: Արդյունքում առաջանում է ծավալուն ադուկտ, որի առկայությունը պրոտոօնկոգեներում կամ ռեպարացիայի գեներում բարձրացնում է քաղցկեղի առաջացման հավանականությունը:

AHR գերեքսպրեսիան դիտվել է Հոջկինի լիմֆոմայի, քրոնիկ լիմֆոցիտային լեյկեմիայի, T-բջջային լեյկեմիայի, կրծքագեղձի, գլխուղեղի, երիկամների, թոքերի և մի շարք այլ քաղցկեղի ժամանակ: AHR էնդոգեն լիգանդներից է տրիպտոֆանի մետաբոլիտ կինուրենինը, որի ներբջջային կոնցենտրացիայի բարձրացումը դիտվել է կրծքագեղձի, գլխի ու պարանոցի քաղցկեղի ու գլխուղեղի ստամոքսի ժամանակ: Ցույց է տրվել կինուրենինի կոնցենտրացիայի կախվածությունը ինդոլամին 2,3-դիօքսիգենազից (IDO) ու տրիպտոֆան դիօքսիգենազից (TDO): Այս ֆերմենտների ակտիվությունը կարգավորվում է AHR-ի կողմից: Ուստի ենթադրվում է, որ չարորակ բջիջներում AHR քրոնիկ էքսպրեսիան կարող է պայմանավորված լինել AHR կախյալ IDO ու TDO ֆերմենտների ակտիվացմամբ:

Աֆլատոքսին B1

Մարդու առողջության համար վտանգավոր քիմիական գործոններից են որոշ բորբոսասնկերի երկրորդային մետաբոլիտները՝ **միկոտոքսինները**: «Միկոտոքսին» տերմինը մշակվել է 1962 թ., երբ Լոնդոնին կից թռչնաբուծարանում ավելի քան 100.000 հնդկահավեր սատկեցին անհասկանալի պատճառներով՝ «X» հիվանդությունից: Հետագայում պարզվեց, որ հնդկահավերի կերի համար օգտագործված գետնանուշը վարակված էր *Aspergillus flavus* սնկերով: Այս աշխատանքների հիման վրա

մշակվեց նոր ուղղություն՝ միկոթունաբանություն, իսկ միկոտոքսիններով թունավորումները կոչվեցին միկոտոքսիկոզներ:

Ըստ FAO գործակալության (անգլերեն՝ Food and Agricultural Organization)՝ յուրաքանչյուր տարի աշխարհում արտադրվող հացահատիկների ավելի քան 25 %-ն աղտոտվում է միկոտոքսիններով, որոնց հիմնական մասն արտադրվում են *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps* և *Alternaria* ցեղերի սնկերի կողմից: Ներկայումս հայտնի են ավելի քան 400 միկոտոքսիններ, որոնցից աֆլատոքսինները, օխրատոքսին A, դեօքսիինիվալենոլը, HT-2 և T-2 տոքսինները, զեարալենոնն ու ֆուսոնիզիններն առանձնանում են բարձր թունայնությամբ ու հանդիպման հաճախականությամբ:

Միկոտոքսինները խիստ բազմազան են իրենց կառուցվածքով ու ազդեցության մեխանիզմներով, տեսակային, հյուսվածքային ու մոլեկուլային թիրախներով, ինչը զգալիորեն բարդացնում է դրանց դասակարգումը: Հյուսվածքաբանները հաճախ դասակարգում են միկոտոքսինները՝ հիմնվելով թիրախ օրգանի կամ հյուսվածքի վրա, օրինակ՝ հեպատոտոքսիններ, նեֆրոտոքսիններ, նեյրոտոքսիններ, իմունոտոքսիններ և այլն: Բջջաբանները դասակարգում են տեռատոզենների, մուտագենների, կանցերոզենների ու ալերգենների խմբերում: Քիմիկոսները փորձում են դասակարգել միկոտոքսինները՝ հիմնվելով դրանց քիմիական կառուցվածքի վրա (օրինակ՝ լակտոններ, կումարիններ), կենսաքիմիկոսները՝ ըստ դրանց կենսասինթեզի աղբյուրի (օրինակ՝ պոլիկետիդներ, ամինաթթուների ածանցյալներ), բժիշկները՝ ըստ հիվանդության (օրինակ՝ սուրբ Անտոնիոսի կրակ), իսկ սնկաբանները հիմնվում են միկոտոքսինն արտադրող սնկերի վրա (օրինակ՝ *Aspergillus* ցեղի թույներ): Ավելին՝ միևնույն միկոտոքսինը կարող է լինել դասակարգման տարբեր խմբերում, օրինակ՝ աֆլատոքսինը հեպատոտոքսիկ, մուտագեն, կանցերոզեն, դիֆուրան պարունակող պոլիկետիդ ածանցյալ է: Ուստի ներկա-

յունս չկա միկոտոքսիների դասակարգման միասնական համակարգ:

Միկոտոքսիները կարելի է դասակարգել նաև ըստ թունաբանական ակտիվության, ըստ այդմ՝ առանձնացնում են երեք խումբ.

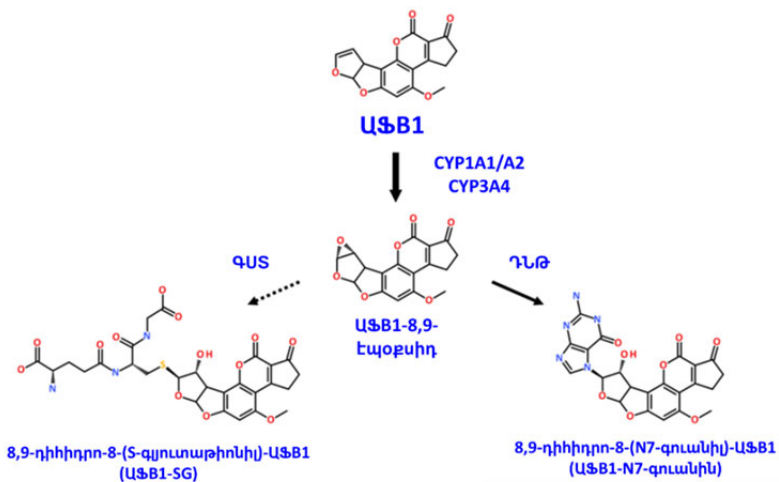
➤ սուր տոքսիկությամբ – օրինակ՝ ցիկլոքլորոտին և ռուբրատոքսին B, որոնք լետալ են <1 մգ/կգ/մարմնի զանգված կոնցենտրացիայով ազդեցության դեպքում,

➤ բարձր տոքսիկությամբ – օրինակ՝ աֆլատոքսին B1, տրիխոտեցեններ ու ցիտրեովիրիդին, որոնք լետալ են $>1-10$ մգ/կգ/մարմնի զանգված կոնցենտրացիայով ազդեցության դեպքում,

➤ թույլ տոքսիկությամբ – մնացած միկոտոքսիները, որոնք լետալ են >10 մգ/կգ/մարմնի զանգված կոնցենտրացիայով ազդեցության դեպքում:

Մննդամթերքներում հաճախ հայտնաբերվող ու բարձր թունայնությամբ օժտված աֆլատոքսիններն (IARC 1) արտադրվում են *Aspergillus flavus* (աֆլատոքսին B1, B2) և *Aspergillus parasiticus* (աֆլատոքսին B1, B2, G1, G2) սնկերի կողմից, իսկ աֆլատոքսիններ M1/M2-ը հայտնաբերվում են կենդանիների կաթում՝ CYP1A2 ցիտոքրոմի մասնակցությամբ աֆլատոքսին B1-ի հիդրօքսիլացման արդյունքում: Աֆլատոքսինների շարքից առավել բարձր թունայնությամբ օժտված է **աֆլատոքսին B1-ը** (ԱՖB1), որի պատճառով 2003 թ. 120 քենիացի մահացել է լյարդի սուր աֆլատոքսիկոզի ախտանիշներով:

ԱՖB1-ը պրոմոտագեն է, որի հեպատոկանցերոզեն ակտիվությունը պայմանավորված է լյարդի բջիջներում կենսափոխակերպման պատճառով ձևավորվող բարձր մուտագենությամբ օժտված ԱՖB1-8,9-էպօքսիդի ու ԴՆԹ-ի միջև ադուկտների առաջացմամբ (Նկ. 27):



Նկար 27. Աֆլատոքսինի կառուցվածքն ու կենսափոխակերպումը, որի արդյունքում առաջանում է բարձր մուտագենության օժտված ԱՖԵԸ-8,9-էպօքսիդ կանցերոգեն միացությունը (Monson et al., 2015):

Մարդու օրգանիզմում ԱՖԵԸ-ը կլանվում է տասներկուամսնյա աղիքով և ենթարկվում կենսափոխակերպման միկրոսոմային (CYP1A2, 3A4, 3A5, 3A7, 2A3 ու 2B7), լյարդի (CYP3A3) ու թոքերի (CYP2A13) ցիտոքրոմների միջոցով համապատասխան օրգաններում: Այս մոնօքսիգենացները կատալիզում են ֆուրանային օղակում C8=C9 կրկնակի կապի օքսիդացումը, ինչի արդյունքում առաջանում են ԱՖԵԸ-էքզո-8,9-էպօքսիդ կամ ԱՖԵԸ-էնդո-8,9-էպօքսիդ: Ընդ որում ԱՖԵԸ-էքզո-8,9-էպօքսիդի մուտագենությունն էյմսի թեստում ավելի քան 1000 անգամ գերազանցում է էնդո էպօքսիդին: Էքզո էպօքսիդը կարող է չեզոքացվել գլյուտաթիոն-S-տրանսֆերազի միջոցով՝ կապվելով գլյուտաթիոնին ու հետագայում ենթարկվելով էքսկրեցիայի (Նկ. 27):

Բջջում ԱՖԵԸ-էքզո-8,9-էպօքսիդը կովալենտ կապով փոխազդում է ԴՆԹ-ի հետ՝ առաջացնելով ԱՖԵԸ-ԴՆԹ ադուկտներ: Ընդ որում՝ ադուկտների 60–80 %-ն առաջանում են TP53 գենի 249-րդ կոդոնի (5'-AG*G-3') 3-րդ գուանինի N7 դիրքում (ԱՖԵԸ-

N7G): Դրական լիցքի պատճառով ԱՖՅ1-N7G ադուկտը խիստ անկայուն է և ԴՆԹ-ից դուրս մղվելու պատճառով թողնում է ապուրինային սայթեր (AP): Միննույն ժամանակ գուանինի իմիդազոլային օղակը (C3N2H4) կարող է բացվել թույլ հիմնային պայմաններում, որի արդյունքում առաջանում են երկու կայուն իզոմերներ՝ ցիս- և տրանս-ԱՖՅ1 ֆորմամիդոպիրիմիդինային (ԱՖՅ1-FAPy) ադուկտներ: ԱՖՅ1-էպօքսիդով մակաձված այս երեք տիպի վնասվածքները (ԱՖՅ1-N7G, AP, ԱՖՅ1-FAPy) ԱՖՅ1-ի գենաթունային ու կանցերոզեն ազդեցությունների հիմնական կենսամարկերներն են: Ընդ որում՝ ԱՖՅ1-FAPy ադուկտն օժտված է առավել բարձր մուտագենությամբ, քանի որ այս խաթարումը զգալիորեն չի ազդում ԴՆԹ պարույրի տարածական կառուցվածքի վրա՝ համեմատած ԱՖՅ1-N7G ծավալուն ադուկտի հետ, և խաթարում են ԴՆԹ ռեպարացիան: ԱՖՅ1-FAPy ադուկտները գլխավորապես ռեպարացվում են նուկլեոտիդների հեռացման ռեպարացիայով (NER), որը ճանաչում է ԴՆԹ տարածականորեն խաթարված հատվածները. որքան մեծ է ԴՆԹ տարածական խաթարումը, այնքան ավելի հաճախ է ճանաչվում ռեպարացիայի ֆերմենտների կողմից: ԱՖՅ1-FAPy ադուկտները կարող են հեռացվել նաև հիմքերի հեռացման ռեպարացիայով (BER): Սակայն ԱՖՅ1-ի ազդեցության ժամանակ մակաձվում է BER ռեպարացիային մասնակցող NEIL1 գլիկոզիլազի գենի պրոմոտորի հիպերմեթիլացում և սպիտակուցի սինթեզի ընկճում, ինչը զգալիորեն բարձրացնում է հեպատոկանցերոզենեզի ռիսկը: ԱՖՅ1-FAPy ադուկտների ռեպարացիան կարող է խաթարվել նաև ռեպարացիայի ու թունագերծման 2-րդ փուլի սպիտակուցները կողմնորոշող գեների պոլիմորֆիզմների պատճառով, ինչը դիտվել է ԱՖՅ1-ի բարձր ազդեցությանը ենթարկվող Չինաստանի և Աֆրիկայի պոպուլյացիաներում: Ռեպարացիայի խաթարման արդյունքում առաջանում է G→T տրանսվերսիան, որի հետևանքով արգինինը փոխարինվում է սերինով, և առաջանում թերֆոննկ-

ցիոնալ p53 սպիտակուցը (p53-R249S): p53-R249S սպիտակուցը չի կարողանում փոխազդել թիրախ հաջորդականությունների, այդ թվում՝ բջջային ցիկլի արգելակման, սենսենսի ու ապոպտոզի կարգավորմանը մասնակցող գեների պրոմոտորներին, ինչը հանգեցնում է բջջային տրանսֆորմացիայի: p53 կախյալ գեներից են բջջային ցիկլի ու ապոպտոզի կարգավորմանը մասնակցող CDKN1A (կոդավորում է p21 սպիտակուցը) և BBC3 (կոդավորում է PUMA սպիտակուցը) գեները: Գենաթույների ազդեցության պայմաններում ԴԼԹ ռեպարացիային մասնակցող կինազները ֆոսֆորիլացնում են p53 սպիտակուցի N-ամինոտերմինալ հատվածում գտնվող սերին/թրեոնին մնացորդները, ինչը կայունացնում է p53-ի կոնֆորմացիան և բարձրացնում դրա տրանսկրիպցիոն ակտիվությունը: Արդյունքում բարձրանում է p21 ու PUMA սպիտակուցների էքսպրեսիան: p21-ը կապվում և արգելակում է ցիկլին կախյալ կինազները (ցիկլին A/CDK2, E/CDK2, D1/CDK4 և D2/CDK4), ինչը կանխում է ռետինոբլաստոմայի սպիտակուցի (pRb) հիպերֆոսֆորիլացումն ու բջջային ցիկլի G1/S և G2/M անցումները: Միննույն ժամանակ PUMA սպիտակուցը կարող է կապվել հակաապոպտոզային BCL-2 սպիտակուցի հետ և խաթարել դրա փոխազդեցությունը BAX/BAK սպիտակուցների հետ: Վերջիններս օլիգոմերիզացվում են միտոքոնդրիումների մեմբրանում և մակաձուլ ապոպտոզ: Մակայն ԱՖԲ1 ազդեցությամբ TP53-ի մուտացիան հանգեցնում է այս ուղիների խաթարմանը, ինչի արդյունքում ցիկլին կախյալ կինազների գերէքսպրեսիան հանգեցնում է բջջի անկանոն կիսմանն ու քաղցկեղային ֆենոտիպի ձևափոխմանը: Այս մեխանիզմը երկար տարիներ համարվում էր հիմնականը և տրամաբանորեն բացատրում էր ԱՖԲ1-ով մակաձուլած հեպատոկանցերոգենեզի մոլեկուլային մեխանիզմները: Մակայն 2017 թ. բացահայտվեց մեկ այլ ուղի, որի դեպքում TP53 գենի մուտացիան (p53-R249S) բարձրացնում է դրա ակտիվությունը (անզլերեն՝ gain of function):

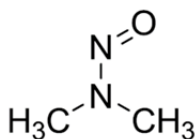
Ինչպե՞ս է ինակտիվացնող մուտացիան նպաստում գենի գերֆունկցիային: p53-R249S սպիտակուցում սերինը դառնում է CDK4/ցիկլին D1 կինազային կոմպլեքսի ֆոսֆորիլացման թիրախ G1 փուլի ընթացքում: Ֆոսֆորիլացման արդյունքում առաջանում է ֆոսֆո-Ser249-Pro250, որին միանում է Pin1 սպիտակուցը և խթանում p53-R249S-ի տեղափոխումը դեպի կորիզ, որտեղ կապվում է c-Myc պրոտոօնկոգեն սպիտակուցին՝ կանխելով դրա փոխազդեցությունը FBW7a ուբիքվիտինիզազի հետ: Արդյունքում c-Myc սպիտակուցը, որը գերեքսպրեսված է քաղցկեղի մի շարք տեսակներում, չի ենթարկվում պրոտեստոմային դեգրադացման և խթանում է բջջային պրոլիֆերացիան ու կենսունակությունը: Այս ուղու ակտիվացումը ցույց է տրվել p53-R249S մուտացիայով լյարդի քաղցկեղի նմուշներում, որն ինակտիվ էր այս մուտացիան չկրող լյարդի քաղցկեղի հյուսվածքներում: Ներկայումս մշակվում են տարբեր մոտեցումներ այս ուղիների հիմնական սպիտակուցների թիրախավորման համար, ինչը լյարդի քաղցկեղի բուժման խոստումնալից մոտեցում է:

Բացահայտվել է, որ TP53-ի մուտացիայով լյարդի քաղցկեղի ավելի քան 30 % դեպքերում հանդիպում է p53-R249S մուտացիան, իսկ լյարդի քաղցկեղի առաջացման բարձր ռիսկային գոտիներում մուտացիան դիտվում է >96 % դեպքերում: Ներկայումս լյարդի քաղցկեղի առավել բարձր հաճախականությունները գրանցվում են Աֆրիկայում ու Ասիայի երկրներում՝ համապատասխանաբար 64.779 ու 609.596 նոր դեպք մեկ տարվա ընթացքում, ինչը կազմում է աշխարհում լյարդի քաղցկեղի 80 %-ը: Ընդ որում՝ ԱՖԲ1-ով մակաձված լյարդի քաղցկեղի դեպքերը կազմում են 25.200-155.000: Աշխարհում լյարդի քաղցկեղով դեպքերն առավել հաճախ հանդիպում են Չինաստանի հարավային հատվածներում, որտեղ սննդային աֆլատոքսինով թունավորումներն ունեն ամենաբարձր մակարդակները:

N-նիտրոզոդիմեթիլամին ու ծխախոտ-սպեցիֆիկ նիտրոզամիններ

Մարդու շրջակա միջավայրի լայնորեն տարածված կանցերոզեններից են **N-նիտրոզամինները** ($R_2N-N=O$, R-ը՝ ալկիլ խումբ), որոնք կարող են ունենալ էքզոգեն ու էնդոգեն ծագում: Այս միացությունները հայտնի են որպես հիդրոֆիլ ալկիլացնող մուտագեններ, որոնք առաջանում են թթվային պայմաններում նիտրատների (կամ նիտրիտների) ու ամինների (կամ N-ալկիլամինների) միջև ռեակցիայի արդյունքում, իսկ մուտագենությունը դրսևորում են կենսափոխակերպմամբ ակտիվացվելուց հետո: Ներկայումս հայտնի է ավելի քան 470 նիտրոզամին, որոնցից 171-ը դրական է էյմսի թեստում և կոռելացվում է *in vivo* կանցերոզության հետ:

Մարդիկ ենթարկվում են նիտրոզամինների ազդեցությանը գլխավորապես վերամշակված մսամթերքի և ձկնամթերքի, ծխախոտի, ալկոհոլային խմիչքների, անհատական խնամքի միջոցների ու քլորամինացված ջրի օգտագործմամբ, ինչպես նաև աշխատանքային գործունեության (օրինակ՝ ներկերի, կաշվի, կաուչուկի, դետերգենտների ու մի շարք այլ արտադրություններ) ընթացքում: Առավել հաճախ հանդիպող նիտրոզամինը N-նիտրոզոդիմեթիլամինն է (կամ դիմեթիլնիտրոզամին), որի կանցերոզությունը ցույց է տրված կենդանիների մոտ և դասակարգվում է մարդու հավանական կանցերոզենների խմբում (IARC 2A) ([Նկ. 28](#)):



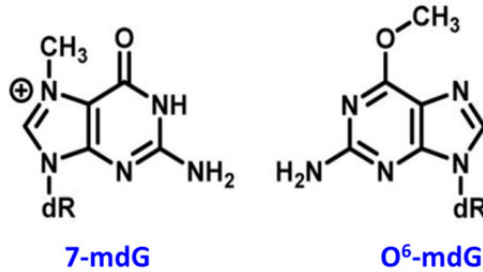
Նկար 28. N-նիտրոզոդիմեթիլամինի (կամ դիմեթիլնիտրոզամին) կառուցվածքը:

N-նիտրոգոդիլամեթիլամինի բացասական ազդեցությունն առաջին անգամ նկարագրվել է փոքր կաթնասունների մոտ: 1957 թ. Նորվեգիայի ջրաքիսների բուծարաններում վերամշակված ձկնային բաղադրիչ պարունակող կերով սնված կենդանիների մոտ գրանցվեց լյարդի քաղցկեղի հաճախականության աճ: Այդպիսի պատկեր գրանցվել էր նաև 1970-ական թթ. սկզբին Նորվեգիայի այլ կենդանաբուծարաններում, որտեղ վերամշակված ձկնային բաղադրիչ պարունակող կերով սնված որոշ կենդանիների մոտ զարգացել էին լյարդի քաղցկեղ ու այլ հիվանդություններ: Թունաբանական հետազոտությունների արդյունքում պարզվեց, որ նիտրիտով մշակված ձկնային սնունդն աղտոտված էր N-նիտրոգոդիլամեթիլամինով: Այդ տարիներին նատրիումի նիտրիտն օգտագործվում էր ձկնային մթերքների երկարաժամկետ պահպանման համար: Ներկայումս հայտնի է, որ նատրիումի նիտրատը կարող է փոխազդել ձկների հյուսվածքներում առկա ամինների հետ, որի արդյունքում ձևավորվում է N-նիտրոգոդիլամեթիլամին կանցերոգեն միացությունը:

Նիտրոգամիններով աղտոտման մեկ այլ խոշոր պատահար գրանցվել էր նաև դեղերի արտադրության ոլորտում: 2018 թ. վալգարտան (անգիոտենզին II ընկալիչի անտագոնիստ) պարունակող մի շարք դեղամիջոցներ հետ էին կանչվել, քանի որ դեղերի ակտիվ բաղադրիչի սինթեզի ընթացքում առաջացել էր N-նիտրոգոդիլամեթիլամին դիմեթիլֆորմամիդի (լուծիչ) ու նիտրիտային ռեագենտի փոխազդեցության արդյունքում: Ստացված դեղանյութում նիտրոգամինի առկայությունը բացահայտվել էր այլ թեստավորման ընթացքում: Ուստի ներկայումս խորհուրդ է տրվում թիրախավորված կերպով իրականացնելու նիտրոգամինների նույնականացում վալգարտանի սինթեզին նման ռեակցիաներով ընթացող այլ ակտիվ միացությունների ստացման ժամանակ:

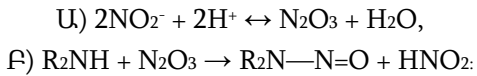
Լյարդում CYP2E1 ցիտոքրոմի մասնակցությամբ N-նիտրոգոդիլամեթիլամինից առաջանում են մեթիլամին, ֆորմալդեհիդ,

էթանոլ ու մեթիլդիագոնիումային իոն (CH_3N_2^+): CH_3N_2^+ փոխազդում է ԴՆԹ-ի հետ և առաջացնում **մեթիլացված ադուկոններ** (օրինակ՝ 7-մեթիլ-2'-դեօքսիգուանոզին (7-mdG), O6-մեթիլ-2'-դեօքսիգուանոզին (O6-mdG)) (Նկ. 29), որոնք լաբորատոր փորձակենդանիների լյարդում մակածում են քաղցկեղ:



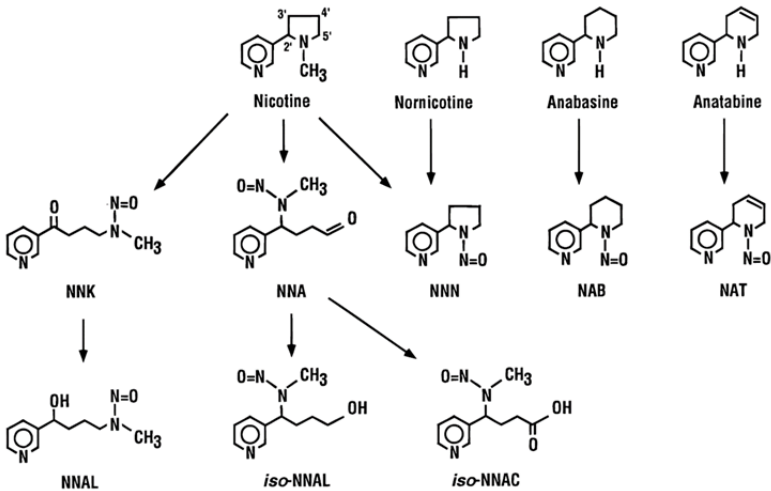
Նկար 29. Մեթիլդիագոնիումային իոնի (CH_3N_2^+) ու ԴՆԹ փոխազդեցության արդյունքում առաջացած ԴՆԹ ալկիլ ադուկոններ (Peterson, 2017):

Նիտրոզամինների էքզոգեն աղբյուրներից է վերամշակված մսամթերքը (օրինակ՝ երշիկներ, ապխտած մսամթերք/ձկնամթերք), որի պատրաստման ընթացքում կիրառում են նիտրիտներ (կամ նիտրատներ)՝ *Clostridium botulinum* բակտերիայի (արտադրում է նեյրոտոքսիկ բոտուլին սպիտակուցը) աճը կանխելու համար: Մարդու ու կենդանիների օրգանիզմում բակտերիաների նիտրատ ռեդուկտազի կողմից նիտրատը (NO_3^-) փոխարկվում է նիտրիտի (NO_2^-), որն էլ պրոտոնացվելով առաջացնում է նիտրոզացնող ազոտի անհիդրիդ (Ս ռեակցիա): Վերջինս միանում է չպրոտոնացված երկրորդային ամինների (NH խմբին միանում են արիլ և/կամ ալկիլ ռադիկալներ, օրինակ՝ դիմեթիլամինը) չզույգված էլեկտրոններին նուկլեոֆիլ ռեակցիայով և առաջացնում N-նիտրոզամին (Բ ռեակցիա)։



Նիտրոզամինների կանցերոզեն ազդեցությունները կախված են R1 ու R2 ռադիկալներից: Օրինակ՝ դիմեթիլ $((\text{CH}_3)_2\text{N}-\text{N}=\text{O})$ և դիէթիլ $((\text{C}_4\text{H}_{10})\text{N}-\text{N}=\text{O})$ միացությունները գլխավորապես մակա-ծում են լյարդի ռուուզքներ, մինչդեռ դիբութիլ նիտրոզամինները $((\text{C}_8\text{H}_{18})\text{N}-\text{N}=\text{O})$ ՝ միզապարկի քաղցկեղ:

Բարձր կանցերոզենությամբ նիտրոզամիններից են ծխախոտի սպեցիֆիկ նիտրոզամինները՝ 4-(մեթիլնիտրոզամին)-1-(3-պիրիդիլ)-1-բութանոն (NNK) ու N-նիտրոզոնորնիկոտինը (NNN) (IARC 1): Ծխախոտի սպեցիֆիկ նիտրոզամիններից են նաև N-նիտրոզոանատաբինը (NAT), N-նիտրոզոանաբասինը (NAB), 4-(մեթիլնիտրոզամին)-1-(3-պիրիդիլ)-1-բութանոլ (NNAL), 4-(մեթիլնիտրոզամին)-4-(3-պիրիդիլ)-1-բութանոլ (iso-NNAL) և 4-(մեթիլնիտրոզամին)-4-(3-պիրիդիլ) բութիրաթթուն (iso-NNAC), որոնք օժտված են մուտագեն ու կանցերոզեն հատկություններով (Նկ. 30):

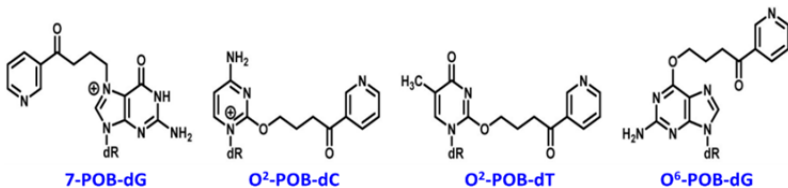


Նկար 30. Կանցերոզեն ակտիվությամբ ծխախոտի ծխի սպեցիֆիկ նիտրոզամինների կառուցվածքը (Hecht, 1998):

Նիկոտինը ծխախոտի հիմնական ակալոիդն է և երկրորդային ամին, իսկ նորնիկոտինը, անատաբինն ու անաբասինը՝ երրորդային ամիններ, որոնց նիտրոզացման, օքսիդացման ու նիտրատների հետ փոխազդեցության արդյունքում ձևավորվում են զենաթունային ու մուտազեն ակտիվությամբ միացություններ: Ծխախոտի սպեցիֆիկ նիտրոզամինների մի մասն էլ գոյանում է թքում առկա նիտրիտների և ներշնչված ծխախոտի ծխի ազոտի օքսիդների փոխազդեցությամբ: Ծխախոտի սպեցիֆիկ նիտրոզամինների ընդհանուր մակարդակները տատանվում են 200-600 նգ/գլանակ:

Նիտրոզամինները պրոմուտազեններ են, որոնց առաջնային մետաբոլիկ ակտիվացման փուլում տեղի է ունենում α -հիդրօքսիլացում: Ընդ որում՝ NNN-ը գլխավորապես մետաբոլիզացվում է CYP2A13, CYP2A6 և CYP2E1 ցիտոքրոմներով, իսկ NNK-ն՝ CYP1A2, CYP2A13, CYP2B6 ու CYP2E1 ցիտոքրոմներով:

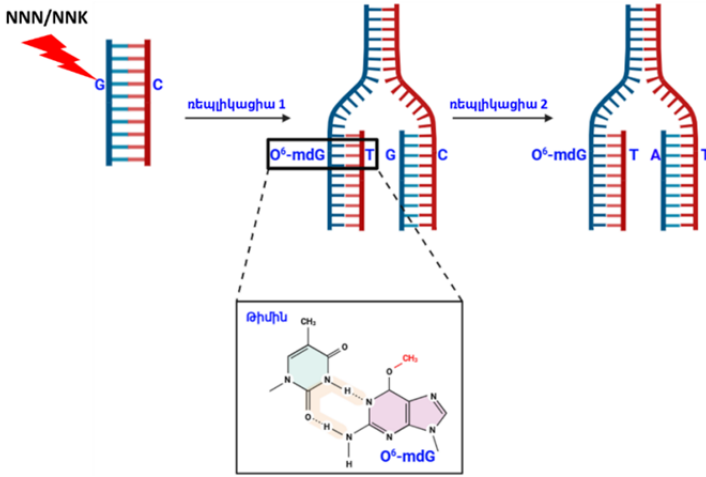
NNN ու NNK-ի հիդրօքսիլացման արդյունքում առաջանում է պիրիդիլ-4-օքսոբուրիդիլազոհիդրօքսիդ (և ֆորմալդեհիդ), որն ակտիվացնում է ԴՆԹ-ն՝ առաջացնելով **պիրիդիլօքսոբուրիլ ԴՆԹ ադուկտներ** (օրինակ՝ 7-[4-(3-պիրիդիլ)-4-օքսոբուրիլ]-2'-դեօքսիգուանոզին (7-POB-dG), O2-[4-(3-պիրիդիլ)-4-օքսոբուրիլ]-2'-դեօքսիցիտիդին (O2-POB-dC), O2-[4-(3-պիրիդիլ)-4-օքսոբուրիլ]-թիմիդին (O2-POB-dT), O6-[4-(3-պիրիդիլ)-4-օքսոբուրիլ]-2'-դեօքսիգուանոզին (O6-POB-dG)) (Նկ. 31):



Նկար 31. Ծխախոտի ծխի սպեցիֆիկ նիտրոզամիններ NNN-ով ու NNK-ով մակաձվող պիրիդիլօքսոբուրիլ ԴՆԹ ադուկտներ (Peterson, 2017):

Պիրիդիլօքսոբուրիլ ԴՆԹ ադուկտները կարող են մակաձել հիմքերի փոխարինման մուտացիաներ: Այսպես՝ O2-POB-dT և O4-POB-dT արգելակում են ԴՆԹ ռեպլիկացիան ու համապատասխանաբար մակաձում $T \rightarrow A$ ու $T \rightarrow C$ մուտացիաները: Իսկ O6-POB-dG գլխավորապես մակաձում է $G \rightarrow A$ ու $G \rightarrow T$ մուտացիաները: Մարդու բջիջներում O6-POB-dG ծավալուն ադուկտը չի ճանաչվում NER ռեպարացիայի կողմից և մակաձում է $G \rightarrow T$ տրանսվերսիաներ, ինչը ծխախոտի ծխի կանցերոզեն ակտիվության մեխանիզմներից մեկն է: Ընդ որում՝ կանցերոզենության ռիսկը զգալիորեն բարձրանում է, երբ մուտացիաներն առաջանում են ԴՆԹ ռեպարացիան ու բջջային ցիկլը կարգավորող գեներում:

Բացահայտվել է, որ նիտրոզամիններն, ինչպես այլ ալկիլացնող գործոնները, գլխավորապես մակաձում են տրանզիցիաներ ու տրանսվերսիաներ: Օրինակ՝ O6-mdG մեթիլացված ադուկտը մակաձում է $G \rightarrow A$ տրանզիցիան: Ո՞րն է դրա պատճառը: O6-mdG-ի ռեպլիկացիայի առաջին ցիկլի ժամանակ ԴՆԹ պոլիմերազը O6-mdG-ի դիմաց հաճախ տեղադրում է T: Եթե առաջացած սխալը չի ռեպարացվում, ապա ԴՆԹ-ն մտնում է հաջորդ բջջային ցիկլ, որի ժամանակ O6-mdG-ի հետ գույգավորված T-ի դիմաց նոր սինթեզվող շղթայում դրվում է A (Նկ. 32): Արդյունքում առաջանում են դուստր բջիջներ, որոնցում մեթիլացված գուանինները փոխարինվում են ադենիններով, ինչը կարող է դառնալ կանցերոզենեզի պատճառ:



Նկար 32. G→A տրանզիցիայի մակաձուռ մեթիլացնող նիտրոզամիններով (պատրաստված է BioRender համակարգով):

O6-mdG-ով մակաձված տրանզիցիաների բացասական էֆեկտները կանխվում են O6-մեթիլգուանին ԴՆԹ-մեթիլտրանսֆերազի (MGMT) միջոցով: Յուրաքանչյուր O6-mdG ադուկտ ռեպարացվում է MGMT սպիտակուցի մեկ մոլեկուլով, որի միջոցով գուանինից մեթիլ խումբը տեղափոխվում է սպիտակուցի ակտիվ կենտրոնի ցիստեինային մնացորդի վրա (Cys145): Դրա արդյունքում գուանինը վերականգնվում է, իսկ MGMT սպիտակուցին միանում է ուրիքվիտին և ենթարկվում պրոտեասոմային դեգրադացման: Ուստի MGMT սպիտակուցը երբեմն կոչում են «ինքնասպանություն գործող ֆերմենտ»: Ռեպարացիայի ռեակցիայի ստեխիոմետրիայից ելնելով կարելի է եզրակացնել, որ ռեպարացիայի հնարավորությունները սահմանափակվում են բջջում MGMT ակտիվ մոլեկուլների քանակով: Հետևաբար, եթե O6-mdG ադուկտների թիվը գերազանցի MGMT մոլեկուլների թիվը, ապա զգալիորեն կբարձրանա G→A տրանզիցիայի ռիսկը: Բացահայտվել են MGMT էքսպրեսիայի միջանհատական տարբերություններ մարդու և կենդանիների հյուսվածքներում: Այսպիսով՝ կարե-

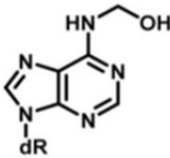
լի է ենթադրել, որ MGMT ցածր էքսպրեսիայով անհատների մոտ թոքերի քաղցկեղի առաջացման ռիսկն ավելի բարձր է:

NNK-ով GGT→GAT տրանզիցիայի մակաձում դիտվել է մկների թոքերի քաղցկեղային հյուսվածքներում՝ KRAS պրոտոնկոգենի 12-րդ կոդոնում: Ընդ որում՝ MGMT գերէքսպրեսիայով տրանսգեն մկների մոտ այս մուտացիաների հաճախականությունը չորս անգամ ավելի ցածր էր՝ համեմատած վայրի տիպի մկների հետ:

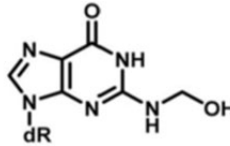
GGT→GAT տրանզիցիան դիտվում է նաև (ացետոքսիմեթիլ) մեթիլնիտրոզամին ակլիլացնող կանցերոգենով մակաձված մկների թոքերի ուռուցքային բջիջներում: Հետաքրքիր է, որ մարդու թոքերի ուռուցքներում նույնպես բացահայտվել են KRAS պրոտոնկոգենի 12-րդ կոդոնի մուտացիաներ, որոնք առավել հաճախ հանդիպում են ծխողների ու նախկին ծխողների մոտ՝ համեմատած չծխողների հետ: Ընդ որում՝ GGT→TGT տրանսվերսիաները կազմում են 12-րդ կոդոնի մուտացիաների 60 %-ը, GGT→GAT՝ 20 %-ը, իսկ GGT→GTT՝ 15 %-ը: Քանի որ G→T տրանսվերսիաները գերակշռում են, ուստի ենթադրվում է, որ դրանք մակաձվում են ծխախոտի ծխի բենզոպիրենի ազդեցությամբ՝ դիոլ էպօքսիդային ադուկտների պատճառով: Սակայն այսպիսի մուտացիաներ կարող են մակաձվել նաև ծխախոտի այլ մուտագեններով, որոնցից են ՊԱԱ, արոմատիկ ամինները, ակտիվ ռադիկալներն ու α/β -չհագեցած ալդեհիդները:

Ծխախոտի նիտրոզամինների մետաբոլիկ ակտիվացման ժամանակ ձևավորվում են նաև ալդեհիդներ, որոնք կարող են փոխազդել ԴՆԹ-ի հետ: Օրինակ՝ NNK-ից առաջանում է **Ֆորմալդեհիդ** (CH₂O), որը փոխազդում է նուկլեոտիդների էքզոցիկլային ամինների հետ՝ առաջացնելով N⁶-հիդրօքսիմեթիլ-2'-դեօքսիադենոզին (N⁶-CH₂OH-dA), N²-հիդրօքսիմեթիլ-2'-դեօքսիգուանոզին (N²-CH₂OH-dG) ու N⁴-հիդրօքսի-2'-դեօքսիցիտիդին (N⁴-CH₂OH-dC) ադուկտները (Նկ. 33): Ֆորմալդեհիդի հետ փոխազդեցու-

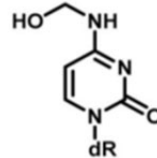
թյամբ առաջացած ադուկտները հանգեցնում են ԴՆԹ-ում ներշղթայական ու միջշղթայական կարանների առաջացմանը (օրինակ՝ դեօքսիադենոզին-CH2-դեօքսիադենոզին):



N⁶-CH₂OH-dA



N²-CH₂OH-dG

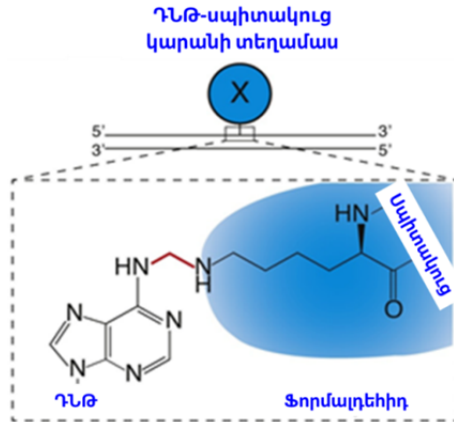


N⁴-CH₂OH-dC

Նկար 33. ԴՆԹ ու ծխախոտի NNK մետաբոլիզացումից առաջացող ֆորմալդեհիդի փոխազդեցությամբ ձևավորվող ադուկտներ (Peterson, 2017):

Նկարագրվել են նաև ԴՆԹ-ի ու սպիտակուցների միջև կարաններ՝ համապատասխան նուկլեոտիդի ու սպիտակուցի ամինաթթուների միջև (որպես կանոն՝ լիզին, հիստիդին, ցիստեին ու տրիպտոֆան) մեթիլենային կամրջակի միջոցով (Նկ. 34):

Բջջում ֆորմալդեհիդ կարող է առաջանալ նաև հիստոնների դեմեթիլացման ու լիպիդների պերօքսիդացման արդյունքում: Հետաքրքիր է, որ ֆորմալդեհիդի միջոցով ԴՆԹ-սպիտակուց կարանների առաջացման համար անհրաժեշտ է կոմպլեմենտար նուկլեոտիդների միջև կապերի խաթարում՝ ֆորմալդեհիդի ու էքզոցիկլային ամինների միջև փոխազդեցության առաջացման համար:



Նկար 34. Ֆորմալդեհիդով մակաձված ԴՆԹ-ի ու սպիտակուցի միջև կարանի առաջացում (Kühbacher and Duxin, 2020):

Ֆորմալդեհիդի մուտագենությունը ցույց է տրվել մարդու ու կենդանիների բջիջներում: Այն մակաձում է $A \rightarrow T$, $A \rightarrow C$ ու $G \rightarrow T$ տրանսվերսիաներ չինական համատերի ձվարանի քաղցկեղի բջիջներում (CHO):

Ծխախոտի ծխի մեկ այլ նիտրոզամինի՝ NNAL հիդրօքսիլացման ու ԴՆԹ-ի հետ փոխազդեցության արդյունքում առաջանում են պիրիդիլիկհիդրօքսիբութիլ ադուկտներ, որոնց մուտագեն ու կանցերոգեն հատկությունները դեռևս չեն ուսումնասիրվել:

Այսպիսով՝ ծխախոտի ծխում առկա նիտրոզամիններն օժտված են մուտագենության լայն սպեկտրով, ինչը զգալիորեն բարդացնում է կանցերոգեն էֆեկտների գնահատումն առանձին մուտագիաների վերլուծությամբ: Այդ պատճառով այլ մուտագենների գենաթունային էֆեկտների հետ համեմատելիս հաճախ վերլուծում են նաև մուտագիոն պրոֆիլները: Մինևույն ժամանակ բջջային կուլտուրաներում և կենդանիների ու մարդու հյուսվածքներում կատարված հետազոտությունների հիման վրա բացահայտվել են մուտագեն/կանցերոգեն ադուկտներն ու օնկոգենները խթանող մուտագիաները: Այս տվյալների հիման վրա հնա-

րավոր է եղել դասակարգել ծխախոտի օգտագործումն ու դրա ծխի մեջ առկա առանձին մուտագենները մարդու կանցերոզեն գործոնների խմբերում:

Ներկայումս մշակվել են այսպես կոչված «*ε-ծխախոտներ*», որոնք նվազեցնում են NNN ու NNK ծխախոտային նիտրոզամինների ազդեցության ռիսկը: Ցույց է տրվել, որ *ε-ծխախոտ* օգտագործողների թքում NNN-ի միջին մակարդակը կազմում է 76 պգ/մլ, մինչդեռ բուսական ծխախոտ օգտագործողների մոտ՝ 739 պգ/մլ: Սակայն *ε-ծխախոտների* երկարաժամկետ ազդեցության ռիսկի գնահատումը դեռևս արդի խնդիր է:

Ծխախոտի ծխի բարձր գենաթունայնությամբ որոշ միացություններն ու դրանց թունաբանական էֆեկտները ներկայացված են **Աղյուսակ 1-ում**:

Աղյուսակ 1. Ծխախոտի ծխում առկա որոշ գենաթույներ ու դրանց բացասական ազդեցությունները (Konstantinou et al., 2018)

Քիմիական միացություններ	Թունաբանական էֆեկտներ
Կարբոնիլային միացություններ՝ ֆորմալդեհիդ, ացետալդեհիդ, ակրոլեին	Բջջաթունային, կանցերոզեն, բորբոքային, թոքային վնասվածքներ, էմֆիզեմա, դերմատիտ
Օրգանական միացություններ՝ բենզեն, տոլուեն, անիլին	Կանցերոզեն, հեմատոտոքսիկ, նեյրոտոքսիկ, բորբոքային
Նիտրոզամիններ՝ NNN, NNK	Կանցերոզեն
ՊԱԱ՝ բենզոպիրեն, բենզոանտրացեն, դիբենզոանտրացեն	Կանցերոզեն
Ակտիվ ռադիկալներ՝ մեթիլ ռադիկալ, հիդրօքսիլ ռադիկալ, ազոտի մոնօքսիդ	Կանցերոզեն, նեյրոտոքսիկ
Թունավոր գազեր՝ ածխածնի մոնօքսիդ, ջրածնի սուլֆիդ, ամոնիակ, ծծմբի դիօքսիդ, ջրածնի ցիանիդ	Սիրտանոթային տոքսիկություն, կանցերոզեն, բորբոքային
Ծանր մետաղներ՝ Cd, Pb, Hg	Կանցերոզեն, նեֆրոտոքսիկ, նեյրոտոքսիկ, հեմատոտոքսիկ
Այլ թույներ՝ ածխածնի դիսուլֆիդ	Նեյրոտոքսիկ

Բարձր կայունությամբ նիտրոզամինները ձևավորվում են երկրորդային ամիններից, որոնք կարող են առաջանալ պեստիցիդներից, հերբիցիդներից, ինչպես նաև ազոտային պարարտանյութերից: Ուստի կարող են հանդիպել տարբեր սննդամթերքներում: Բացահայտվել է, որ Միացյալ թագավորությունում ու Ֆրանսիայում սննդային նիտրատների 50-70 %-ը օրգանիզմ են ներթափանցում բուսական մթերքների ու մրգերի միջոցով: Շվեդիայում 4-12 տարեկան երեխաների մոտ կատարված հետազոտություններով բացահայտվել է, որ օրական վերամշակված մսով կլանվող նիտրիտների քանակը տատանվում է 0.007-0.13 մգ/կգ/մարմնի զանգվածի միջև, իսկ բուսական սննդով կլանվող նիտրատների քանակը կազմում է 0.45-0.84 մգ/կգ/մարմնի զանգված: Նման պատկեր դիտվել է նաև Բելգիայում, Էստոնիայում և այլ երկրներում: Ուստի հավասարակշռված սննդակարգը թույլ է տալիս նվազեցնել սննդամթերքների որոշ գործոնների բացասական ազդեցությունները, մինչդեռ միատեսակ սննդամթերքների օգտագործումը (օրինակ՝ միայն բուսական սնունդը) կարող է բարձրացնել սննդային (պրո)մուտագենների ճնշումն օրգանիզմի վրա:

Սննդամթերքներում նիտրոզամինները ձևավորվում են սննդի նիտրիտների հիդրոզենացման ճանապարհով, որի արդյունքում առաջանում է $H_2NO_2^+$ իոնը: Վերջինս փոխազդում է նիտրիտի մեկ այլ մոլեկուլի հետ և ձևավորվում N_2O_3 , որն էլ տրամադրում է նիտրոզո խումբ ամինների հետ փոխազդեցության ու նիտրոզամինի ձևավորման համար:

Ցույց է տրվել N-նիտրոզոդիմեթիլամինով զարեջրի աղտոտումը զարեջրի ածիկի չորացման ընթացքում: Բացահայտվել է, որ ջերմային մշակման փուլի ժամանակ ազոտի օքսիդը փոխազդում է գրամին և հորդենին բուսական ամինների հետ՝ առաջացնելով N-նիտրոզոդիմեթիլամին: Ներկայումս նիտրոզացման մակարդակը նվազեցնելու նպատակով իրականացնում են անուղ-

ղակի ջերմային մշակում: Ցույց է տրվել նաև, որ նիտրոզամինները կարող են առաջանալ բակտերիալ խմորման ժամանակ: Բակտերիաներում նիտրատռեդուկտազի մասնակցությամբ նիտրատները վերածվում են նիտրիտների, որոնք թթվային պայմաններում փոխազդում են սպիտակուցների դեգրադացման արդյունքում առաջացած երկրորդային ամինների հետ: Նիտրոզամինների պրեկուրսոր մոլեկուլները ձևավորվում են նաև բակտերիալ ամինաթթվային դեկարբոքսիլազների (կարբոքսիլ խմբի փոխարինում ջրածնի ատոմով) ազդեցությամբ: Իսկ դեկարբոքսիլացումից հետո պոլիամինների սինթեզի ժամանակ առաջանում են N-նիտրոզոպիպերիդին ու N-նիտրոզոպիրոլիդին:

Հայտնի է, որ **մարդու օրգանիզմում** նիտրոզամինների ազդեցության 45-75 %-ը տեղի է ունենում էնդոգեն կամ նեքրոզանիզմային սինթեզի արդյունքում ու ստամոքսաղիքային համակարգում նիտրիտների և ամինաթթուների տրոհման արգասիքների փոխազդեցությամբ: Էնդոգեն նիտրատներն ու նիտրիտներն առաջանում են L-արգինին/NO-սինթազային ուղուց: Էնդոթելային բջիջներում NO-սինթազի մասնակցությամբ L-արգինինը մետաբոլիզացվում է մինչև ցիտրուլին, և անջատվում է NO, որն էլ օքսիհեմոգլոբինի կամ օքսիմիոգլոբինի մասնակցությամբ փոխարկվում է նիտրիտների կամ նիտրատների: Սննդային (5-7%) ու թքի (20 %) նիտրատները մասնակիորեն տրոհվում են նիտրիտների՝ բերանի խոռոչի բակտերիաների նիտրատ ռեդուկտազներով: Ստամոքսի թթվային պայմաններում նիտրիտներն ու նիտրատներն օքսիդացվում են (օրինակ՝ քսանտին օքսիդոռեդուկտազի, ալդեհիդ օքսիդազի կոդմից) մինչև NO և ազոտի այլ օքսիդների (N_2O_3 , NO_2): Այնուհետև այս օքսիդները բարակ աղիքով կլանվում են և անցնում արյան մեջ, որտեղից անցնելով հյուսվածքներ կարող են սպոնտան օքսիդացվել և առաջացնել նիտրիտներ ու նիտրատներ: Նիտրատների մեծ մասն (75%) օրգանիզմից դուրս են բերվում մեզով, մինչդեռ մնացած մասը

հետկլանմամբ անցնում են թքագեղձեր, որտեղ նիտրատների կոնցենտրացիան 10-20 անգամ գերազանցում է արյան պլազման: Ստամոքսաղիքային ուղուց ու սննդի միջոցով կլանված նիտրիտները փոխազդում են ամինների ու ամիդների հետ, ինչի արդյունքում ձևավորվում են նիտրոզամիններ:

Համաձայն JECFA (անգլերեն՝ Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) նիտրատների թույլատրելի օրական կլանման քանակը կազմում է 0.07 մգ/կգ/մարմնի զանգված, իսկ նիտրատներինը՝ 3.7 մգ/կգ/մարմնի զանգված: Նիտրոզամինների և էքզոգեն ու էնդոգեն այլ մուտագենների սահմանային արժեքները ստացվել են տասնամյակներ շարունակ կատարված մոլեկուլային ու թունաբանական հետազոտությունների հիման վրա, որոնք թույլ են տալիս նվազեցնել միջավայրի մուտագենների բացասական ազդեցությունները մարդու օրգանիզմի վրա:

Այսպիսով՝ մարդու շրջակա միջավայրում քիմիական կանցերոգեններ հայտնաբերվել են գյուղատնտեսության մեջ կիրառվող քիմիական միացությունների շարքում (պեստիցիդներ, հերբիցիդներ, ֆունգիցիդներ), արդյունաբերական ու վերամշակման գործարաններում (արոմատիկ ամիններ, վինիլ քլորիդ, բենզեն, քրոմի միացություններ), մթնոլորտում (հանքային վառելիքների թերայրումից գոյացող պոլիցիկլիկ արոմատիկ ածխաջրածիններ, պինդ նանոմասնիկներ), խմելու ջրում (ջրի քլորացման ժամանակ առաջացող հալոգենային օրգանական միացություններ, իսկ քլորամինացման ժամանակ՝ նիտրոզամիններ), դեղանյութերի շարքում (ներառյալ որոշ հակաքաղցկեղային դեղեր, էստրոգեններ, անալգետիկներ), մշակված մսում (հետերոցիկլիկ արոմատիկ ամիններ) ու միկոտոքսիններով աղտոտված սննդամթերքներում (օրինակ՝ աֆլատոքսիններ):

***Հետաքրքիր է:** ՊԱԱ հայտնաբերվել են նաև տիեզերքի տարբեր հատվածներում: Ընդ որում՝ փոքր մոլեկուլային զանգվածով, չեզոք լիցքով ու անկանոն կառուցվածքով ՊԱԱ մոլեկուլներն

առավել հաճախ հանդիպում են սառը գազային ամպերում, որոնք հեռու են աստղից: Մինչդեռ աստղին մոտ գտնվող ՊԱԱ մոլեկուլներն ավելի մեծ են, սիմետրիկ ու լիցքավորված: ԱՄՆ NASA (անգլերեն՝ National Aeronautics and Space Administration) տիեզերական հետազոտությունների գործակալությունը մշակում է սպեկտրային վերլուծության նոր մեթոդներ միջաստղային ու մոլորակային մակարդակներում ՊԱԱ հայտնաբերման համար: Որոշ հեղինակներ ենթադրում են, որ կյանքի առաջացման վաղ փուլերում ՊԱԱ մոլեկուլները կարող էին ունենալ զգալի նշանակություն, քանի որ տիեզերքում ածխածնի ավելի քան 20 %-ը գտնվում է ՊԱԱ կազմում: Ավելին՝ վերջին տարիներին ակտիվ աստղագոյացմամբ գալակտիկաներում բացահայտվել են ազոտի ատոմներ պարունակող ՊԱԱ մոլեկուլներ, որոնք խոստումնալից մարկերներ են այլ մոլորակներում կյանքի որոնման համար:

Գրականության ցանկ

1. Alberts, B., Heald, R., Johnson, A., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2022). *Molecular Biology of the Cell* (7th ed.). W.W. Norton & Company.
2. Ball NS, Hollnagel HM. Use of genetic toxicity data in GHS mutagenicity classification and labeling of substances. *Environ Mol Mutagen*. 2017;58(5):354-360. doi: 10.1002/em.22081.
3. Barnes JL, Zubair M, John K, Poirier MC, Martin FL. Carcinogens and DNA damage. *Biochem Soc Trans*. 2018;46(5):1213-1224.
4. Benkerroum N. Chronic and Acute Toxicities of Aflatoxins: Mechanisms of Action. *Int J Environ Res Public Health*. 2020; 17(2):423.
5. Bustamante G, Ma B, Yakovlev G, et al. Presence of the Carcinogen N'-Nitrosornicotine in Saliva of E-cigarette Users. *Chem Res Toxicol*. 2018; 31(8):731-738.
6. Du H, Leng J, Wang P, Li L, Wang Y. Impact of tobacco-specific nitrosamine-derived DNA adducts on the efficiency and fidelity of DNA replication in human cells. *J Biol Chem*. 2018; 293(28):11100-11108.

7. Hecht SS. Biochemistry, biology, and carcinogenicity of tobacco-specific N-nitrosamines. *Chem Res Toxicol.* 1998; 11(6):559-603. doi: 10.1021/tx980005y.
8. Kaina B, Margison GP, Christmann M. Targeting O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase with specific inhibitors as a strategy in cancer therapy. *Cell Mol Life Sci.* 2010; 67(21):3663-3681.
9. Karwowska M, Kononiuk A. Nitrates/Nitrites in Food-Risk for Nitrosative Stress and Benefits. *Antioxidants (Basel).* 2020;9(3):241.
10. Konstantinou E, Fotopoulou F, Drosos A, et al. Tobacco-specific nitrosamines: A literature review. *Food Chem Toxicol.* 2018; 118:198-203.
11. Kühbacher U, Duxin JP. How to fix DNA-protein crosslinks. *DNA Repair (Amst).* 2020; 94:102924.
12. Lao Y, Yu N, Kassie F, Villalta PW, Hecht SS. Analysis of pyridyloxobutyl DNA adducts in F344 rats chronically treated with (R)- and (S)-N'-nitrosornicotine. *Chem Res Toxicol.* 2007; 20(2):246-256.
13. Liu X, Zhang J, Wang L, et al. *In vitro* metabolism of N'-Nitrosornicotine catalyzed by cytochrome P450 2A13 and its inhibition by nicotine, N'-Nitrosoanatabine and N'-Nitrosoanabasine. *Chem Biol Interact.* 2016; 260:263-269.
14. Monson MS, Coulombe RA, Reed KM. Aflatoxicosis: lessons from toxicity and responses to aflatoxin B1 in poultry. *Agriculture* 5, 2015;742–777. doi: 10.3390/agriculture5030742.
15. Park JE, Seo JE, Lee JY, Kwon H. Distribution of Seven N-Nitrosamines in Food [published correction appears in *Toxicol Res.* 2018 Oct;34(4):371]. *Toxicol Res.* 2015;31(3):279-288.
16. Peterson LA. Context Matters: Contribution of Specific DNA Adducts to the Genotoxic Properties of the Tobacco-Specific Nitrosamine NNK. *Chem Res Toxicol.* 2017; 30(1):420-433.
17. Pleadin J, Frece J, Markov K. Mycotoxins in food and feed. *Adv Food Nutr Res.* 2019; 89:297-345.
18. Reed L, Jarvis IWH, Phillips DH, Arlt VM. Enhanced DNA adduct formation by benzo[a]pyrene in human liver cells lacking cytochrome P450 oxidoreductase. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2020;852:503162. doi:10.1016/j.mrgentox.2020.50316.

19. Ren N, Atyah M, Chen WY, Zhou CH. The various aspects of genetic and epigenetic toxicology: testing methods and clinical applications. *J Transl Med.* 2017; 15(1):110. doi: 10.1186/s12967-017-1218-4.
20. Riccio AA, Schellenberg MJ, Williams RS. Molecular mechanisms of topoisomerase 2 DNA-protein crosslink resolution. *Cell Mol Life Sci.* 2020;77(1):81-91. doi:10.1007/s00018-019-03367-z.
21. Rothhammer V, Quintana FJ. The aryl hydrocarbon receptor: an environmental sensor integrating immune responses in health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2019;19(3):184-197. doi:10.1038/s41577-019-0125-8.
22. Saada M, Sanchez-Jimenez E, Roguin A. Risk of ionizing radiation in pregnancy: just a myth or a real concern?. *Europace.* 2023;25(2):270-276. doi:10.1093/europace/euac158.
23. Shiizaki K, Kawanishi M, Yagi T. Modulation of benzo[a]pyrene-DNA adduct formation by CYP1 inducer and inhibitor. *Genes Environ.* 2017 Apr 10;39:14.
24. Szikriszt B, Póti Á, Pipek O, et al. A comprehensive survey of the mutagenic impact of common cancer cytotoxics. *Genome Biol.* 2016;17:99.
25. Wang H, Liao P, Zeng SX, Lu H. It takes a team: a gain-of-function story of p53-R249S. *J Mol Cell Biol.* 2019; 11(4):277-283.
26. Wang Z, Snyder M, Kenison JE, et al. How the AHR Became Important in Cancer: The Role of Chronically Active AHR in Cancer Aggression. *Int J Mol Sci.* 2020;22(1):387.
27. Yang F, Teves SS, Kemp CJ, Henikoff S. Doxorubicin, DNA torsion, and chromatin dynamics. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1845(1):84-89. doi:10.1016/j.bbcan.2013.12.002.

4.2. Ֆիզիկական մուտագեններ

Ֆիզիկական մուտագենները բաժանվում են երկու հիմնական խմբի՝ **իոնացնող** ու **ոչ իոնացնող** ճառագայթման: Ճառագայթային մուտագենները հիմնադրվել է ամերիկացի գենետիկ Հերման Յոզեֆ Մալլերի կողմից, որն առաջին անգամ բացահայտեց ռենտգենյան ճառագայթների ազդեցությամբ մուտացիաների հաճախականության բարձրացում *Drosophila* պտղաճանձերի մոտ: Ճառագայթումը մարդու շրջակա միջավայրի առաջին գործոնն էր, որի մուտագենությունը ցույց էր տրվել փորձնական ճանապարհով, ինչի համար 1946 թ. Մալլերն արժանացավ Նոբելյան մրցանակի, մինչդեռ քիմիական մուտագենների համար Նոբելյան մրցանակ չի շնորհվել:

Իոնացնող ճառագայթումը էլեկտրամագնիսական ալիքների ն/կամ մասնիկների հոսքն է, որն ունակ է դրա հետ փոխազդող ատոմներից պոկելու էլեկտրոններ ու խաթարելու մոլեկուլային կապերը՝ առաջացնելով իոնացում: Տարբերում են մասնիկային (օրինակ՝ α , β , նեյտրոն) ու ալիքային (օրինակ՝ γ , ռենտգենյան ճառագայթներ, բարձր էլեկտրամագնիսական սպեկտրի ուլտրամանուշակագույն ճառագայթներ) իոնացնող ճառագայթման տեսակները:

Ոչ իոնացնող ճառագայթներն ունակ չեն ատոմներից պոկելու էլեկտրոններ, սակայն կարող են առաջացնել ատոմի զրգռում, որի արդյունքում էլեկտրոններն անցնում են ավելի բարձր էներգետիկ մակարդակի: Այսպիսի ալիքները բնորոշվում են $<10^{-33}$ էՎ էներգիայով և ունակ չեն առաջացնելու իոնացում: Այս խմբին են պատկանում երկարալիք ուլտրամանուշակագույն ճառագայթները, տեսանելի լույսը, ինֆրակարմիր, միկրոալիքային ու ռադիոալիքային ճառագայթումները:

4.2.1. Իոնացնող ճառագայթման տեսակները

α ճառագայթները (IARC 1) կազմված են դրական լիցքով մասնիկներից՝ բաղկացած երկու պրոտոնից ու երկու նեյտրոնից (հելիումի ատոմի միջուկ՝ He^{2+}), որոնք դուրս են մղվում ատոմներից (օրինակ՝ ուրան, պոլոնիում, ռադիում) միջուկների ռադիոակտիվ տրոհման ժամանակ: Դրա արդյունքում առաջանում են նոր ատոմներ, որոնց միջուկն ունենում է 2-ով պակաս պրոտոն ու 4-ով պակաս ատոմային զանգված: Օրինակ՝ ^{210}Po ռադիոակտիվ իզոտոպն ունի 84 պրոտոն ու 126 նեյտրոն, որի կիսատրոհման ժամանակը կազմում է մոտ 138 օր (138,376 օր): ^{210}Po -ի α տրոհման արդյունքում առաջանում է կայուն ^{206}Pb ատոմը՝ 82 պրոտոնով ու 124 նեյտրոնով, որը ^{238}U կիսատրոհման (4.5 միլիարդ տարի) վերջնարդյունքն է (*): Հարկ է նշել, որ α տրոհումն ուղեկցվում է նաև β մասնիկների առաջացմամբ: Օրինակ՝ $^{238}U \rightarrow ^{206}Pb$ ռադիոակտիվ փոխարկումների շղթայում առաջանում են 8 α ու 6 β մասնիկներ:

5 ՄէՎ կինետիկ էներգիա ունեցող α մասնիկները, որոնք շարժվում են մոտ 15.000 կմ/վ արագությամբ, ակտիվորեն փոխազդում են շրջակա միջավայրի այլ ատոմների հետ՝ օդում անցնելով մինչև 10 սմ հեռավորություն ու կորցնելով իրենց էներգիան: Որպես կանոն α մասնիկները չեն կարող թափանցել էպիդերմիսի արտաքին՝ մահացած բջիջների շերտով (առավելագույն թափանցելիությունը՝ 40 մկմ) կամ A4 ֆորմատի թղթով (առավելագույն թափանցելիությունը՝ 0.7 մմ): Սակայն կենդանի օրգանիզմ կարող են ներթափանցել սննդի, հեղուկների ու օդի միջոցով, ինչն ունենում է ջախջախիչ ազդեցություն հյուսվածքների համար α մասնիկների իոնացման բարձր գծային խտության (կախված է մասնիկների էներգիայից) պատճառով: Օրինակ՝ 5 ՄէՎ էներգիայով α մասնիկները, 1 սմ օդում անցնելով, կարող են առաջացնել գրեթե >10.000 զույգ իոն: Ուստի օժտված են բարձր

հարաբերական կենսաբանական արդյունավետությամբ (ՀԿԱ), որը դրսևորվում է կենսաբանական վերջնարդյունքների (քաղցկեղ, բջջի մահ, քրոմոսոմային արեռացիաներ) ավելի բարձր հաճախականությամբ՝ համեմատած ճառագայթման այլ տեսակների հետ: Մարդկանց պոպուլյացիայում բնական ճառագայթման հիմնական մասը բաժին է ընկնում երկրի ընդերքից դուրս եկող ռադիոակտիվ ռադոն գազին (²²²Rn, IARC 1): Ներշնչման ժամանակ ռադոնի մի մասը կարող է կապվել թոքային հյուսվածքին ու α տրոհման արդյունքում շարունակաբար վնասել բջիջները: Ընդ որում՝ ռադոնով մակածված թոքերի քաղցկեղից մահացողների > 85 %-ը ծխողներ են: α ճառագայթումը կիրառվում է տարբեր ոլորտներում, այդ թվում՝ քաղցկեղի բուժման և տիեզերանավերում ջերմային ու էլեկտրական էներգիայի ապահովման համար:

β ճառագայթումն (IARC 1) էլեկտրոնների կամ պոզիտրոնների հոսքն է, որի արագությունը մոտ է լույսին և ունի ավելի մեծ թափանցելիություն՝ համեմատած α ճառագայթման հետ: Օդում β մասնիկները կարող են անցնել առավելագույնը 20 մ հեռավորություն և թափանցել մարդու մաշկով մինչև 2,5 սմ խորությամբ: Այն կարելի է արգելակել մի քանի միլիմետր հաստությամբ այլումինե թիթեղով: Մակայն β մասնիկների ու տարբեր խտությամբ արգելապատնեշների փոխազդեցության ժամանակ կարող է առաջանալ նաև երկրորդային γ ճառագայթում: Քանի որ β ճառագայթը կազմված է լիցքավորված մասնիկներից, նյութի միջով անցնելիս էլեկտրամագնիսական փոխազդեցությունների արդյունքում β մասնիկի արագությունը դանդաղում է և առաջացնում «bremsstrahlung» (գերմաներեն՝ *bremsen* – կոտրել, *Strahlung* - ճառագայթում) կամ ֆոտոնի անջատում (մասնիկի դանդաղմամբ մակածված ճառագայթում), որը նման է ռենտգենյան կամ γ ճառագայթմանը: Մինչդեռ ջրում լույսի արագությունը գերազանցող արագությամբ շարժվող β մասնիկներն (> 175 կէՎ) առաջացնում են Չերենկովի էֆեկտ (էլեկտրամագնիսական ճառագայթում),

որը դրսևորվում է կապույտ գույնի լուսարձակմամբ: Դրանով է բացատրվում այն փաստը, որ գլխուղեղի քաղցկեղի բուժման ժամանակ ճառագայթվող որոշ հիվանդներ տեսնում են վառ կամ կապույտ լույսի առկայծումներ:

Հարկավոր է հիշել, որ β ճառագայթումից պաշտպանվելու համար գերադասելի է օգտագործել ցածր ատոմային զանգված ունեցող նյութերից կազմված արգելապատնեշներ (օրինակ՝ պլաստմասից կամ կապարից), որոնց հետ β մասնիկների շփման արդյունքում առաջանում են ցածր էներգիայով γ ճառագայթներ (ի տարբերություն Բարձր ատոմային զանգվածով նյութերի):

β ճառագայթումն առաջանում է նեյտրոնների տրոհման (β^- ճառագայթում) կամ պրոտոններից նեյտրոնների առաջացման (β^+ ճառագայթում) արդյունքում: β տրոհման արդյունքում սկզբնական ատոմը փոխարկվում է իզոբարի (օրինակ՝ ^{40}S , ^{40}Cl , ^{40}Ar , ^{40}K և ^{40}Ca), որն ունի նուկլեոնների միևնույն քանակը, սակայն տարբերվում են միջուկում պրոտոնների ու նեյտրոնների հարաբերակցությամբ: Օրինակ՝ $^{14}\text{C} \rightarrow ^{14}\text{N} + e^- + \bar{\nu}_e$ տրոհման (β^-) ժամանակ (կիսատրոհման ժամանակը՝ 5.730 տարի) նեյտրոնը փոխարկվում է պրոտոնի, և անջատվում է մեկ էլեկտրոն (e^-) ու մեկ էլեկտրոնային հականեյտրինո ($\bar{\nu}_e$): Մինչդեռ β^+ տրոհման ժամանակ պրոտոնը փոխարկվում է նեյտրոնի, և անջատվում է մեկ պոզիտրոն (e^+) ու մեկ նեյտրինո (ν_e):

β մասնիկները, անցնելով բջիջներով, փոխազդում են մուլեկուլների ատոմների հետ և առաջացնում ավելի ցածր մակարդակի իոնացում՝ համեմատած α մասնիկների հետ, սակայն ավելի բարձր՝ համեմատած γ ճառագայթման հետ: Օրինակ՝ 5 ՄեՎ կինետիկ էներգիայով β մասնիկներն օդում անցնելով 1 սմ կարող են առաջացնել առավելագույնը 200 իոնային գույգ: β մասնիկների բնական աղբյուրներից են ^{40}K ու ^{90}Sr ատոմները:

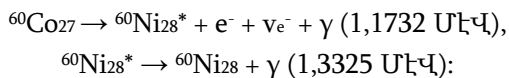
Նեյտրոնային ճառագայթումն (IARC 1) առաջանում է միջուկային տրոհման կամ միաձուլման ռեակցիաներում առաջացող

բարձր կինետիկ էներգիայով ազատ նեյտրոնների ձերբագրումամբ: Այսպիսի ճառագայթումը կոչվում է երկրորդային իոնացնող ճառագայթում, քանի որ նեյտրոնները չունեն լիցք և չեն կարող ատոմից պոկել էլեկտրոններ: Սակայն նյութի հետ նեյտրոնային ճառագայթների փոխազդեցության արդյունքում առաջանում են γ ճառագայթներ, որոնք ունակ են իոնիզացնելու ատոմները: Բացահայտվել է, որ բարձր էներգիայով (և արագությամբ) նեյտրոնները կարող են մոլեկուլներից դուրս մղել ատոմները՝ առաջացնելով ակտիվ ռադիկալներ: Այսպիսի նեյտրոնային ճառագայթները կարող են իոնիզացնել նաև ատոմների միջուկներից բարձր էներգիայով պրոտոնների դուրսամղման ճանապարհով, որի ժամանակ նեյտրոնի էներգիայի մեծ մասը փոխանցվում է պրոտոնին:

Լիցքի բացակայության պատճառով նեյտրոններն ունեն ավելի բարձր թափանցելիություն՝ համեմատած α ու β մասնիկների հետ: Նեյտրոնային ճառագայթման արդյունքում նեյտրոնները կլանվում են ատոմների միջուկների կողմից, և առաջանում են ռադիոակտիվ տարրեր՝ ռադիոնուկլիդներ, ինչը կոչվում է նեյտրոնային ակտիվացում և դարձնում է ճառագայթման այս տեսակն առավել վտանգավորը: Այս գործընթացն ընկած է միջուկային զենքի պայթյունի արդյունքում առաջացող ռադիակտիվ տարրերի հիմնական մասի առաջացման հիմքում: Սակայն ոչ բոլոր նյութերն են ենթարկվում նեյտրոնային ակտիվացման: Օրինակ՝ ջրի մոլեկուլում ջրածնի ու թթվածնի ատոմները կլանում են նեյտրոններ՝ դառնալով ավելի ծանր, սակայն չեն փոխարկվում անկայուն ատոմների: Ուստի նեյտրոնային ճառագայթները կարելի է արգելակել ջրածնի բարձր քանակ ունեցող պատնեշների (օրինակ՝ ջրի կամ բետոնի շերտով) շերտերով:

Կենսաբանական հյուսվածքներում նեյտրոնային ճառագայթումը դրսևորում է բարձր ՀԿԱ և գրեթե տասը անգամ ավելի շատ է վնասում, քան միևնույն էներգիայով β ու γ ճառագայթները, ինչի համար կիրառվում են քաղցկեղի ռադիոթերապիայում:

γ ճառագայթումը (IARC 1) բարձր էներգիայով կարճալիք (<0.01 նմ) էլեկտրամագնիսական ճառագայթման տեսակ է (ֆոտոն), որը հեշտությամբ անցնում է մարդու հյուսվածքներով և ունի իոնացման ցածր խտություն՝ համեմատած α ու β ճառագայթումների հետ: γ ճառագայթման հիմնական աղբյուրներից են տիեզերական օբյեկտների (օրինակ՝ քվազարներ, պուլսարներ, սև խոռոչներ) կողմից արձակվող ճառագայթներն ու ատոմային ռեակտորներում միջուկային ռեակցիաները: γ ճառագայթներ առաջանում են նաև ռադիոիզոտոպների միջուկների տրոհման ժամանակ (օրինակ՝ ^{40}K), ինչպես նաև տիեզերական ճառագայթման ու մթնոլորտի փոխազդեցության արդյունքում՝ որպես երկրորդային ճառագայթում: γ ճառագայթներ առաջանում են էլեկտրոնի ու պոզիտրոնի բախման կամ աննիհիլացիայի ժամանակ, որի դեպքում անջատվում է 1,022 ՄէՎ էներգիա: γ ճառագայթումը դիտվում է α ու β տրոհման ժամանակ, երբ առաջացած դուստր միջուկն անցնում է էներգետիկ ավելի կայուն վիճակի՝ արձակելով γ ֆոտոն: γ տրոհման օրինակ է $^{60}\text{Co}_{27} \rightarrow ^{60}\text{Ni}_{28}$ միջուկային իզոմերային փոխարկումը, որի ժամանակ առաջացած Ni ատոմն անցնում է հանգստի վիճակի և արձակում γ ֆոտոններ (էներգիա).



γ ճառագայթներն առավել ակտիվ կլանվում են բարձր ատոմային զանգվածով նյութերի կողմից: Որպես կանոն օգտագործում են կապարի ու բետոնի մի քանի սանտիմետր հաստությամբ պատնեշներ, որոնց հետ միասին կիրառում են նաև հավելյալ այլ շերտեր, ինչպիսիք են BaSO_4 ու Fe_3O_4 (մագնետիտ):

γ ճառագայթումը կիրառվում է բժշկական գործիքների ստեղծման, սննդամթերքների երկարատև պահպանման, քաղցկեղի բուժման, ախտորոշման ու մի շարք այլ նպատակներով:

Ռենտգենյան ճառագայթները կամ «X-ray» (IARC 1) բարձր էներգիայով էլեկտրամագնիսական ճառագայթներ են, որոնք նման են γ ճառագայթմանը, սակայն տարբերվում են առաջացման մեխանիզմով:

Ռենտգենյան ճառագայթներն (0.01-10 նմ) առաջանում են վակուումային խողովակներում, երբ բարձր էլեկտրական լարման ազդեցությամբ արագացված էլեկտրոնները կատոդից պոկվում են և բխվում մետաղական անոդին (հաճախ՝ վոլֆրամի ու ռենիումի խառնուրդ, մոլիբդեն, պղինձ, կոբալտ և այլն)՝ դուրս մղելով մետաղի ատոմների էլեկտրոնները ներքին էլեկտրոնային օրբիտալներից կամ այդ ընթացքում առաջացող «bremsstrahlung» երևույթի միջոցով: Մինչդեռ γ ճառագայթներն առաջանում են միջուկային ռեակցիաների արդյունքում: Ռենտգենյան ճառագայթներ կարող են առաջանալ նաև ատոմները պրոտոններով կամ այլ դրական լիցքով մասնիկներով ռմբակոծելիս, որի ժամանակ էլեկտրոնները դուրս են մղվում ներքին էլեկտրոնային օրբիտալներից, որոնց տեղը զբաղեցնում են արտաքին էլեկտրոնային թաղանթի էլեկտրոնները: Այսպիսի անցման ժամանակ տեղի է ունենում քվանտի անջատում: X ճառագայթներ կարող են առաջանալ նաև կայծակնային պարպումների ժամանակ՝ կայծակով արագացված էլեկտրոնների «bremsstrahlung» երևույթի միջոցով: Այսպիսով՝ ռենտգենյան ճառագայթներն առաջանում են, երբ էլեկտրոնները ռմբակոծում են թիրախ ատոմը կամ ատոմում էլեկտրոնների վերադիրքավորումից, մինչդեռ γ ճառագայթներն առաջանում են ռադիոնուկլիդների միջուկի ռադիակտիվ տրոհման արդյունքում:

5–10 կԷՎ էներգիայով ռենտգենյան ճառագայթները կոչվում են կոշտ ճառագայթներ, մինչդեռ ավելի ցածր էներգիայով (100 էՎ - 5 կԷՎ) ճառագայթները կոչվում են փափուկ ճառագայթներ: Բարձր թափանցելիության շնորհիվ կոշտ ռենտգենյան ճառագայթները կիրառվում են բժշկական ռադիոգրաֆիայի (ռենտգեն

հետազոտություն) նպատակով և օդանավակայաններում (իրերի հետազոտման համար): Քանի որ այս ճառագայթների ալիքի երկարությունը համընկնում է ատոմների չափի հետ՝ այն կիրառվում է նաև տարբեր մոլեկուլների ռենտգենյան կրիստալոգրաֆիայում: Այս մեթոդի կիրառմամբ առաջին անգամ Ռեզավինդ Ֆրանկլինը ստացավ ԴՆԹ-ի երկպարույրի կառուցվածքային պատկերը, որի հիման վրա Ջեյմս Վոթսոնն ու Ֆրենսիս Կրիկը կառուցեցին ԴՆԹ-ի կոմպլեմենտար շղթաների մոդելը:

Ռենտգենյան ճառագայթների բարձր դոզաները կիրառվում են քաղցկեղի մի շարք տեսակների (գլխուղեղի, կրծքագեղձի, թոքերի, շագանակագեղձի) բուժման համար:

Հարկավոր է հիշել, որ ճառագայթման վնասակար էֆեկտները զգալիորեն կախված են կլանված դոզայից: Իոնացնող ճառագայթման **կլանված դոզայի** միավորը կոչվում է **գրեյ** (Գր), որը 1 կգ հյուսվածքի կողմից կլանված 1 ջոուլ (Ջ) ճառագայթման էներգիան է. 1 Գր = 1 Ջ/1 կգ: Այս միավորն օգտագործվում է ռադիոթերապիայում, սննդամթերքների ճառագայթման, բժշկական գործիքների ստերիլացման, ինչպես նաև ճառագայթման հավանական սուր կենսաբանական էֆեկտների կանխատեսման ժամանակ: Սակայն ճառագայթման կլանված դոզայի կենսաբանական էֆեկտները կարող են տարբերվել՝ կախված ճառագայթման տեսակից (օրինակ՝ 1 Գր α ճառագայթումն ունի կենսաբանական ավելի բարձր արդյունավետություն՝ համեմատած 1 Գր β ճառագայթման հետ) կամ հյուսվածքից (օրինակ՝ գոնադային հյուսվածքներն ավելի զգայուն են՝ համեմատած նյարդային հյուսվածքի հետ): Ուստի Գր-ի փոխարեն կիրառում են «**համարժեք չափաբաժին**» (HT) ու «**արդյունավետ չափաբաժին**» (E) չափանիշները (**զիվերտ** (Ջվ))՝ իոնացնող ճառագայթման ցածր դոզաների բացասական ազդեցություններից (օրինակ՝ քաղցկեղ) պաշտպանվելու համար: Արդյունավետ դոզայի հաշվարկման կարգը սահմանված է ICRP (International Commission on Radiological

Protection) կողմից: Հյուսվածքում H_T արժեքը որոշվում է ճառագայթման (R) բոլոր տիպերի և էներգիաների սահմանների գումարով.

$$H_T = \sum_R W_R D_{T,R},$$

$D_{T,R}$ – հյուսվածքի կողմից R ճառագայթման կլանված դոզա (Gy),

W_R – տվյալ տեսակի ճառագայթման գործակից (ICRP, Աղ. 2):

Արդյունավետ դոզան որոշվում է հետևյալ բանաձևով.

$$E = \sum_T W_T H_T,$$

W_T – տվյալ հյուսվածքի գործակից (ICRP, Աղ. 2):

Աղյուսակ 2. Ճառագայթային ու հյուսվածքային գործակիցները

Ճառագայթման տեսակը	W_R	Հյուսվածք կամ օրգան	W_T
Ֆոտոններ	1	Գոնադներ Ոսկրածուծ	0.20 0.12
Էլեկտրոններ ու մյուսներ	1	Աղիք Թոք	0.12 0.12
Նեյտրոններ` <10 կէՎ 10 - 100 կէՎ 100 կէՎ - 2 ՄէՎ 2 - 20 ՄէՎ >20 ՄէՎ	5 10 20 10 5	Ստամոքս Միզապարկ Կրծքագեղձ Լյարդ Կերակրափող	0.12 0.05 0.05 0.05 0.05
Պրոտոններ` > 2 ՄէՎ	5	Վահանաձև գեղձ Մաշկ	0.05 0.01
Ալֆա մասնիկներ, տրոհման ֆրագմենտներ, ծանր միջուկներ	20	Ոսկրի մակերես Այլ	0.01 0.05

Ձիվերտի դոզայի իմաստը բացատրելու համար հաճախ մեջբերում են «բանանի համարժեք դոզայի» օրինակը (ոչ գիտական միավոր): Այսպես՝ 0.1 մկՉվ դոզան համարժեք է մեկ բանան ուտելու արդյունքում օրգանիզմի ստացած բետա ճառագայթման դոզային: Բանանը պարունակում է ^{40}K ՝ բնության մեջ լայնորեն տարածված ռադիոակտիվ իզոտոպը, որն օրգանիզմից դուրս է

բերվում մի քանի ժամվա ընթացքում և չի դրսևորում կենսաբանական էֆեկտ (չունի կոմուլյատիվ ազդեցություն): ^{40}K իզոտոպի կիսատրոհման տևողությունը կազմում է 1,25 միլիարդ տարի, իսկ ռադիոակտիվությունը կազմում է 4.000-5.000 Բք (Բեքերել): Մարդու համար ճառագայթման սուր մահացու դոզան համարժեք է $>50.000.000$ «բանանային» դոզայի՝ մեկ տարվա ընթացքում: Համաձայն US NRC (անգլերեն՝ U.S. Nuclear Regulatory Commission) կազմակերպության՝ ճառագայթման մահացու դոզան մակաձում է ճառագայթվածների պոպուլյացիայի 50 % մահ 30 օրում (lethal dose, LD50/30), որը հավասար է 4-5 Ջվ (կամ 4-5 Գր) դոզային: Այս արժեքը տարբերվում է տարբեր տեսակների մոտ (Աղ. 3).

Աղյուսակ 3. Որոշ օրգանիզմների մոտ LD50/30 դոզաները

Օրգանիզմ	LD50/30, Գր
<i>Blattodea</i> (խավարասերներ)	50.0
<i>Oryctolagus cuniculus</i> (ձագար)	8.0
<i>Carassius auratus</i> (ձուկ)	7.5
<i>Rattus norvegicus</i> (առնետ)	6.0
<i>Mus musculus</i> (մուկ)	4.5
<i>Macaca mulatta</i> (կապիկ)	4.5
<i>Homo sapiens</i> (մարդ)	2.5-4.5

4.2.2. Ճառագայթային ֆոն

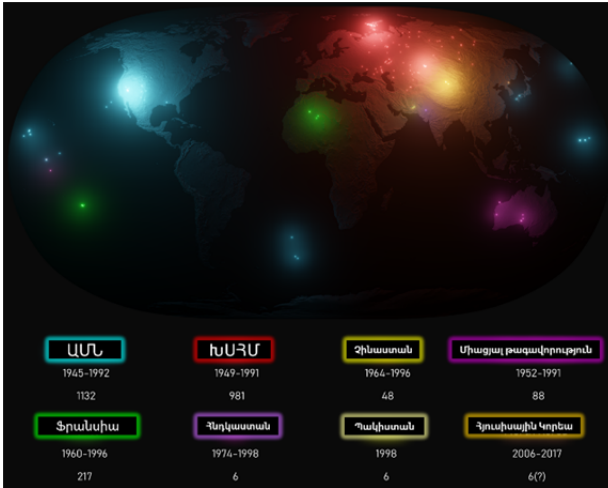
Հարկավոր է նշել, որ մեզ շրջապատող աշխարհը, այդ թվում՝ ամբողջ տիեզերքը, ռադիոակտիվ է՝ սկսած դրա առաջացման պահից: Ռադիոնուկլիդներն ու ճառագայթումը Երկիր մոլորակի համար անհրաժեշտ բաղադրիչներն են: Օրինակ՝ կիսատրոհման երկար ժամանակ (> 100 օր) ունեցող ռադիոնուկլիդները պահպանում են մոլորակի ներքին խորը շերտերի գերբարձր ջերմային հավասարակշռությունը: Նույնիսկ մարդու մարմինն է ռադիոակտիվ: Ցույց է տրվել, որ 70 կգ մարմնի զանգվածով մարդու

օրգանիզմում պարունակվում է մինչև 16.9 մկգ (5.000 Բք կամ 5.000 տրոհում/վայրկյանում) ^{40}K իզոտոպ: Յուրաքանչյուր 100 տրոհումից 89-ը առաջացնում են առավելագույնը 1.33 ՄեՎ էներգիայով β մասնիկներ (լիովին կլանվում են օրգանիզմի կողմից), իսկ 11-ը՝ 1.46 ՄեՎ էներգիայով γ ճառագայթներ (50 % կլանվում է օրգանիզմի կողմից): Այսպիսով՝ մարդու մարմինը յուրաքանչյուր վայրկյան բոլոր ուղղություններով ճառագայթում է մոտ 250 γ ճառագայթներ ողջ կյանքի ընթացքում: Մարդու օրգանիզմում բնական ճառագայթման մեկ այլ աղբյուր է ^{14}C իզոտոպը, որի մակարդակը կազմում է մոտ 3.000-3.700 Բք: Այս իզոտոպն առկա է մարդու 50 % բջիջների ԴՆԹ-ում, որտեղ առաջանում է 20-30 տրոհում/վայրկյան, և ածխածնի ատոմը փոխարինվում է ազոտի ատոմով ու արձակվում են β ու γ ճառագայթներ: Համակարգչային մոդելավորումը բացահայտել է, որ այսպիսի փոխարկումների արդյունքում ԴՆԹ-ում կարող են առաջանալ ջրածնային կապերի խաթարումներ ու իմիդագոլային օղակի սպոնտան բացում:

Ներկայումս հայտնի է, որ մարդիկ ենթարկվում են իոնացնող ճառագայթմանը տարբեր ուղիներով, ներառյալ տիեզերական ու արեգակնային ճառագայթմամբ, Երկրի կեղևի ռադիոնուկլիդներով, շինանյութերով, օդում, ջրում ու սննդում առկա ռադիոակտիվ տարրերով: Ուստի գոյություն ունի **ճառագայթման ֆոն** (անգլերեն՝ background radiation), որի հիմնական մասն ունի բնական ծագում, սակայն ճառագայթման աղբյուրը կարող է ունենալ նաև մարդածին բնույթ: Հետևաբար տարվա ընթացքում մարդիկ ենթարկվում են ճառագայթման ֆոնային ազդեցությանը, որը կարող է տարբերվել՝ կախված աշխարհագրական տեղակայումից, տարվա ժամանակից ու մարդկանց գործունեությունից: Միջինում յուրաքանչյուր անձի բնական ճառագայթման տարեկան դոզան կազմում է 2.4 մՋվ, որը չորս անգամ գերազանցում է մարդածին ճառագայթման դոզային (0.6 մՋվ), մինչդեռ ռադիոակ-

տիվ նյութերի հետ աշխատողներինը կազմում է 20 մՋվ: Ընդ որում՝ ճառագայթմամբ մակածված քաղցկեղի ռիսկը բարձրանում է 5 % թույլատրելի սահմանից յուրաքանչյուր 1 Ջվ ավելանալու դեպքում:

Երկրագնդի տարբեր հատվածներում ճառագայթման ֆոնը տատանվում է $2-8 \cdot 10^3$ մկՋվ/տարի: Սակայն որոշ տեղամասեր առանձնանում են բարձր ճառագայթման ֆոնով: Առավել բարձր բնական ճառագայթման ֆոն գրանցվել է Իրանում (Ռամասար, 260 մՋվ/տարի), Բրազիլիայում (Գուարապարի լողափ, 175 մՋվ/տարի), Հնդկաստանում (Կերալա, 1-45 մԳր/տարի, >15 մՋվ/տարի) ու Չինաստանում (Յանդզյան, 6.4 մՋվ/տարի): Համեմատության համար Մարսի մակերեսին տիեզերագնացները կստանան 240-300 մՋվ տարեկան ճառագայթման դոզա: Գոյություն ունեն նաև տարածքներ, որտեղ միջուկային փորձարկումների արդյունքում ռադիոակտիվ տարրերի մակարդակը խիստ բարձր է: *Ուստի ճառագայթման բարձր մակարդակը պայմանավորված է մտադրված աղտոտմամբ և չի ներառվում բնական ճառագայթային ֆոնի մեջ:* Ներկայումս հայտնի են ավելի քան 2050 փորձարկումների մասին, որոնք իրականացվել են ԱՄՆ-ի, ԽՍՀՄ-ի, Ֆրանսիայի, Միացյալ Թագավորության, Չինաստանի, Պակիստանի, Հնդկաստանի և Հյուսիսային Կորեայի կողմից (Նկ. 35): Առավել հայտնի տարածքներից են ԱՄՆ Նևադա նահանգն ու Սեմիպալատինսկը (ԽՍՀՄ Ղազախստան), որտեղ համապատասխանաբար իրականացվել են 928 ու 456 թեստավորումներ:



Նկար 35. 1945–2019թթ. միջուկային փորձարկումների քարտեզ (<https://vividmaps.com/a-visualization-of-every-nuclear/>)

4.2.3. Իոնացնող ճառագայթման կենսաբանական էֆեկտները

Մարդիկ իրենց կենսագործունեության ընթացքում ենթարկվում են իոնացնող ճառագայթման տարբեր տեսակների ու դոզաների ազդեցությանը, որոնց կենսաբանական էֆեկտները կարելի է բաժանել երկու հիմնական խմբի՝

- **դետերմինիստական** (հյուսվածքային ազդեցություն՝ կախված դոզայից, ունի սահմանային արժեք),
- **ստոխաստիկ** (պատահական են, չունի սահմանային արժեք):

Դետերմինիստական կամ վաղ էֆեկտները պարտադիր առաջանում են յուրաքանչյուր ճառագայթված անհատի մոտ ճառագայթման բարձր կամ սուր դոզաների կլանման արդյունքում: Այս դեպքում դիտվում է կենսաբանական էֆեկտի գծային կախվածություն ճառագայթման դոզայից, որը դիտվում է՝ որոշակի սահմանային դոզաներից սկսված (0.05-0.1 Գր): Ներկայումս «դետերմինիստական» տերմինի փոխարեն հաճախ կիրառում են

«վաղ կամ ուշ հյուսվածքային կամ օրգանային ռեակցիաներ» տերմինները:

Դետերմինիստական էֆեկտներից է **սուր ճառագայթային համախտանիշը** (ՍՃՀ) կամ թունավորումը, որն առաջանում է կարճ ժամանակահատվածում (րոպեներ) բարձր դոզաներով մարմնի մեծ մասի իոնացնող ճառագայթման արդյունքում: ՍՃՀ զարգացումը կախված է ճառագայթման կլանված դոզայից, ազդեցության ինտենսիվությունից ու հյուսվածքային բաշխումից: Կլինիկորեն ՍՃՀ-ն դրսևորվում է երեք ենթահամախտանիշով՝

1. հեմատոպոեզիկ ՍՃՀ (նաև՝ ոսկրածուծային), մակածվում է 2-6 Գր դոզաներով,
2. ստամոքսաղիքային ՍՃՀ, մակածվում է 6-10 Գր դոզաներով,
3. նյարդաանոթային ՍՃՀ, մակածվում է >10 Գր դոզաներով:

Հեմատոպոեզիկ ՍՃՀ-ի ժամանակ առաջին փուլում վնասվում են լիմֆոցիտները, որոնք արյան բջիջներից առավել զգայունն են իոնացնող ճառագայթման նկատմամբ: Իսկ ճառագայթումից հետո՝ մի քանի օրերի ընթացքում, դիտվում է գրանուլոցիտների ու թրոմբոցիտների քանակի նվազում: Հասուն էրիթրոցիտների քանակի նվազում դիտվում է ավելի ուշ փուլերում: Հեմատոպոեզիկ ՍՃՀ վաղ փուլերում հիվանդի մոտ զարգանում են սրտխառնոց/փսխում, գլխացավ ու գլխապտույտ, ջերմաստիճանի բարձրացում և մաշկի կարմրում: Այս ախտանիշները պայմանավորված չեն ոսկրածուծի ախտահարմամբ, սակայն դրանց զարգացման արագությունը կախված է կլանված դոզայից: Մահն առաջանում է մի քանի շաբաթների կամ ամիսների ընթացքում ինֆեկցիաների կամ հեմորագիկ (արյունատար անոթների վնասվելու արդյունք) երևույթների պատճառով:

Ստամոքսաղիքային ՍՃՀ-ի դեպքում ախտանիշները (սրտխառնոց/փսխում, անորեքսիա, որովայնային սուր ցավեր, փորլուծություն) դրսևորվում են ճառագայթումից մի քանի ժամ

անց: Որպես կանոն հիվանդները մահանում են շաբաթների ընթացքում օրգան-համակարգերի անբավարարության, լայնածաված սեփսիսի ու արյունահոսության պատճառով:

Նյարդաանոթային ՄՃՀ-ի դեպքում սրտխառնոցն ու փսիսումն ընկճվում են: Մինևույն ժամանակ զարգանում է, այսպես կոչված, «հոգնածության համախտանիշը»: Հիվանդների մոտ դիտվում են գլխացավ ու գլխապտույտ, ջերմաստիճանի բարձրացում, ռեֆլեքսների խաթարում, ատաքսիա (կորդինացիայի, հավասարակշռության ու խոսքի խաթարում) և գիտակցության կորուստ: Ճառագայթման >35 Գր դոզայի դեպքում առաջանում է խոշոր արյունատար անոթների վնասում և արյան շրջանառության թմբիր (կոլափս), ներզանգային ճնշման բարձրացում ու գլխուղեղային վասկուլիտ: Իսկ >50 Գր ճառագայթման դեպքում հիվանդները մահանում են 48 ժամվա ընթացքում, որի ժամանակ հեմատոպոեզիկ ու ստամոքսաղիքային ՄՃՀ-ն չեն հասցնում զարգանալ:

Ստոխաստիկ կամ ուշ էֆեկտները, ինչպիսիք են քաղցկեղն ու ժառանգական հիվանդություններն, առաջանում են պատահականության սկզբունքով, որի դեպքում կենսաբանական էֆեկտի առաջացման հավանականությունը կախված է դոզայից և նկարագրվում է գծային-քառակուսային մոդելով: Ենթադրվում է, որ ստոխաստիկ էֆեկտների առաջացման համար չկան ճառագայթման սահմանային դոզաներ:

Իոնացնող ճառագայթման կենսաբանական էֆեկտները կախված են մի շարք չափանիշներից, այդ թվում՝ **դոզայից**: Ներկայումս մշակվել են երեք **դոզա-էֆեկտ** մոդելներ՝

- գծային ոչ սահմանային մոդել,
- գծային-սահմանային մոդել,
- գծային-քառակուսային մոդել:

Վերջին տարիներին նկարագրվել է նաև հորմետիկ մոդելը, որի համաձայն՝ ճառագայթման փոքր դոզաները կարող են ունենալ ադապտիվ ու նույնիսկ դրական ազդեցություն:

Գծային ոչ սահմանային մոդելը (անգլերեն՝ linear no-threshold model, LNT) կիրառվում է ստոխաստիկ էֆեկտների գնահատման համար և ձևավորվել է Մալլերի աշխատանքների հիման վրա: Համաձայն այս մոդելի՝ գոյություն չունեն ճառագայթման անվտանգ դոզաներ, իսկ քաղցկեղի առաջացման հավանականությունը ուղիղ համեմատական է ճառագայթման դոզային և ունի գծային կախվածություն: Ուստի այս մոդելը ենթադրում է, որ իոնացնող ճառագայթման նույնիսկ ամենացածր դոզաները կարող են դառնալ քաղցկեղի առաջացման պատճառ: Ներկայումս LNT մոդելն արժանացել է բազմաթիվ գիտական քննադատությունների, քանի որ անտեսում է օրգանիզմի հարմարվողականության մեխանիզմները և չունի հիմնարար փորձնական ապացույցներ: Հարկ է նշել, որ ճառագայթման ցածր դոզաներում քաղցկեղի առաջացման ռիսկի գնահատումը չափազանց բարդ է, քանի որ քաղցկեղն առաջանում է մի շարք գործոնների համակցված ազդեցությամբ, և անհնարին է որոշել միայն ճառագայթմամբ մակաձված քաղցկեղի մասնաբաժինը: Ներկայումս չեն ստացվել LNT մոդելի ճշմարտացիությունն ապացուցող փորձնական տվյալներ, որոնք միանշանակորեն ցույց են տալիս ճառագայթման ցածր դոզաների ու քաղցկեղի առաջացման միջև պատճառահետևանքային կապը մարդու մոտ: Չնայած դրան՝ դեռևս 1946 թվականից այս մոդելը կիրառվում է մարդու վրա իոնացնող ճառագայթման ազդեցության չափորոշիչները կարգավորող ռադիոլոգիական պաշտպանության միջազգային համակարգի կողմից:

Հարկ է նշել, որ իոնացնող ճառագայթումը կարող է առաջացնել նաև այլ՝ ոչ քաղցկեղային հիվանդություններ, ինչը ենթադրում է, որ LNT մոդելը կարելի է կիրառել այս հիվանդությունների առաջացման ռիսկի գնահատման համար: Օրինակ՝ LNT մոդելի կիրառմամբ ցույց է տրվել, որ «Մայակ» միջուկային գործարանի (Ռուսաստան) նախկին աշխատակիցների մոտ,

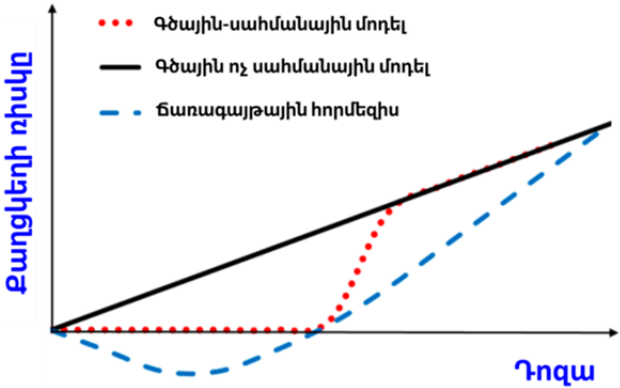
որոնք ստացել են գումարային ≥ 0.2 Գր արտաքին γ ճառագայթման դոզաներ, գլխուղեղաանոթային հիվանդություններն ավելի հաճախ էին հանդիպում՝ համեմատած ավելի ցածր դոզայով ճառագայթվածների հետ: Սակայն հետագա աշխատանքներում ցույց է տրվել քաղցկեղի ռիսկի բարձրացում ≥ 0.1 Գր դոզաներով ճառագայթման դեպքում: Ընդ որում՝ «Մայակի» աշխատակիցների մոտ այդ ռիսկը յուրաքանչյուր 1 Գր ճառագայթման դոզայի համար ավելի բարձր էր, քան միջուկային ռմբակոծությունից հետո կենդանի մնացածների մոտ, որոնք ստացել էին ճառագայթման սուր դոզա:

Բացահայտվել է, որ Տեչա գետի (Ռուսաստան) ռադիոնուկլիդային աղտոտմանը ենթարկված մարդկանց խմբում («Մայակի» թափոնների պատճառով) սիրտանոթային ու սրտի իշեմիկ հիվանդության ռիսկերը նույնպես բարձր էին՝ համեմատած «Մայակի» աշխատակիցների հետ: Ընդ որում՝ 2010-2012 թթ. հետազոտություններին համաձայն՝ Խորհրդային Միության տարիներին աշխատած «Մայակի» արական սեռի աշխատակիցների միջին գումարային γ ճառագայթումը կազմել էր մոտ 0.91 Գր, իսկ Տեչա գետի խմբում՝ ավելի քան 90 %՝ մոտ ≤ 0.1 Գր: Ուստի LNT մոդելի վալիդությունն առաջացնում է ողջամիտ կասկածներ: Համեմատության համար պետք է նշել, որ սիրտանոթային հիվանդությունների ռիսկի բարձրացում դիտվում է ≥ 40 Գր կրծքավանդակի ճառագայթում ստացած հիվանդների մոտ: Համաձայն BEIR VII (Biologic Effects of Ionizing Radiation) հաշվետվության՝ սիրտանոթային հիվանդությունների ռիսկի բարձրացում դիտվում է բարձր թերապևտիկ ու աստմային ռմբակոծության ժամանակ ստացված ավելի ցածր ճառագայթման դոզաների դեպքում: Սակայն դեռևս չեն ստացվել փորձնական ապացույցներ ճառագայթման ցածր դոզաների դեպքում ոչ քաղցկեղային հիվանդությունների առաջացման ռիսկի վերաբերյալ: Համաձայն UNSCEAR (United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation) կոմիտեի՝

փորձարարական առկա տվյալները բավարար չեն իոնացնող ճառագայթման ու սիրտանոթային հիվանդությունների միջև պատճառահետևանքային կապի բացահայտման համար $\leq 1-2$ Գր դոզայի դեպքում: Պատճառներից մեկն այն է, որ ճառագայթմամբ մակածված սիրտանոթային հիվանդությունների փորձնական խմբերում կիրառվում են գլխավորապես բարձր դոզաներ, որոնք չեն հանդիպում մարդածին (անթրոպոգեն) աղտոտման կամ բնական ճառագայթային ֆոնին ենթարկված մարդկանց պոպուլյացիաներում: Ուստի սիրտանոթային հիվանդությունների ու ճառագայթման ցածր դոզաների միջև այսպիսի հակասական «դոզա-էֆեկտ» կապի վերաբերյալ տվյալները կասկածի տակ են դնում, որ գոյություն ունի այդպիսի կապ քաղցկեղային հիվանդությունների դեպքում: Հարկ է նշել, որ բարձր բնական ճառագայթային ֆոնով տեղամասերի բնակիչների մոտ քաղցկեղի ու վաղ մանկական մահացության հաճախականությունները չեն կոռելացվում ճառագայթման դոզաների հետ: Ուստի LNT մոդելը չի համապատասխանում փորձնական ապացույցներին: Հետևաբար ճառագայթման ցածր դոզաների (<100 մԳր) ու քաղցկեղի առաջացման ռիսկի միջև հավանական կապի վերաբերյալ տվյալները պետք է վերլուծվեն քննադատաբար, իսկ տվյալների մեկնաբանությունը պետք է կատարվի ավելի զգուշորեն:

Խիստ կարևոր է հիշել, որ կենսաբանական համակարգում ստացված արդյունքները քննարկելիս միանշանակ պնդումներից (միանշանակ հաստատող կամ հերքող) խուսափումը թույլ է տալիս ավելի լայն մտածել ու կազմել ուսումնասիրվող երևույթի ավելի ամբողջական պատկերը: Այս մոտեցումը տրամաբանական է՝ հատկապես նկատի ունենալով, որ բարդ կառուցվածք ունեցող կենսաբանական համակարգերը կենսագործում են շրջակա միջավայրի բազմաթիվ գործոնների համակցված ազդեցության պայմաններում:

LNT մոդելի հակափաստարկների հիման վրա ձևավորվել է **ճառագայթային հորմեզիսի** հիպոթեզը, որի համաձայն՝ ճառագայթման փոքր դոզաները կարող են ունենալ դրական կամ պաշտպանիչ ազդեցություն (Նկ. 36):



Նկար 36. Քաղցկեղի առաջացման ռիսկի ու ճառագայթման դոզաների միջև կապը նկարագրող եզրեսիտն կորեր (Kablan et al., 2020):

Ճառագայթային հորմեզիսը նկարագրվել է տարբեր օրգանիզմների մոտ ու բջջային կուլտուրաներում (Աղ. 4): Սակայն մոլեկուլային մեխանիզմները դեռևս լիովին չեն պարզաբանվել: Ենթադրվում է, որ հորմետիկ ազդեցության հիմքում ընկած է օրգանիզմի ռադիոադապտիվությունը, որի ժամանակ ճառագայթման ցածր դոզաները մակածում են բարձր դոզաների նկատմամբ ռեզիստենտություն: Օրինակ՝ ցույց է տրվել, որ C57BL/6 մկների ամբողջ մարմնի մեկանգամյա ճառագայթահարումը ռենտգենային ճառագայթների 50 մԳր դոզայով հավաստիորեն բարձրացնում է ռեզիստենտությունը 24 ժամ անց 5.9 Գր դոզայով ճառագայթահարման նկատմամբ: Սակայն այս էֆեկտը չի դիտվել C3H/He ու Balb/c գծերի մկների մոտ: Նման արդյունքներ ստացվել են նաև մարդու ու կենդանիների բջջային գծերում: Ուստի ենթադրվում է, որ հորմետիկ ազդեցությունը կախված է օրգանիզմից, հյուսված-

քից, բջիջներից, գենետիկական նկարագրիչներից, p53-ի ակտիվությունից, ճառագայթման աղբյուրից, դոզայից, դոզայի ուժգնությունից և այլ չափանիշներից:

Աղյուսակ 4. Ճառագայթային հորմեզիսով պայմանավորված կենսաբանական էֆեկտները տարբեր տեսակների օրգանիզմներում ու բջջային կուլտուրաներում (Kabilan et al., 2020)

Սոդելային օրգանիզմ	Ճառագայթման դոզա/դոզայի ուժգնություն	Ազդեցություն
<i>Acheta domesticus</i>	0.5-2.0 Գր	Տնային ծղրիդների մոտ հարմարվողականության բարձրացում և վաղ վերարտադրողություն ցածր դոզաներով ճառագայթելիս:
<i>Rattus norvegicus</i>	0.75 Գր	Կ ճառագայթումը խթանել է մաշկի վերքի լավացումը:
<i>Apodemus speciosus</i>	0.05-21 մԳր/օր	Կ ճառագայթման ցածր դոզաները խթանել են մկների մոտ սպերմատոգենեզը:
<i>Mus musculus</i>	25-500 մԳր	Կ ճառագայթման 25-50 մԳր դոզայով ճառագայթահարված APOE ^{-/-} մկների մոտ աորտայի աթերոսկլերոտիկ ախտահարումների հաճախականության նվազում, մինչդեռ ստուգիչ խմբում (ճառագայթման չենթարկված APOE ^{-/-} մկներ) ժամանակի ընթացքում (8 ամիս) դիտվում էր ախտահարումների աստիճանական աճ:
<i>Drosophila melanogaster</i>	400 մԳր (0.014 մԳր/ժ, 12 օր)	Պտղաճանճերի մոտ Կ ճառագայթման 400 մԳր քրոնիկ ազդեցությունը բարձրացրել էր ԴՆԹ ռեպարացիայի գեների էքսպրեսիան ու նպաստել ռադիոադապտացիային:
Mouse (MC3T3-E1 cells)	500 մԳր	Օստեոբլաստների պրոլիֆերացիայի խթանում, վերքերի լավացման արագացում:
Human (HEL-104 cells)	0.01-2 Գր	Բջջային ծեղցման ուշացում սուր 30-50 մԳի Գ-ճառագայթման դոզաների պատճառով:
Human (CCD-986 sk)	2-10 մԳր	1 ու 2 քրոմոսոմների անէուպլոիդիայի նվազում:

Ներկայումս հայտնի են ռադիոադապտացիայի բջջային պատասխանի երեք հիմնական մեխանիզմներ՝

1. ակտիվ ռադիկալների ընկճում հյուսվածքային հակաօքսիդանտներով (գլյուտաթիոն, կատալազ, սուպերօքսիդ դիսմուտազ),

2. ԴՆԹ ռեպարացիայի ֆերմենտների ակտիվացում,

3. գենոմային վնասվածքների բարձր մակարդակով բջիջների էլիմինացում իմունային ու ապոպտոզային մեխանիզմներով:

Բոլոր նշված մեխանիզմները ցույց են տրվել փորձնական ճանապարհով և բացատրում են տարբեր պայմաններում հորմետիկ ազդեցության դրսևորման մեխանիզմները: Օրինակ՝ ցույց է տրվել, որ առնետների ճառագայթումը 0.2 Գր ռենտգենյան ճառագայթման դոզայով տարբեր օրգաններում (յարդ, երիկամ և գլխուղեղ) մակաձում է կատալազ ու գլյուտաթիոն-S-տրանսսֆերազ ֆերմենտների ակտիվության բարձրացում, որոնք նվազեցնում են օքսիդային պոթենալ:

Հարկ է նշել, որ գենաթունային ցանկացած գործոնի գնահատման ժամանակ ուսումնասիրվում են կենսաբանական համապատասխան մարկերներ, որոնք ունիվերսալ չեն: Ուստի LNT մոդելը, որը մշակվել է իոնացնող ճառագայթման բարձր դոզաներով մակաձված ուշ էֆեկտների էքստրապոլյացիայով ցածր դոզաների վրա, կարող է ստանալ վալիդություն նոր բացահայտված մոլեկուլային կենսամարկերների կիրառման պարագայում: Սակայն այս ենթադրությունը հակասում է համաճարակաբանական տվյալներին, որոնք ցույց են տալիս զարգացած երկրներում բնակչության կողմից ճառագայթման ավելի բարձր դոզաների կլանումը (որը մնում է ճառագայթային ֆոնի սահմաններում): Մինչդեռ այս երկրներում կյանքի միջին տևողությունն ավելի բարձր է: Որոշ հեղինակների պնդմամբ LNT մոդելի շարունակական կիրառումը հանգեցրել է մարդկանց մոտ ռադիո-

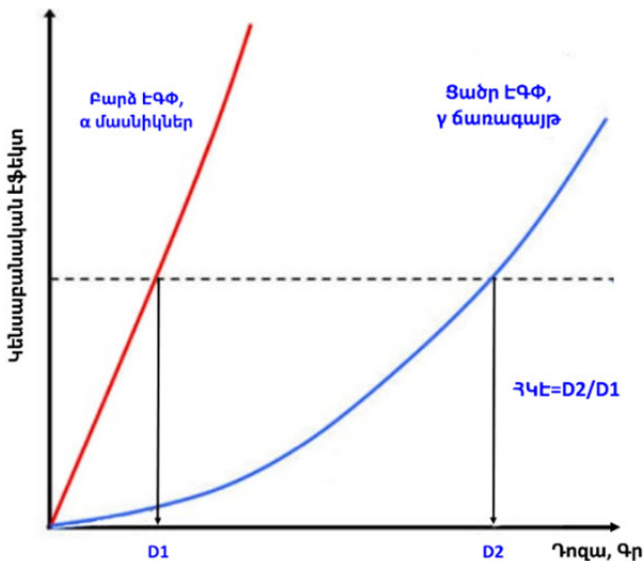
ֆոբիայի առաջացմանը՝ ճառագայթման ցանկացած դոզաների ու աղբյուրների նկատմամբ չարդարացված վախին: Օրինակ՝ իմ ուսանողներից մեկը հետքայլ կատարեց ինձանից, երբ ես հագնում էի ՈւՄ ճառագայթներով ճառագայթահարված իմ լաբորատոր արտահագուստը: Դա հավելյալ անգամ մատնանշում է ճառագայթային կենսաբանությունում ստացված գիտական արդյունքների վերաբերյալ հասարակությանը մասնագիտացված տեղեկատվության տրամադրման անհրաժեշտությունը:

Իոնացնող ճառագայթման բացասական ազդեցությունները պայմանավորված են ուղղակի ու անուղղակի վնասվածքների մակաձմամբ: Ուղղակի վնասվածքներն առաջանում են բջջային տարբեր մոլեկուլների հետ ճառագայթման անմիջական փոխազդեցության արդյունքում, մինչդեռ անուղղակի վնասվածքները մակաձվում են ակտիվ ռադիկալներով: Հարկավոր է հիշել, որ ճառագայթման տարբեր տեսակներ տարբերվում են նաև իոնացման խտությամբ: Ուստի ճառագայթման կենսաբանական էֆեկտները գնահատելիս անհրաժեշտ է նկատի ունենալ **էներգիայի գծային փոխանցման** (ԷԳՓ) չափանիշը, որից կախված է նաև ճառագայթման ՀԿԱ: Փորձենք հասկանալ, թե ինչ են ԷԳՓ-ն ու ՀԿԱ-ն:

ԷԳՓ-ն (կԷՎ/մկմ) էներգիայի այն քանակն է, որն իոնացնող մասնիկը/ալիքը նյութի միջով յուրաքանչյուր միավոր տարածություն (մասնիկի թրեք) անցնելիս փոխանցում է իր հետ փոխազդող ատոմներին: Հետևաբար իոնացման բարձր խտություն առաջացնող α մասնիկները, պրոտոններն ու նեյտրոններն ունեն ԷԳՓ մեծ արժեքներ, իսկ β , γ և ռենտգենյան ճառագայթները՝ ԷԳՓ ցածր արժեքներ:

ՀԿԱ-ն որոշվում է փորձնական եղանակով՝ կառուցելով հետազոտվող ու ռեֆերենտ (ստուգիչ) ճառագայթմամբ մակաձված կենսաբանական էֆեկտների կորերը: ՀԿԱ-ն նկարագրում է միևնույն ճառագայթման դոզայով տարբեր իոնացնող ճառագայթում-

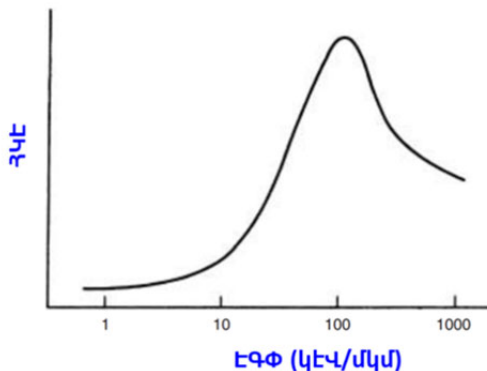
ների կողմից մակաձված չափվող կենսաբանական վերջնարդյունքների հարաբերակցությունը (Նկ. 37): Ինչպես տեսնում ենք Նկար 37-ում բարձր ԷԳՓ-ով մասնիկների դոզա-էֆեկտ կորը համապատասխանում է գծային մոդելին, իսկ ցածր ԷԳՓ-ով ճառագայթմանը՝ գծային-քառակուսային մոդելին: Ուստի բարձր ԷԳՓ-ով ճառագայթման ՀԿԱ-ն զգալիորեն գերազանցում է ցածր ԷԳՓ-ով ճառագայթումը: Օրինակ՝ նեյտրոններով ճառագայթահարման արդյունքում աչքի կատարակտի առաջացման հավանականությունը 10 անգամ ավելի բարձր է միննույն կլանված դոզայով ռենտգենյան ճառագայթման համեմատ:



Նկար 37. Ճառագայթման դոզաների ու կենսաբանական էֆեկտի միջև կապը նկարագրող կորեր: ՀԿԱ-ն հաշվում են ցածր ԷԳՓ D2 և բարձր ԷԳՓ D1 դոզաների հարաբերակցությամբ (Wang et al., 2020):

ԷԳՓ-ն ու ՀԿԱ-ն առանցքային չափանիշներ են ռադիոթերապիայում, ինչպես նաև իոնացնող ճառագայթման տարբեր տեսակների կենսաբանական էֆեկտները կանխատեսելու համար:

Այդպիսի կենսաբանական էֆեկտներից է դիցենտրիկ քրոմոսոմների մակաձուևը: Դիցենտրիկների օրինակով ԷԳՓ-ի և ՀԿԱ-ի միջև կապը նկարագրող կորը ներկայացված է **Նկար 38-ում**: Այս կորը ցույց է տալիս, որ ՀԿԱ-ն բարձրանում է ԷԳՓ-ի մինչև օգտիմալ՝ մոտ 100 կԷՎ/մկմ արժեքը, այնուհետև սկսում է նվազել ԷԳՓ-ի ավելի բարձր արժեքների դեպքում: Պատճառն այն է, որ բարձր ԷԳՓ-ով ճառագայթահարման ժամանակ զգալիորեն բարձրանում է բջջաթունային էֆեկտը, ինչի հետևանքով դիցենտրիկների մակարդակը նվազում է, ինչպես նաև ներգրավվում են ավելի մեծ թվով առողջ հյուսվածքի բջիջներ, և առաջանում է գերբջջաթունային ազդեցություն:

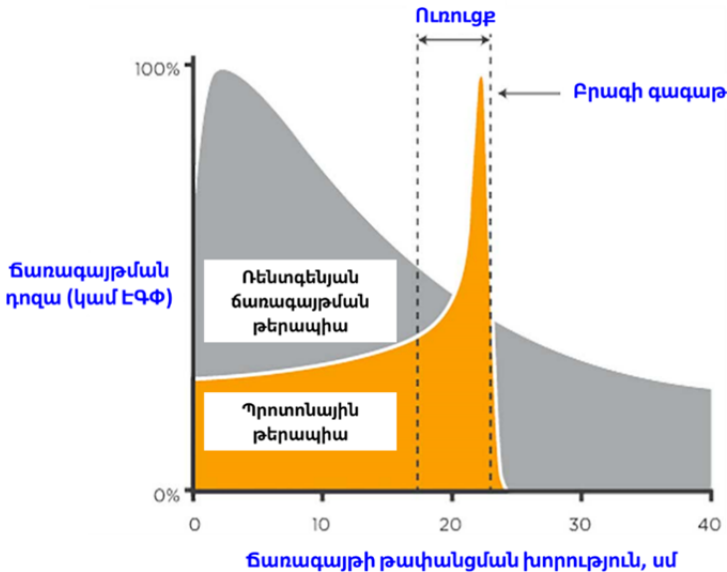


Նկար 38. ՀԿԱ-ի (դիցենտրիկների մակարդակ) և ԷԳՓ-ի միջև կապը բնութագրող կոր: Կորն աճում է մինչև օգտիմալ մակարդակը գծային-քառակուսային մոդելին համապատասխան, որից հետո դիտվում է բջջաթունային ազդեցություն

(https://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/TRS405_scr.pdf):

Ցույց է տրվել, որ բարձր ԷԳՓ-ով մասնիկներին բնորոշ է հանգստի վիճակին անցնելուց անմիջապես առաջ **Բրագգի գագաթի** (անգլերեն՝ Bragg peak) առաջացումը, որը նկարագրում է նյութի միջով մասնիկի անցած ճանապարհին էներգիայի կորուստը (**Նկ. 39**): Բարձր ԷԳՓ-ով ճառագայթման այս հատկությունը բա-

ցատրվում է նրանով, որ լիցքավորված մասնիկների էներգիայի կորուստը հակադարձ համեմատական է դրանց արագության քառակուսուն: Կենդանի օրգանիզմներում Բրազի գագաթը ցույց է տալիս հյուսվածքում այն խորությունը, որտեղ տեղի է ունենում ճառագայթման էներգիայի առավելագույն կորուստը:

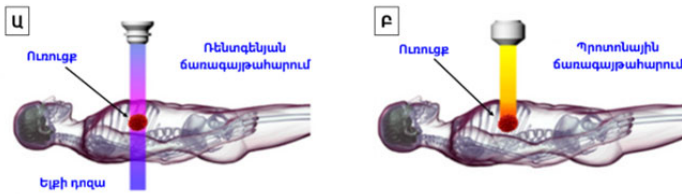


Նկար 39. Ցածր (ռենտգենյան ճառագայթում) ու բարձր (պրոտոնային ճառագայթում) ԷԳՓ-ով ճառագայթների էներգիայի բաշխումը հյուսվածքում բնութագրող Բրազի կորերը: Ցածր ԷԳՓ-ով ճառագայթների (ֆոտոնների) էներգիայի կորստի հիմնական մասը տեղի է ունենում հյուսվածքի փոքր խորություններում մինչև ուռուցքին հասնելը: Մինչդեռ բարձր ԷԳՓ-ով պրոտոնների ճառագայթային էներգիայի կորստի հիմնական մասը տեղի է ունենում ուռուցքի խորության սահմաններում մասնիկների դադարի վիճակին անցնելուց առաջ (<https://provisionhealthcare.com/about-proton-therapy/advantages-of-proton/>):

Իսկ ի՞նչ նշանակություն ունի Բրազի գագաթը ուռուցքների ռադիոթերապիայի համար: Ռադիոթերապիայում առավել նպաստ

տակահարմար է կիրառել էներգիայի ցածր կողմնակի ցրմամբ ճառագայթումը, որի դեպքում էներգիայի հիմնական մասը փոխանցվում է ուռուցքային հյուսվածքին, իսկ կողմնակի առողջ հյուսվածքների վնասումը հասցվում է նվազագույնի: Իմանալով ճառագայթման տարբեր տեսակների հյուսվածքային թափանցելիության խորությունն ու Բրազի գագաթը՝ կարելի է ընտրել առավել բարձր ՀԿԱ ունեցող ռադիոթերապիայի մեթոդը: Այս մոտեցումն ընկած է ժամանակակից ռադիոթերապիայի հիմքում, որը կիրառվում է քաղցկեղի >60 % դեպքում՝ ցույց տվով քաղցկեղի բուժման ժամանակ մասնիկային թերապիայի առավելությունը ռենտգենյան ճառագայթման նկատմամբ: Այսպես՝ ֆոտոնային թերապիայի դեպքում բարձր թափանցելիությամբ ռենտգենյան ճառագայթներն անցնում են ուռուցքային հյուսվածքի միջով և ճառագայթում են նաև հարևան առողջ հյուսվածքները (Նկ. 40Ա): Ընդ որում՝ էներգիայի հիմնական մասի կորուստը տեղի է ունենում առաջնային շփման մակերեսին ու ուռուցքի հարևան հյուսվածքներում: Այսինքն՝ այսպիսի ճառագայթահարումն առավել արդյունավետ է մակերեսային դիրք ունեցող ուռուցքների նկատմամբ: Մինչդեռ պրոտոնային թերապիան ավելի խորը հյուսվածքներում Բրազի գագաթի առաջացմամբ թույլ է տալիս հաղորդել մասնիկների էներգիայի մեծ մասը հյուսվածքում մեկ կետին՝ կարգավորել ճառագայթի խորությունն ու դրա չափն ուռուցքի դիրքին ու ծավալին համապատասխան (Նկ. 40Բ): Հետևաբար ռենտգենյան կամ ֆոտոնային ճառագայթահարման ժամանակ առաջանում է, այսպես կոչված, «ելքի դոզայի» խնդիրը, որը բացակայում է կամ նվազագույնի է հասցվում պրոտոններով ճառագայթահարման ժամանակ: Ուստի պրոտոնային թերապիայում կարելի է կիրառել ճառագայթման ավելի բարձր դոզաներ, ինչը զգալիորեն խթանում է ռադիոթերապիայի արդյունավետությունը: Որպես կանոն պրոտոնային ճառագայթման ՀԿԱ գործակիցն ընդունում են 1.1-1.2, որը ստացվել է ^{60}Co -ի ռեֆերենտ ճա-

ռազայթման հետ համեմատելիս, մինչդեռ ավելի ծանր մասնիկների համար այս արժեքը, որպես կանոն ավելի բարձր է: Հարկ է նշել, որ ՀԿԱ գործակիցը կարող է փոփոխվել՝ կախված հյուսվածքից, ուռուցքի դիրքից, կենսաբանական վերջնարդյունքից ու անհատական զգայնությունից:



Նկար 40. Ուռուցքային հյուսվածքի ճառագայթումը ֆոտոնային (U) ու մասնիկային (P) թերապիաների դեպքում
[\(https://www.protominternational.com/2018/06/bragg-peak/\):](https://www.protominternational.com/2018/06/bragg-peak/)

Պրոտոնային թերապիայում բարձր էներգիայով մասնիկներ ստանալու համար կիրառվում են արագացուցիչներ կամ ցիկլոտրոններ: Այդ նպատակով ջրի մոլեկուլները ենթարկվում են էլեկտրոլիզի, և առաջացած ջրածնի պրոտոնները մղվում են ցիկլոտրոն: Ցիկլոտրոններում՝ կայուն մագնիսական դաշտում պարուրածն շարժվող պրոտոններն արագացվում են փոփոխվող ռադիոալիքային էլեկտրական դաշտերի միջոցով: Դրա հետևանքով այսպիսի պրոտոնների արագությունը հասնում է լույսի արագության 2/3-ին, որոնք օժտված են բարձր էներգիայով (70-250 ՄէՎ): Այսպիսի սարքավորումները զբաղեցնում են մեծ տարածություն, իսկ դրանց կառուցումը խիստ ծախսատար է: Օրինակ՝ Ֆրանսիայում գործող Օրսելի պրոտոնային թերապիայի կենտրոնում կիրառվում է սինքրոցիկլոտրոն, որի ընդհանուր զանգվածը 900 տոննա է և ունակ է գեներացնելու 230 ՄէՎ էներգիայով մասնիկներ: Ներկայումս աշխարհում գոյություն ունեն >110 պրոտոնային թերապիայի սարքավորումներ, որոնց միջոցով բուժում է ստացել >290.000 հիվանդ: Պրոտոնային թերա-

պիայի բոլոր կենտրոնների մասին տեղեկատվությունը կարելի է գտնել հետևյալ հղմամբ՝ <https://www.ptcog.ch/index.php/facilities-in-operation>:

Հարկ է նշել, որ ՀԿԱ-ն կախված է ոչ միայն ճառագայթման դոզայից, այլև **դոզայի ուժգնությունից** (անգլերեն՝ dose rate): Դա նշանակում է, որ ճառագայթման միևնույն դոզայի արդյունավետությունը զգալիորեն բարձրանում է, երբ տրվում է կարճ ժամանակահատվածում, ինչի հիման վրա զարգացել են գերբարձր ուժգնությամբ ռադիոթերապիայի նոր մեթոդներ (օրինակ՝ FLASH, միկրոճառագայթում): Այս դեպքում ≥ 40 Գր/վրկ դոզայի ուժգնությամբ ճառագայթումը հաղորդվում է որպես մեկ դոզա կամ միլիվայրկյան տևողությամբ ընդհատումներով մասնատված դոզաների իմպուլսների տեսքով: FLASH մեթոդը (արագացված էլեկտրոններով ճառագայթման տեսակ) կիրառվել է նախակլինիկական փուլում դեռևս միայն մեկ հիվանդի բուժման համար, որը տառապում էր T-բջջային լիմֆոմայով, իսկ ճառագայթահարումը տևել էր 90 մվրկ: Միևնույն ժամանակ հիվանդի մոտ չէին դիտվել զգալի կողմնակի ազդեցություններ, որոնք առաջանում են ստանդարտ ռադիոթերապիայի ժամանակ: Սակայն FLASH ռադիոթերապիայի կենսաբանական պատասխանի մոլեկուլային մեխանիզմները դեռևս պարզ չեն: Մկների քսենոգրաֆտներում (մոդել, որը կրում է մարդու ուռուցքային հյուսվածք) ցույց է տրվել, որ FLASH ճառագայթումը զգալիորեն ճնշում է ուռուցքի աճը, իսկ թոքային ֆիբրոզի մակարդակն ավելի ցածր է՝ համեմատած ստանդարտ ճառագայթման հետ: Ներկայումս ենթադրվում է, որ նորմալ ու ուռուցքային բջիջների միջև պատասխանի տարբերությունը պայմանավորված է ԴՆԹ վնասվածքների մակարդակների ու դրանց բաշումների տարբերությամբ, որոնք մակաձվում են FLASH և ստանդարտ ճառագայթմամբ: Մեկ այլ տեսության համաձայն՝ նորմալ ու ուռուցքային հյուսվածքները տարբերվում են H_2O_2 չեզոքացնելու ակտիվությամբ: FLASH ճառագայթումը մա-

կածում է ջրի ռադիոլիզ ու ակտիվ ռադիկալներ, որոնք փոխազդում են թթվածնի հետ ու առաջացնում H_2O_2 : Նորմալ հյուսվածքներում կատալազի բարձր ակտիվությամբ H_2O_2 չեզոքացվում է, մինչդեռ ուռուցքային հյուսվածքում բարձրանում է օքսիդային սթրեսի մակարդակը: Այսպիսով՝ FLASH ճառագայթումը խոստումնալից մոտեցում է, որով մակաձված կենսաբանական էֆեկտների մոլեկուլային մեխանիզմների ուսումնասիրումն ու վերարտադրվող արդյունքների ստացումը թույլ կտան կիրառել այս մեթոդը բուժման համար:

Դոզայի ուժգնությունը ճշգրիտ կարգավորելու համար մշակվել են տարբեր տիպի մասնիկային արագացուցիչներ, որոնք թույլ են տալիս ֆեմտո- (10^{-15} վրկ) ու պիկովայրկյանների (10^{-12} վրկ) ընթացքում հաղորդել մի քանի ԳԳր/վրկ էներգիա ճառագայթվող թիրախին, ինչպես նաև ունեն կոմնակի ցրման ցածր մակարդակ: Հայաստանում գործում է AREAL լազերով գեներացվող էլեկտրոնների արագացուցիչը CANDLE սինքրոտրոնային հետազոտությունների ինստիտուտում, որտեղ գնահատվում են ուլտրակարճ ճառագայթման կենսաբանական էֆեկտները (<http://candle.am/>): Բացահայտվել է, որ 2 Հց ուժգնությամբ AREAL ու ստանդարտ քվազիչարունակական ճառագայթումները HeLa քաղցկեղային բջիջներում մակաձում են ԴՆԹ երկշղթա կտրվածքներ, որոնց քանակները վիճակագրորեն չեն տարբերվում միմյանցից: Մինչդեռ 20 Հց ուժգնությամբ ճառագայթահարելիս AREAL արագացուցիչը մակաձում է 1.27 անգամ ավելի շատ վնասվածքներ: Ընդ որում՝ 24 ժ անց ԴՆԹ երկշղթա կտրվածքների մնացորդային քանակը գրեթե 3 անգամ ավելի շատ է՝ համեմատած ստանդարտ ճառագայթման հետ: Այս էֆեկտը կարելի է բացատրել նրանով, որ բարձր էներգիայով ճառագայթները վնասում են ԴՆԹ մոլեկուլը ուլտրակարճ իմպուլսներով, մինչդեռ ռեպարացիոն համակարգերը չեն հասցնում վերականգնել մակաձված բարդ վնասվածքները:

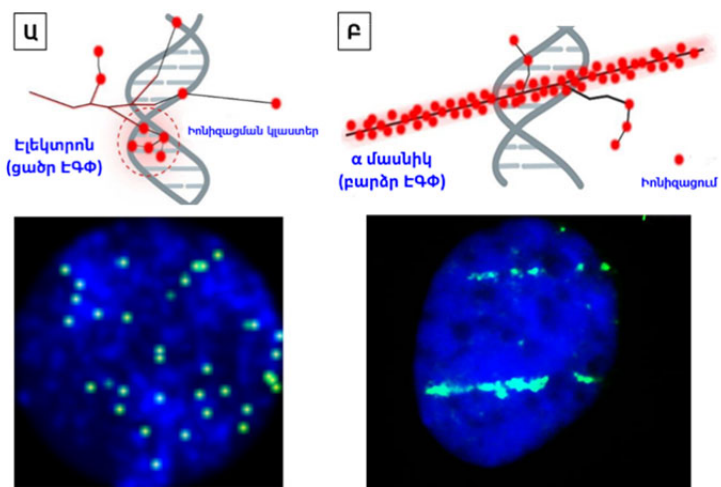
Ներկայումս դոզայի ուժգնության կարգավորման միջոցով քաղցկեղի ռադիոթերապիան ակտիվ զարգացող ուղղություն է ամբողջ աշխարհում: Սակայն նկատի ունենալով արագացուցիչներ կառուցելու տեխնիկական ու ֆինանսական բարդությունները՝ այս աշխատանքները կատարվում են սահմանափակ թվով լաբորատորիաներում:

4.2.4. Իոնացնող ճառագայթման գենետիկական էֆեկտները

Իոնացնող ճառագայթումը մակաձուլ է գլոբալ բջջային պատասխան, որը գլխավորապես ակտիվանում է ԴՆԹ ուղղակի ու անուղղակի վնասվածքների առաջացման հետևանքով: ԴՆԹ ուղղակի վնասվածքները մակաձվում են իոնացնող ճառագայթման և ԴՆԹ մոլեկուլի ուղղակի փոխազդեցության արդյունքում, մինչդեռ անուղղակի վնասվածքներն առաջանում են ջրի ռադիոլիզի ու այլ աղբյուրներից (միտոքոնդրիումներ, պերօքսիսոմներ) առաջացող ակտիվ ռադիկալների ազդեցությամբ:

ԴՆԹ վնասվածքները կարելի է բաժանել երկու հիմնական խմբի՝ **միաշղթա** ու **երկշղթա** վնասվածքների: Միաշղթա վնասվածքները ռեպարացվում են բարձր ճշգրտությամբ, մինչդեռ երկշղթա վնասվածքների ռեպարացիայի արդյունքում կառուցվածքային ու քանակական մուտացիաների առաջացման հավանականությունն ավելի բարձր է: Երկշղթա վնասվածքներն առաջանում են մոտ հեռավորության վրա՝ <10 նգ հեռավորությամբ (մոտ 4 նմ), ինչը կարող է հանգեցնել քրոմոսոմային բարդ վնասվածքների ու բջջի մահվան: Յուրաքանչյուր 1 Գր ռենտգենյան ճառագայթումը մակաձուլ է մոտ 1000 միաշղթա ու 30-40 երկշղթա վնասվածքներ, մինչդեռ հանգեցնում է մեկ լետալ իրադարձությունից պակաս դեպքերի մակաձուլ, ինչը ցույց է տալիս, որ մակաձված վնասվածքների մեծ մասը ռեպարացվում է ճշգրտորեն:

Առավել վտանգավոր են կլաստերային կամ բազմակի սայթերի վնասվածքները, որոնք ընդգրկում են ԴՆԹ մոտ 1.5 պարուրի հատվածում իոնացնող ճառագայթման մեկ թրեքով մակաձված երկու ու ավելի վնասվածքներ: Ընդ որում՝ տարբեր ԷԳՓ ունեցող ճառագայթման տեսակների թրեքները միմյանցից տարբերվում են իրենց կառուցվածքով, ինչից կախված է նաև դրանց ՀԿԱ-ն: Օրինակ՝ ցածր իոնացման խտությամբ ու ցածր ԷԳՓ-ով էլեկտրոնների հոսքը մակաձում է միմյանցից հեռու դասավորված պարզ ու բարդ վնասվածքներ (Նկ. 41Ա), մինչդեռ բարձր իոնացման խտությամբ ու բարձր ԷԳՓ-ով α ճառագայթումը մակաձում է ԴՆԹ-ում միմյանց մոտ տեղակայված բազմակի կլաստերային վնասվածքներ (Նկ. 41Բ):



Նկար 41. Ցածր ու բարձր ԷԳՓ-ով ճառագայթումներով մակաձված ԴՆԹ երկշղթա կտրվածքների (կանաչ, γ H2AX լոկուսներ) բաշխումը բջջակորիզներում (կապույտ, DAPI) (Iliakis et al., 2019): Ցածր ԷԳՓ-ով ճառագայթները մակաձում են միմյանցից հեռու դասավորված ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքներ: Բարձր ԷԳՓ-ով ճառագայթումը մակաձում է միմյանց մոտ տեղակայված ԴՆԹ բազմակի վնասվածքներ:

Կլաստերային վնասվածքների տեղամասերում առաջանում են AP սայթեր, պուրինների և/կամ պիրիմիդինների օքսիդացում, միաշղթա ու երկշղթա կտրվածքներ: Համակարգչային մոդելավորմամբ ցույց է տրվել, որ բարդ կլաստերային վնասվածքներում ԴՆԹ երկշղթա կտրվածքներն առաջանում են 1-4 նմ հեռավորության վրա 2-5 իոնացումների հետևանքով: Ընդ որում՝ ԴՆԹ իոնացման համար անհրաժեշտ էներգիան կազմում է 20 էՎ: Ուստի երկշղթա կտրվածքների առաջացման համար պահանջվում է 40-100 էՎ էներգիա: ԴՆԹ-ում այսպիսի բարդ վնասվածքներով տեղամասերն իոնացնող ճառագայթման մարկերներ են, որոնց խիտ դասավորված ու բազմակի կրկնությունները հանգեցնում են բջջի մահվան:

Քանի որ ցածր էԳՓ-ով ճառագայթման 1 Գր մակածում է ԴՆԹ հազարավոր միաշղթա վնասվածքներ, որոնք բաղկացած են հիմքերի վնասվածքներից ու միաշղթա կտրվածքներից (3:1 հարաբերությամբ), և մոտ 40 երկշղթա կտրվածքներ, ապա կլաստերային վնասվածքների մեծ մասը կազմում են միաշղթա վնասվածքները, որոնք կոչվում են ոչ երկշղթա կտրվածքների կլաստերներ: Այսպիսի վնասվածքները կազմում են ցածր էԳՓ-ով ճառագայթմամբ մակածված խաթարումների >80 %-ը, մինչդեռ երկշղթա վնասվածքներով կլաստերներն ավելի հազվադեպ են հանդիպում և դժվարությամբ են ռեպարացվում: Ուստի բարձր էԳՓ-ով ճառագայթման բարձր ՀԿԱ-ն կարելի է բացատրել դրա ավելի բարձր իոնացման խտության պատճառով առաջացող մեծ թվով կլաստերային ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքների մակածմամբ:

Բացահայտվել է, որ կլաստերային երկշղթա կտրվածքները դժվարությամբ են ռեպարացվում: Իսկ ի՞նչն է դրա պատճառը: ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքներն առավել հաճախ ռեպարացվում են ոչ հոմոլոգիական ծայրերի կցման ռեպարացիայով (անզլերեն՝ non-homologous end joining, NHEJ), որը սկսվում է Ku70/80 սպիտակուցների կողմից վնասված հատվածի ճանաչմամբ: Այնու-

հետև դրանց միանում են DNA-PKcs կինազի կատալիտիկ ենթամիավորները, որոնք ձևավորում են DNA-PK հոլոէնզիմը՝ խթանելով NHEJ ռեպարացիան: Բացահայտվել է, որ DNA-PKcs արգելակվում են ԴՆԹ կարճ հատվածների հետ փոխազդեցության արդյունքում, որոնք առաջանում են բարձր էԳՓ-ով ճառագայթման ժամանակ: Քանի որ DNA-PKcs ակտիվացումը առանցքային է ԴՆԹ երկշղթա կտրվածքների ռեպարացիայի համար, ապա ԴՆԹ կարճ հատվածներին միացած ինակտիվ DNA-PK արգելակում է NHEJ ռեպարացիան:

Մարդկանց պոպուլյացիայում ճառագայթման կլանված դոզայի բացահայտման համար իրականացվում է **կենսաբանական դոզիմետրիա**: Բիոդոզիմետրիան պարտադիր է հատկապես ֆիզիկական դոզիմետրիայի կամ ճառագայթման կլանված դոզաների մասին տվյալների բացակայության պայմաններում: Այն հիմնված է կլանված դոզաների ու չափվող գենաթունային վերջնարդյունքների միջև դոզա-էֆեկտ կորերի վերլուծության վրա: Սակայն պետք է նշել, որ գոյություն ունեն կենսաբանական էֆեկտների չափման որոշ խնդիրներ, որոնք առաջանում են ճառագայթման ոչ համաչափ ազդեցության, ռադիոնուկլիդների կլանման, արյան ու ճամուշառման, անհատական զգայնության և այլ պատճառներով:

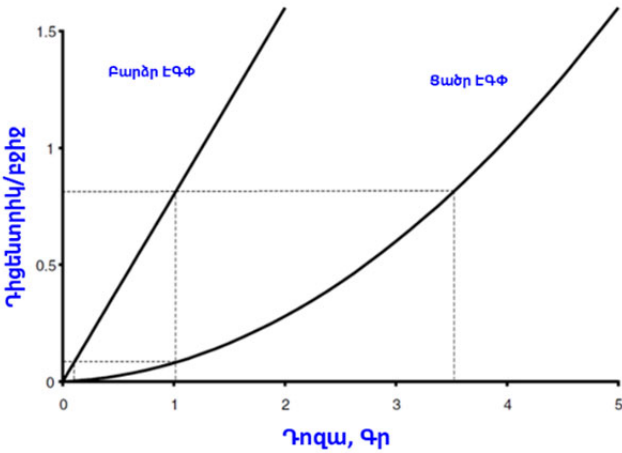
Առավել զգայուն կենսաբանական չափանիշները **քրոմոսոմային աբեռացիաներն** են, որոնք կենսաբանական դոզիմետրիայի «ոսկե ստանդարտ են»: Ճառագայթման արդյունքում առաջանում են տարբեր տիպի քրոմոսոմային աբեռացիաներ, որոնց քանակը կախված է ճառագայթման դոզայից: Օրինակ՝ դիցենտրիկների վերլուծությունը (ISO 19238) թույլ է տալիս բացահայտել 0.1-5.0 Գր ամբողջ մարմնի ճառագայթման կլանված դոզաների էֆեկտները՝ անկախ հետազոտվողների սեռից ու տարիքից: Հատկանշական է, որ բջջագենետիկական խաթարումները կարելի է բացահայտել ճառագայթավելուց նույնիսկ 50 տարի անց:

Բջիջներում իոնացնող ճառագայթամաբ մակաճվաճ քրոմոտոմային աբեռացիաների հաճախականությունը կախվաճ է ԷԳՓ-ից: Ցաճր ԷԳՓ-ով (նոսր իոնիզացմամբ) ճառագայթման դեպքում ցանկացաճ դոզայով իոնացումը բջջային պոպուլյացիայում ունի պատահական և/կամ հոմոգեն բաշխում, քանի որ առաջանում են մեճ թվով թրեքներ: Ուստի բջիջներում ԴՆԹ վնասվաճքները կունենան պատահական բաշխում, և ենթադրելով, որ գոյություն ունի հավասար հավանականություն, որ ցանկացաճ վնասվաճք պոտենցիալ կարող է փոխակերպվել աբեռացիայի, ապա աբեռացիաները նույնպես կունենան պատահական բաշխում բջիջների միջև: Մա ցույց է տրվել ռենտգենյան կամ Գ ճառագայթման համար: Բարճր ԷԳՓ-ով (խիտ իոնիզացմամբ) ճառագայթման դեպքում իոնացման թրեքները բջիջներում ունեն ոչ պատահական բաշխում, որի ժամանակ առաջանում են վնասվաճքների «կլաստերացվաճ տեղամասեր»: Այս դեպքում թրեքների քանակն ավելի քիչ է լինում, քան միևնույն դոզայով ցաճր ԷԳՓ-ի ժամանակ: Ուստի աբեռացիաների բաշխումը բջիջներում կլինի ոչ պատահական: Էներգիայի այսպիսի ոչ հոմոգեն բաշխման արդյունքում առաջանում են բազմակի աբեռացիաներով մեճ թվով բջիջներ, սակայն առանց աբեռացիաների բջիջների թիվը նույնպես բարճր է լինում: Այս առանճնահատկությունները կիրառվում են կենսաբանական դոզիմետրիայում (բիոդոզիմետրիա):

Բիոդոզիմետրիայի մեթոդները գլխավորապես մշակվել են ճառագայթային պատահարներից (օրինակ՝ Չերնոբիլի ու Մայակի ատոմակայանների վթարները) տուճաճ անճանց մշտադիտարկման համար: Մտացվաճ տվյալների հիման վրա կայացվում են բուճման մեթոդների մասին եզրակացությունները: Միևնույն ժամանակ այս մեթոդները կիրառվում են ատոմային ոմբակոճությունից հետո կենդանի մնացաճների, նրանց սերունդների ու աշխատանքային պայմաններից ելնելով ճառագայթման փոքր դոզաների ազդեցությանը ենթարկվաճ մարդկանց մոտ:

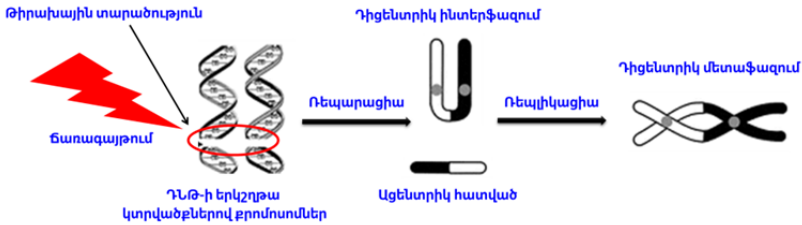
Ըստ ժամանակի ընթացքում կայունության՝ քրոմոսոմային աբեռացիաները բաժանվում են երկու հիմնական խմբի՝ **անկայուն** ու **կայուն աբեռացիաների**: Անկայուն աբեռացիաները, ինչպիսիք են **դիցենտրիկ քրոմոսոմները**, հայտնաբերվում են ճառագայթումից մինչև մի քանի ամիս անց: Դիցենտրիկների անկայունությունը պայմանավորված է միտոզի ընթացքում դրանց տարամիտման ասիմետրիկությամբ, ինչը հանգեցնում է բջջի մահվան: Սակայն ունեն ցածր սպոնտան մակարդակ (0.001 դիցենտրիկ/բջիջ) ու բարձր սպեցիֆիկություն ԴԼԹ երկշղթա վնասվածքներ առաջացնող գործոնների նկատմամբ, ինչպիսիք են ճառագայթումն ու ռադիոմիմետիկ որոշ միացություններ: Ուստի դիցենտրիկների հաշվարկն առավել հաճախ կիրառվում է սուր ճառագայթումից կարճ ժամանակ անց կլանված դոզաների հաշվարկի համար:

Որպես կանոն բարձր ու ցածր ԷԳՓ-ով ճառագայթահարման ժամանակ դիցենտրիկների դոզա-էֆեկտ կախվածությունը նկարագրվում է համապատասխանաբար գծային ու գծային-քառակուսային մոդելներով (**Նկ. 42**): Դիցենտրիկների բարձր մակարդակով ՀԿԱ-ն, որը նշված է **Նկար 42**-ում վերին ընդհատվող հորիզոնական գծով, դիտվում է բարձր դոզաների դեպքում, հատվում է կորերի երկու կետում՝ 1.0 ու 3.5 Գր դոզաներում: Հետևաբար այստեղ ՀԿԱ-ն՝ $3.5/1.0 = 3.5$: Մտորին ընդհատվող հորիզոնական գիծը հատում է 0.1 ու 1.0 Գր դոզաներում, ուստի այստեղ ՀԿԱ-ն՝ $1.0/0.1 = 10$: Այսինքն՝ բարձր ԷԳՓ-ով ճառագայթման ՀԿԱ-ն ցածր դոզաներում ունի 10 անգամ ավելի բարձր արժեք, քան ավելի բարձր դոզաներում՝ համեմատած ցածր ԷԳՓ-ով ճառագայթման հետ միևնույն դոզաներում: Այս կորերի պատկերները ընկալելու համար անհրաժեշտ է վերլուծել իոնացնող ճառագայթմամբ մակածված դիցենտրիկների առաջացման մեխանիզմները:



Նկար 42. Դիցենտրիկ քրոմոսոմների հաճախականության կախվածությունը բարձր ու ցածր ԷԳՓ-ով ճառագայթների դոզայից նկարագրող գծային ու գծային-քառակուսային ռեգրեսիոն մոդելներ (https://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/TRS405_scr.pdf):

Դիցենտրիկների առաջացման համար անհրաժեշտ է, որ ԴՆԹ կտրվածքները մակաձվեն երկու քրոմոսոմների միմյանց մոտ տեղակայված հատվածներում, որոնց սխալ ռեպարացիայի ժամանակ այդ քրոմոսոմների միջև կառաջանան վերակցումներ: Վերակցման համար անհրաժեշտ այս տարածությունը կարող ենք պայմանականորեն կոչել «թիրախային տարածություն»: Այսպիսով՝ երկու չռեպլիկացվող քրոմոսոմների միջև թիրախային տարածությունում պետք է առաջանան ԴՆԹ երկու վնասվածքներ: Այս տարածությունը պետք է լինի <1 մկմ: Ընդ որում՝ նվազագույնը երկու իոնացում է անհրաժեշտ դիցենտրիկի առաջացմանը մասնակցող երկու քրոմոսոմներում վնասվածքների առաջացման համար (Նկ. 43):



Նկար 43. Իոնացնող ճառագայթմամբ դիցենտրիկ բրոմոսոմների մակա-
ծում: Թիրախային տարածությունում ճառագայթումն առաջացնում է
իոնացումներ և մակածում է բրոմոսոմների երկշղթա կտրվածքներ:
ԴՆԹ վնասված շղթաների ռեպարացիայի արդյունքում երկու բրոմո-
սոմներ միաձուլվում են, և առաջանում են դիցենտրիկ բրոմոսոմ ու դե-
լեցվող ագենտրիկ հատված (Prasanna et al., 2002):

Ցածր ԷԳՓ-ով ռենտգենյան ճառագայթներն ունեն միավոր
թրեքի երկարությամբ իոնացման ցածր հաճախականություն:
Ուստի թիրախային տարածությունում մեկ թրեքի երկու իոնաց-
ման իրադարձությունների հավանականությունը ցածր է: Ավելի
բարձր է հավանականությունը, որ երկու վնասվածքները կառա-
ջանան երկու անկախ թրեքների իոնացման արդյունքում: Ուստի
մեկ թրեքով առաջացող դիցենտրիկների հաճախականությունը
համեմատական է դոզայի գծային ֆունկցիային, մինչդեռ երկու
թրեքներով մակածված դիցենտրիկները համեմատական են
դոզայի քառակուսուն: 0.5 Գր-ից ցածր դոզաներում թիրախ տա-
րածությամբ երկու թրեքների անցման հավանականությունը
այնքան ցածր է, որ դիցենտրիկները գրեթե բացառապես առաջա-
նում են մեկ թրեքով ու ցածր հաճախականությամբ: Դոզայի
բարձրացման արդյունքում երկու թրեքներով մակածվող
դիցենտրիկների քանակը նույնպես կավելանա: Ուստի ցածր
ԷԳՓ-ով մակածված դիցենտրիկների դոզա-էֆեկտ կորը
կազմված կլինի մեկ ու երկու թրեքների իրադարձություններից,
որտեղ մեկական թրեքների մակածած վնասվածքները կգերա-
կշռեն ցածր դոզաների ժամանակ, իսկ երկու թրեքներինը՝ բարձր

դոզաներում: Ցածր ԷԳՓ-ով ճառագայթման դոզա-էֆեկտ կախվածությունը որոշվում է գծային-քառակուսային մոդելով՝

$$Y = A + \alpha D + \beta D^2,$$

Y – դիցենտրիկ/բջիջ,

A – դիցենտրիկների սպոնտան մակարդակ,

D – ճառագայթման դոզա,

α – գծային գործակից,

β – քառակուսային գործակից:

Այս գործակիցները որոշվում են ռեգրեսիոն վերլուծության ժամանակ վիճակագրական վերլուծության համար նախատեսված տարբեր ծրագրերով (օրինակ՝ SPSS, Statgraphics, GraphPad և այլն):

Ճառագայթման ԷԳՓ բարձրացմանը զուգընթաց մեծանում է նաև թիրախային տարածությունում միևնույն թրեքի երկայնքով երկու իոնացման իրադարձություններով մակածված երկու վնասվածքների առաջացման հավանականությունը: Այս պարագայում դոզա-էֆեկտ կորը >20 կԷՎ/մկմ ԷԳՓ-ի դեպքում ունենում է գծային տեսք (Նկ. 42): Միևնույն ժամանակ բարձրանում է դիցենտրիկների մակարդակը կամ ՀԿԱ-ն, քանի որ մեծանում է միևնույն թրեքով երկու վնասվածքների առաջացման հավանականությունը: Մեկ թրեքով երկու վնասվածքների մակածումն ավելի արդյունավետ է, քան երկրորդ թրեքով առաջին թրեքին մոտ երկրորդ քրոմոսոմում վնասվածքի առաջացման պատահական գործընթացը: Առավելագույն ՀԿԱ-ն կդիտվի այն ԷԳՓ-ի դեպքում, որտեղ իոնացումը կունենա օպտիմալ հեռավորություն դիցենտրիկների առաջացմանը մասնակցող ԴՆԹ երկու առանձին պարույրներում վնասվածքների մակածման համար՝ առանց էներգիայի կողմնակի կորստի: Մակայն այս օպտիմալ արժեքից բարձր ԷԳՓ-ի դեպքում թիրախային ու դրան կից տարածություն-

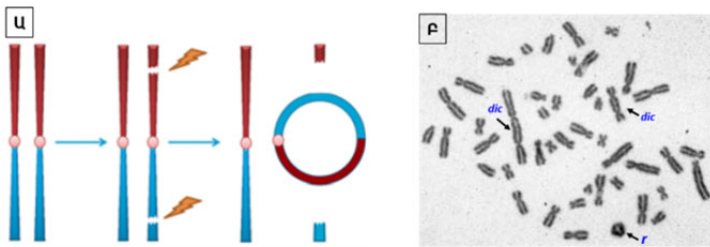
նում կառաջանա ավելի շատ իոնացում քան անհրաժեշտ է, ինչի արդյունքում կնվազի ՀԿԱ-ն (դիցենտրիկների մակարդակը) ԷԳՓ-ի նկատմամբ (Այ. 38): Այսպիսով՝ ցածր ԷԳՓ-ով ու բարձր էներգիայով պրոտոններով ու արագացված էլեկտրոններով ճառագայթումների չափաբաժին-ազդեցություն կորը համապատասխանում է գծային-քառակուսային մոդելին: Մինչդեռ բարձր ԷԳՓ-ով ճառագայթման (օրինակ՝ α մասնիկներ, միջուկային տրոհման նեյտրոններ) տեսակները նկարագրվում են գծային (կամ գծայինին մոտ) մոդելով: Ուստի գծային-քառակուսային մոդելը ենթադրում է, որ ճառագայթման կենսաբանական էֆեկտները կազմված են երկու առանձին բաղադրիչներից: Բաղադրիչներից մեկը կազմված է մեկ թրեքով, իսկ երկրորդը՝ երկու առանձին թրեքներով մակաձված վնասվածքներից: Հետևաբար դիտվում են գծային (դոզայի ուժգնությունից անկախ) ու քառակուսային (դոզայի ուժգնությունից կախյալ) դոզա-էֆեկտ կախվածություններ: Այս մոդելը բավականին լավ բացատրում է ճառագայթման բազմաթիվ, բայց ոչ բոլոր էֆեկտները: Օրինակ՝ ճառագայթահարված բջիջներում հիպոքսանտին-գուանին ֆոսֆոռիբոզիլ տրանսֆերազ (անզլերեն՝ hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase, HPRT) գենի մուտացիայի հաճախականությունը, որը տատանվում է՝ կախված բջիջների տեսակից: Այսպես՝ մարդու նորմալ ֆիբրոբլաստներում այն ունի գծային կախվածություն ճառագայթման դոզայից, սակայն լիմֆոցիտներում կորն ունի պարաբոլիկ տեսք և ծոված է դեպի վեր (կոչվում է նաև «curvilinear»): Ֆիբրոբլաստներում կենսունակության կախվածությունը դոզայից նույնպես նկարագրվում է գծային, իսկ լիմֆոցիտներում՝ պարաբոլիկ կորով: Ներկայումս այսպիսի տարբերությունների մոլեկուլային մեխանիզմները դեռևս պարզաբանված չեն:

Իսկ ինչպե՞ս է դոզայի ուժգնությունն ազդում քրոմոսոմային արեռացիաների հաճախականության վրա:

Հայտնի է, որ դիցենտրիկների առաջացմանը մասնակցող ԴՆԹ վնասվածքների ռեպարացիան կարող է տեղի ունենալ մի քանի բուպեից մինչև մի քանի ժամվա ընթացքում: Եթե ցածր ԷԳՓ-ով ճառագայթման դեպքում դիցենտրիկի առաջացման համար անհրաժեշտ երկու քրոմոսոմներում վնասվածքներն առաջանում են առանձին թրեքներով ու դոզայի ուժգնությունը նվազում է, ապա կա հավանականություն, որ առաջին թրեքով թիրախային տարածքում մակաձված ԴՆԹ վնասվածքը կարող է ռեպարացվել մինչև երկրորդ թրեքով հաջորդ վնասվածքի առաջացումը: Այս դեպքում որքան ցածր է դոզայի ուժգնությունը, այնքան էլ ցածր է միավոր ժամանակում իոնացման թրեքների հաճախականությունը: Ուստի մինչև երկրորդ վնասվածքի առաջացումը ռեպարացիայի համակարգերն ունենում են ավելի շատ ժամանակ առաջին վնասվածքի ռեպարացիայի համար: Այսպիսով՝ ցածր ԷԳՓ-ով և ցածր դոզայի ուժգնությամբ ճառագայթումը, որի ժամանակ երկու թրեքներով աբեռացիաների մակաձումը մոտ է գրոյին, նկարագրվում է գծային մոդելով, որի կորը համընկնում է սուր ազդեցության գծային-քառակուսային մոդելի գծային հատվածին: Նման ազդեցություն դիտվում է նաև ֆրաքցիոնացված կամ մասնատված դոզաներով ճառագայթահարման ժամանակ: Եթե կլանվում են երկու կամ ավելի դոզաներ, ապա առաջին դոզայով մակաձված վնասվածքները կարող են փոխազդել երկրորդի կամ հաջորդ դոզայի վնասվածքների հետ, եթե առաջին ու հաջորդ դոզայի հադորդման միջև ժամանակը բավարար չէ առաջին կամ նախորդ վնասվածքի ռեպարացիայի համար: Հետևաբար, եթե դոզաների հադորդման միջև ժամանակը գերազանցում է ռեպարացիայի ժամանակին, ապա ընդհանուր դոզայով (ֆրաքցիաների գումարը) մակաձված դիցենտրիկների հաճախականությունն ավելի ցածր կլինի, քան մեկ անգամով հարդրված ընդհանուր դոզայի դեպքում:

Բարձր ԷԳՓ-ով ճառագայթման ժամանակ դիցենտրիկների առաջացմանը մասնակցող երկու քրոմոսոմներում վնասվածքները մակաձվում են մեկ թրեքով: Ուստի դոզայի ուժգնության նվազումը զգալիորեն չի ազդում դիցենտրիկների հաճախականության վրա, քանի որ տևական ազդեցության ժամանակ վնասվածքների ռեպարացիան չի ազդում երկու վնասվածքների միջև փոխազդեցության առաջացման վրա:

Անկայուն քրոմոսոմային աբեռացիաներից են նաև **օղակաձև քրոմոսոմներն** ու **ացենտրիկ հատվածները**: Օղակաձև քրոմոսոմները խիստ հազվադեպ հանդիպող աբեռացիաներ են, որոնք առաջանում են միևնույն քրոմոսոմի մեծ ու փոքր ուսերում տերմինալ դելեցիաների ռեպարացիայի արդյունքում ուսերի միաձուլման պատճառով (Նկ. 44):



Նկար 44. (Ա) Քրոմոսոմի վնասված մեծ ու փոքր ուսերի միաձուլմամբ օղակաձև քրոմոսոմի առաջացման սխեմա: (Բ) Դիցենտրիկներ (dic) ու օղակաձև քրոմոսոմ (r) պարունակող մետաֆազային թիթեղ (Pristyazhnyuk and Menzorov, 2018)

Որպես կանոն օղակաձև քրոմոսոմների առաջացումն ուղեկցվում է դելեցիաներով, որոնք հանդես են գալիս ացենտրիկ հատվածների տեսքով: Ընդ որում՝ օղակաձև քրոմոսոմները կարող են առաջանալ ցանկացած քրոմոսոմից: Օղակաձև քրոմոսոմները հազվադեպ կարող են առաջանալ նաև քրոմոսոմի մեծ ու փոքր ուսերի թելոմերների միաձուլման արդյունքում, որի ժամանակ գենետիկական նյութի կորուստ չի դիտվում: Ցույց է

տրվել, որ օղակաձև քրոմոսոմների մակարդակը գծային կախվածություն ունի γ ճառագայթման բարձր դոզաների (5-20 Գր) դեպքում *in vitro*: Սակայն դրանք հազվադեպ են կիրառվում բիոդոզիմետրիկ վերլուծության նպատակով:

Իոնացնող ճառագայթմամբ մակաձվում են նաև բջջային հաջորդ սերունդներին փոխանցվող կայուն աբեռացիաներ, ինչպիսիք են **տրանսլոկացիաները**, որոնք տարիներ շարունակ կարող են պահպանվել օրգանիզմում և լայնորեն կիրառվում են ռետրոսպեկտիվ վերլուծության համար: Ընդ որում՝ տրանսլոկացիաների մեծ մասը ռեցիպրոկ տիպի են, մինչդեռ չհավասարակշռված տրանսլոկացիաների քանակը 4 Գր ճառագայթման ժամանակ կազմում է մոտ 5 %:

Իոնացնող ճառագայթմամբ մակաձված տրանսլոկացիաները նույնականացնելու նպատակով կիրառում են ամբողջական քրոմոսոմային ներկմամբ (WCP) ֆլյուորեսցենտ *in situ* հիբրիդիզացիայի (FISH) մեթոդը: Բացահայտվել է, որ իոնացնող ճառագայթմամբ մակաձված փոխանակային տիպի աբեռացիաներն ունեն պատահական բնույթ, և քրոմոսոմների միջև այս աբեռացիաների հաճախականությունը համեմատական է դրանց չափերին: Ուստի չափերով ավելի մեծ քրոմոսոմները համեմատաբար ավելի հաճախ են մտնում տրանսլոկացիաների մեջ: Որպես կանոն WCP-FISH մեթոդով ներկում են մեծ քրոմոսոմներից (#1-#12) երեքը, որոնք կազմում են գենոմի մոտ 22 %-ը և թույլ են տալիս բացահայտել տրանսլոկացիաների 36 %-ը: Առավել հաճախ ներկում են #1, #2 և #4 քրոմոսոմները, որից հետո կարելի է իրականացնել էքստրապոլյացիա՝ գենոմային համարժեքի բացահայտման համար: Ցույց է տրվել, որ միջքրոմոսոմային փոխանակությունների սպոնտան թիվը կազմում է 0.974 (F_8): Եթե գենոմի f մասը ներկվի կանաչ գույնով, իսկ մնացած մասը՝ 1- f կապույտով (DAPI կոնտրոլներով), ապա կանաչ-կանաչ փոխանակությունները կլինեն f^2 , կապույտ-կապույտ փոխանակությունները՝ $(1-f)^2$,

կապույտ-կանաչ փոխանակությունները՝ $2f(1-f)$, որոնք միասին կազմում են 1: Այս դեպքում բոլոր կապույտ-կանաչ տրանսլոկացիաների մասնաբաժինը կկազմի՝

$$\frac{F_p}{F_g} = \frac{2f(1-f)}{0,974} = 2,05f(1 - f):$$

F_p – FISH մեթոդով բացահայտված տրանսլոկացիաների հաճախականությունը,

F_g – ամբողջ զենոմային տրանսլոկացիաների հաճախականությունը:

Օրինակ

Ենթադրենք #1, #2 և #4 քրոմոսոմները ներկվել են կանաչ գույնով: Դրանց ԴՆԹ-ի զենոմային մասնաբաժինները կազմում են համապատասխանաբար 0.0828, 0.0804 և 0.0639: Ուստի $f = 0.0828 + 0.0804 + 0.0639 = 0.2271$, իսկ $F_p/F_g = 0.36$: Հետևաբար այս քրոմոսոմների կոմբինացիայի մեկ գույնով ներկումը թույլ է տալիս բացահայտել ներկված քրոմոսոմների մասնակցությամբ տրանսլոկացիաների 36 %-ը: Յուրաքանչյուր քրոմոսոմ առանձին գույնով ներկման դեպքում կիրառում են հետևյալ բանաձևը՝

$$F_p = 2.05[f_p(1 - f_p) + f_{p1}f_{p2} + f_{p1}f_{p3} + f_{p2}f_{p3}]F_g:$$

F_p – բոլոր ներկված քրոմոսոմների փոխանակային արեռացիաների գումարային հաճախականությունը,

f_p – զենոմի այն մասն է, որը կազմում են բոլոր ներկված քրոմոսոմները միասին,

f_{p1} , f_{p2} , f_{p3} – զենոմի այն մասերն են, որոնք կազմում են յուրաքանչյուր ներկված քրոմոսոմ,

F_g – ամբողջ զենոմային համարժեք:

Տրանսլոկացիաների վերլուծությունը Հիրոշիմայի ոմբակոծությունից 2 կմ հեռավորության վրա գտնված մարդկանց խմբում

բացահայտել է տրանսլոկացիաների մակարդակի զգալի բարձրացում՝ համեմատած չճառագայթված մարդկանց հետ: Ստացված արդյունքները համապատասխանում էին դոզա-էֆեկտ կորերի հիման վրա կատարված նախնական տվյալներին: Տրանսլոկացիաների հաճախականության բարձրացում դիտվել էր նաև Մայակ գործարանի նախկին աշխատակիցների մոտ, ինչը, սակայն ավելի ցածր էր, քան սպասվում էր՝ հիմնվելով անհատական դոզիմետրիայի և դոզա-էֆեկտ կորերի տվյալների վրա:

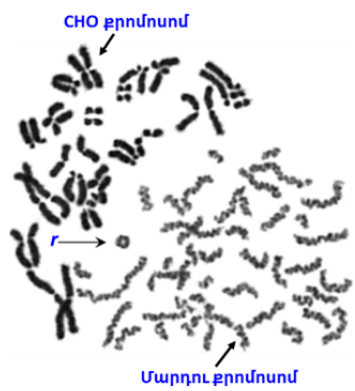
Տրանսլոկացիաների վերլուծության արդյունավետությունը ցույց է տրվել նաև ռադիոակտիվ տրիտիումով հագեցած գոլորշիների ազդեցությանը ենթարկված անձի մոտ: Ճառագայթահարվածի մեզում տրիտիումի կոնցենտրացիայի չափումը ցույց է տվել 0.47 Գր կլանված դոզա, որը համապատասխանում էր նաև դիցենտրիկների վերլուծության տվյալներին: Այս պատահարից 11 տարի անց, երբ դիցենտրիկների վերլուծությունն այլևս արդյունավետ չէ (կիսակյանքի տևողությունը՝ 3.3 տարի), FISH դոզիմետրիայի միջոցով ստացված չափաբաժին-ազդեցություն կորերի վերլուծությամբ ստացվեց 0.48 Գր կլանված դոզա:

Այսպիսով՝ տրանսլոկացիաները կարող են գոյատևել տարիներ շարունակ և ճառագայթման կլանված դոզաների բացահայտման համար արդյունավետ կենսաբանական վերջնարդյունք են: Դրանք կիրառվում են նաև տիեզերագնացների մոտ զենոմային անկայունության և կլանված դոզաների գնահատման ժամանակ: Սակայն հարկ է նշել, որ բարդ տիպի փոխանակություններով (ներառում են նվազագույնը երեք կտրվածքներ և երկու քրոմոսոմ) բջիջները կարող են էլիմինացվել, ինչը սահմանափակող գործոն է:

Քրոմոսոմային խաթարումների վերլուծությամբ բիոդոզիմետրիայի կարևոր սահմանափակումներից մեկն այն է, որ ճառագայթումը մակաձում է բջջային ցիկլի արգելակում և բջջի մահ, որի արդյունքում կարող է առաջանալ վերլուծվող արեռացիանե-

րի մակարդակի նվազում և ճառագայթման դոզայի թերագնահատում, ինչը հատկապես արտահայտված է բարձր դոզաներով ճառագայթման ժամանակ: Այս խնդիրը հաղթահարելու համար մշակվել է քրոմոսոմների վաղաժամ կոնդենսացման թեստը (անգլերեն՝ premature chromosome condensation, PCC), որը թույլ է տալիս բացահայտել ինտերֆազային քրոմոսոմների վնասվածքները: PCC մեթոդը թույլ է տալիս բացահայտել ցածր և խիստ բարձր դոզաներով մակաձված քրոմոսոմային աբեռացիաներն առանց բջջային ցիկլի խաթարման: Ներկայումս տարբերում են PCC մեթոդի երկու հիմնական տիպեր՝ G0/G1 ու G2:

G0/G1-PCC մեթոդի իրականացման ժամանակ մարդու ինտերֆազային լիմֆոցիտները միաձուլում են միտոտիկ CHO (կամ HeLa) բջիջների հետ պոլիէթիլեն գլիկոլի (կամ Սենդաի վիրուսի) մասնակցությամբ (Նկ. 45):



Նկար 45. G0/G1-PCC մեթոդով ստացված քրոմոսոմներ: Երևում է ճառագայթմամբ մակաձված օղակաձև քրոմոսոմը (*x*) (Lamadrid et al., 2013)

Ինտերֆազային քրոմոսոմների կոնդենսացումը տեղի է ունենում միտոտիկ բջիջների MPF (միտոզը խթանող գործոն) գործոնի ազդեցությամբ, որը ֆոսֆորիլացնում է կոնդենսինները: Արդյունքում ինտերֆազային քրոմոսոմները դառնում են տեսանելի բջջագենետիկական վերլուծության համար: G0/G1-PCC մե-

թողի կիրառմամբ Կերպա նահանգի (Հնդկաստան) բարձր (>1.5 մԳր/տարի) ու նորմալ (<1.5 մԳր/տարի) բնական ճառագայթային ֆոն ունեցող տեղամասերում բնակվողների մոտ քրոմոսոմային վնասվածքների վերլուծությունը ցույց չի տվել հավաստի տարբերություններ: Սակայն բարձր ճառագայթման ֆոնի պայմաններում բնակվող մարդկանց արյան *in vitro* γ ճառագայթումը 2 Գր դոզայով հանգեցրել էր ավելի բարձր հաճախականությամբ վաղ ռեպարացիային (ճառագայթումից 1 ժամ անց)՝ համեմատած նորմալ ճառագայթային ֆոն ունեցող տեղամասի հետ:

G2-PCC մեթոդի իրականացման ժամանակ մարդու ինտերֆազային լիմֆոցիտները մշակվում են սերին/թրեոնին ֆոսֆատազի արգելակիչ քիմիական միացություններով (կալիկուլին A, օկադայաթթու), ինչը մակածում է քրոմոսոմների վաղաժամ կոնդենսացում: Այս մեթոդն ունի մի շարք առավելություններ G0/G1-PCC մեթոդի նկատմամբ, որոնցից են կարճատև կուլտիվացումը (10-30 ր՝ 2-4 ժ փոխարեն) ու միտոտիկ ինդեքսի ավելի բարձր արժեքները (>20 %՝ 1-2 % փոխարեն): G2-PCC մեթոդի կիրառմամբ նկարագրվել են 5-20 Գր ռենտգենյան ու պրոտոնային ճառագայթմամբ մակածված քրոմոսոմային վնասվածքների գծային կախվածությունը դոզայից, ինչը խոստումնալից մեթոդ է ճառագայթման բարձր դոզաների գնահատման համար:

Այսպիսով՝ PCC մեթոդը թույլ է տալիս նվազեցնել քրոմոսոմային աբեռացիաների վերլուծության ժամանակը արյան նմուշառումից հետո (3-4 ժ՝ 48-72 ժ փոխարեն), ինչպես նաև խուսափել բջջային կիսումները խթանելու փուլից: Սա հատկապես կարևոր է բարձր դոզաներով ճառագայթահարման դեպքում, որի ժամանակ ընկճվում է լիմֆոցիտների կիսվելու ունակությունը: Միևնույն ժամանակ PCC մեթոդը զգալիորեն բարձրացնում է ցածր դոզաների մուտագենության գնահատման զգայնությունը, քանի որ այս մեթոդով նույնականացվում են առաջնային վնասվածքները:

PCC մեթոդը կիրառվել է Տոկախմուրա (Ճապոնիա) աստուակայանի կրիտիկալության (անվերահսկելի միջուկային շղթայական ռեակցիա) պատահարի ժամանակ երեք անձանց բիոդոզիմետրիայի համար: Օղակաձև քրոմոսոմների վերլուծության հիման վրա պարզվել է, որ հիվանդները ստացել են համապատասխանաբար >20, 7.4 և 2.3 Գր ճառագայթման դոզաներ (նեյտրոններ և γ ճառագայթում), ինչը քիչ էր տարբերվում ֆիզիկական դոզիմետրիայի տվյալներից՝ 17-24 Գր, 8.7-13 Գր և 2.5-3.6 Գր: Առավել բարձր դոզայով (>20 Գր) ճառագայթված հիվանդը մահացել էր 83 օր անց, իսկ 8.7-13 Գր ստացած հիվանդը՝ 211 օր անց:

Իոնացնող ճառագայթումը մակածում է նաև միտոքոնդրիոմների ու մտԴՆԹ վնասվածքներ: Օրինակ՝ ցույց է տրվել, որ ամբողջական մարմնի ճառագայթահարում ու քիմիաթերապիա անցած հիվանդների մոտ մտԴՆԹ-ի կետային մուտացիաներն ու դելեցիաներն ավելի հաճախ են հանդիպում՝ համեմատած ստուգիչ խմբի հետ: Մարդու մտԴՆԹ-ի օղակաձև մոլեկուլը, որը կազմված է 16.569 նգ, չի փոխազդում հիստոնային սպիտակուցների հետ, և ռեպարացիայի ակտիվությունն այս օրգանոիդում զգալիորեն ցածր է (**կառուցվածքի համար տե՛ս Գլուխ 5.10**): Դրա արդյունքում մուտագենների ազդեցությամբ մտԴՆԹ վնասվածքների առաջացման ու կուտակման հավանականությունը խիստ բարձր է:

Վերջին տարիներին կատարված մի շարք հետազոտությունների արդյունքում բացահայտվել է մտԴՆԹ-ում առավել հաճախ հանդիպող դելեցիաներից մեկը՝ Δ մտԴՆԹ⁴⁹⁷⁷ (մտԴՆԹ-ում 8.470-13.446 տեղամասում) (**Նկ. 46**): Այն հանդիպում է ծերացման ժամանակ տարբեր հյուսվածքներում, Ալցհեյմերի, Պիրսոնի և Կերն-Սայերի համախտանիշների, քրոնիկ պրոգրեսիվ արտաքին օֆթալմոպլեզիայի (աչքերի և կուպերի շարժման անունակություն), միոպաթիաների (մկանային թուլություն) և քաղցկեղի մի շարք տեսակների ժամանակ: Ենթադրվում է, որ այս մուտացիայի

առաջացման պատճառը օքսիդային սթրեսն է, որի արդյունքում դելեցվում են կոմպլեքս I ենթամիավորներ, կոմպլեքս IV ենթամիավորը, երկու կոմպլեքս V ենթամիավորներ ու հինգ փՌՆԹ-ներ կոդավորող գեներ, որոնք անփոխարինելի են միտոքոնդրիոմների նորմալ գործունեության համար:



Նկար 46. Ներկայացված են մարդու միտոքոնդրիոմային գենոմի սխեման ու տարածված Δ մտՂՆԹ⁴⁹⁷⁷ դելեցիայի տեղակայումը (Vecoli et al., 2020):

Բացահայտվել է Δ մտՂՆԹ⁴⁹⁷⁷ դելեցիայի կապն իոնացնող ճառագայթման դոզաների հետ: Օրինակ՝ մարդու ֆիբրոբլաստների կուլտուրայում ցույց է տրվել դոզայից կախված Δ մտՂՆԹ⁴⁹⁷⁷ հաճախականության բարձրացում 0.1-10 Գր դոզաներով ճառագայթահարման ժամանակ: Չերնոբիլի պատահարից տուժած անձանց թիրոիդ քաղցկեղի բջիջներում ցույց է տրվել Δ մտՂՆԹ⁴⁹⁷⁷ դելեցիայի ավելի բարձր մակարդակ՝ համեմատած սպորադիկ դեպքերի հետ: Հետագայում ամբողջական մարմնի ճառագայթում ստացած անձանց արյան լիմֆոցիտներում ցույց է տրվել այս մուտացիայի մակարդակի նվազում՝ կախված դոզայից, ինչը պայմանավորված էր լիմֆոցիտների երկու տարբեր պոպուլյացիաների առկայությամբ: Ենթադրվում է, որ Δ մտՂՆԹ⁴⁹⁷⁷ դելեցիայի

բարձր հաճախականությամբ բջիջներն առավել հակված են ապոպոտոզի, մինչդեռ ցածր հաճախականությամբ բջիջները ռադիոռեզիստենտ են: Հետևաբար բարձր դոզայով (9 Գր) ճառագայթահարման դեպքում Δ մտԴՆԹ⁴⁹⁷⁷ դելեցիայով բջիջների հաճախությունը կնվազի: Δ մտԴՆԹ⁴⁹⁷⁷ դելեցիայի ավելի բարձր հաճախականությունն ցույց է տրվել նաև արևահարված մարդկանց մաշկի բջիջներում, ինչը կարող է պայմանավորված լինել ուլտրամանուշակագույն ճառագայթների ազդեցությամբ:

Իոնացնող ճառագայթումը մակաձուռ է նաև մտԴՆԹ-ի կրկնօրինակների թվի ավելացում, որը կոչվում է «միտոքոնդրիումային պոլիպլոիդացում»: Ենթադրվում է, որ դա ունի կոմպենսատոր ու հարմարվողական նշանակություն հետճառագայթային փուլում վերականգնվող բջիջների համար:

Վերջին տարիներին կատարված հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ իոնացնող ճառագայթման ուշ և ոչ թիրախային էֆեկտները կապված են միտոքոնդրիումների վնասվածքների հետ: Իոնացնող ճառագայթման ազդեցությամբ բարձրանում է միտոքոնդրիումների պերմեաբիլությունը (թափանցելիությունը): Ճառագայթման ազդեցությամբ ցիտոպլազմայում բարձրանում է Ca^{2+} մակարդակը և կլանվում է միտոքոնդրիումների կողմից, որի հետևանքով մակաձվում է միտոքոնդրիումային մեմբրանի ապաբևեռացում ու ակտիվ ռադիկալների գերարտադրություն: Վերջիններս օքսիդացնում են տարբեր բջջային մոլեկուլները, ներառյալ կորիզային ԴՆԹ-ն ու մտԴՆԹ-ն: Սակայն այս տվյալների բիոդոզիմետրիկ նշանակությունը պարզելու համար անհրաժեշտ է իրականացնել տվյալների ստանդարտացում և դոզա-էֆեկտ կորերի կառուցում, որոնք համեմատելի կլինեն քրոմոսոմային աբեռացիաների տվյալների հետ: Ուստի ճառագայթմամբ մակաձված մտԴՆԹ վնասվածքների վերլուծությունը բացում է նոր ու խոստումնալից ասպարեզ ճառագայթային կենսաբանության ոլորտում:

4.2.5. Իոնացնող ճառագայթման բայաթենդեր էֆեկտները

«Բայաթենդեր էֆեկտ» (կամ դիտորդի էֆեկտ) տերմինն առաջին անգամ կիրառվել է 1964 թ. սոցիալական հոգեբանության ոլորտում, որի համաձայն՝ տուժած մարդուն շրջապատի անհասներն ավելի քիչ հավանականությամբ են ցանկանում օգնել, եթե այդ պահին իրենց շրջապատում կան այլ մարդիկ: Այս վարկածն առաջ քաշվեց նույն թվականին «*The New York Times*» ամսագրում Քեթրին (Քիթի) Ջենովիզի սպանությունը լուսաբանող հոդվածի տպագրումից հետո: Հոդվածում նշվում էր, թե Ջենովիզի օգնության ճիչերը լսել են 38 վկաներ, որոնցից ոչ մեկը չի գանգահարել ոստիկանություն կամ փորձել օգնել զոհին: Հետագայում պարզվեց, որ այս տեղեկությունները սուտ էին, և որոշ վկաներ փորձել էին հասնել օգնության: Վերջին տարիներին կատարված հետազոտությունները հերքում են բայաթենդերի սկզբնական վարկածը՝ ցույց տալով, որ օգնության կարիք ունեցող անհատին >90 % դեպքերում մարդիկ ձգտում են օգնել:

Իոնացնող ճառագայթման **բայաթենդեր էֆեկտը** (անզլերեն՝ radiation-induced bystander effect) դրսևորվում է չճառագայթահարված բջիջներում ճառագայթահարված բջիջներին բնորոշ վնասվածքների առաջացմամբ ու բջջային պատասխանով, որն ունի գծային կախվածություն դոզայից: Այս երևույթի մեխանիզմները սկսվել են ակտիվորեն ուսումնասիրել 1990-ական թվականներից, երբ α մասնիկների 0.31 մԳր դոզայով ճառագայթահարված CHO բջիջների 30 %-ի մոտ դիտվել էին քույր քրոմատիդային փոխանակություններ, մինչդեռ α մասնիկներն անցել էին միայն 1 % բջիջների կորիզներով: Սա նշանակում է, որ ճառագայթահարված բջիջներից մոլեկուլային ազդակներ են փոխանցվում չճառագայթահարված հարևան բջիջներին և մակաձուռում ԴՆԹ ու քրոմոսոմների վնասվածքներ, միկրոկորիզներ, ապոպտոզ, սենեսենս, ընկճում կլոնոգեն աճը, ինչպես նաև կարող է մակաձվել բջջային տրանսֆորմացիա:

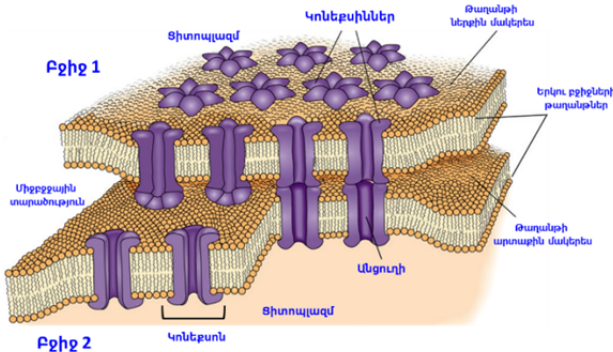
Իոնացնող ճառագայթումը մակածում է գեների էքսպրեսիայի գլոբալ փոփոխություն, որը հանգեցնում է ցիկլոօքսիգեննազ 2, NO սինթազի, պրոստագլանդինների, նախաբորբոքային ցիտոկինների (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-33), աճի գործոնների (PDGF-AA, TGF- α , TGF- β 1) ու քեմոկինների (IL-8, MCP-1, IP-10) ձերբագատում, որոնք կարող են առաջացնել տարբեր տիպի բայթենդեր էֆեկտներ: Օրինակ՝ բայթենդեր բջիջներում TGF- β 1 ակտիվացնում է NADPH օքսիդազն ու Ca^{2+} ներհոսքը, որը բարձրացնում է ակտիվ ռադիկալների ու ԴՆԹ-ի երկշղթա կտրվածքների (γ -H2AX) մակարդակները: Միննույն ժամանակ TGF- β 1 արգելակում է լիմֆոցիտների, նատուրալ քիլերների ու մակրոֆագերի պրոլիֆերացիան ու նպաստում ուռուցքի աճին:

Հետաքրքիր է իմանալ, թե ինչպես են տարբեր գործոնները պայմանավորում բայթենդեր էֆեկտները:

Բայթենդեր էֆեկտի առաջացման համար անհրաժեշտ է, որ ճառագայթահարված ու չճառագայթահարված բջիջները միմյանց հետ փոխազդեն **ճեղքային կոնտակտների** (ուղղակի կապ) կամ ճառագայթահարված բջիջներից **արտաբջջային միջավայր արտազատվող գործոնների** (անուղղակի կապ) միջոցով:

Ուղղակի կամ հաղորդակցական փոխազդեցության տեսակներից է **միբջջային ճեղքային կոնտակտների** (նեքսուս) առաջացումը: Ճեղքային կոնտակտներն առաջանում են 2-4 նմ հեռավորությամբ երկու բջիջների մեմբրանների միջև կոնեքսինային սպիտակուցների (անողնաշարավորների մոտ՝ ինեքսիններ) միջոցով, որոնք ձևավորում են մոտ 1.2-1.5 նմ տրամագծով անցուղի: Այսպիսի անցուղիներով հարևան բջիջների ցիտոպլազմաները կարող են փոխանակվել իոններով (օրինակ՝ K^+ and Ca^{2+}), երկրորդային ազդակներով (օրինակ՝ ցիկլիկ ադենոզին մոնոֆոսֆատ, ցիկլիկ գուանոզին մոնոֆոսֆատ (gGՄՖ), ինոզիտոլ 1,4,5-եռֆոսֆատ), փոքր մոլեկուլային զանգվածով մետաբոլիտներով (օրինակ՝ գլյուկոզ) և փոքր ինտերֆերենցող ՌՆԹ-ներով (**Նկ. 47**):

Ճեղքային կոնտակտների առաջացման ժամանակ կոնեքսինները ֆոսֆորիլացվում են, որի արդյունքում տեղի է ունենում 6 կոնեքսինների օլիգոմերիզացում, հետո՝ տեղափոխում բջջաթաղանթ, որտեղ ձևավորվում են կոնեքսոնային թիթեղները:

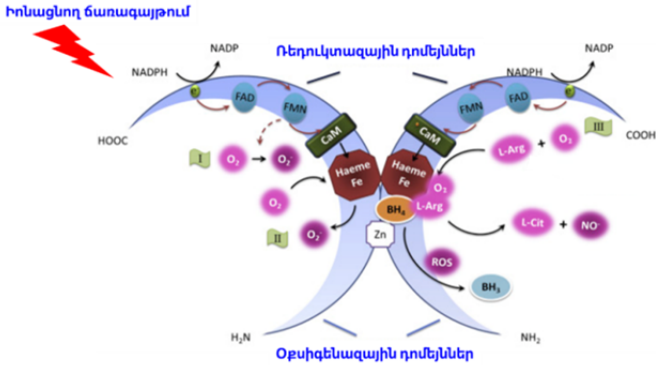


Նկար 47. Ճեղքային կոնտակտներով փոխազդող երկու բջիջ (Staveley, 2017):

Ցույց է տրվել, որ մարդու ֆիբրոբլաստներում ճառագայթման բայսթենդեր էֆեկտը (միկրոկոորիզների մակարդակը) կարելի է ընկճել գլիցիռետինաթթվով, որն ակտիվացնում է ֆոսֆատազները (դեֆոսֆորիլացնող ֆերմենտներ) և արգելակում կոնեքսոնային թիթեղների ձևավորումը: Սակայն ճեղքային կոնտակտների առկայությունը պարտադիր չէ բայսթենդեր էֆեկտների առաջացման համար: Օրինակ՝ չճառագայթահարված բջիջների կուլտիվացումը Չերնոբիլի վթարի արդյունքում ճառագայթված մարդկանց ու ռադիոթերապիայով բուժվողների արյան պլազմայով մակաձուր է քրոմոսոմային վնասվածքներ: Ուստի այս մարդկանց արյան մեջ առկա են կլաստոգեն գործոններ, որոնք կարող են պահպանվել ավելի քան 20 տարի: Սակայն դրանց բնույթը դեռևս լիովին չի պարզաբանվել: Այսպիսով՝ բայսթենդեր էֆեկտը կարող է միջնորդվել նաև արտաբջջային միջա-

վայր ձերբագատվող գործոններով: Բայթենդեր էֆետկը պայմանավորող գործոններից կարող են լինել ճառագայթմամբ մակածված ակտիվ ռադիկալները: Սակայն ակտիվ ռադիկալները գոյություն են ունենում կարճ ժամանակահատվածում և թթվածնի առկայության պայմաններում փոխարկվում են պակաս ռեակցիոնունակությամբ գերօքսիդի: Ցույց է տրվել, որ գերօքսիդները կարող են գոյություն ունենալ մինչև 20 ժամ, ինչը բավական է այլ բջիջներ տեղափոխվելու ու դրանք վնասելու համար: Այս վարկածը ստուգվել է ակտիվ ռադիկալներն ու գերօքսիդը չեզոքացնող նյութերի՝ դիմեթիլսուլֆօքսիդի ու վիտամին C-ի կիրառմամբ, որոնք նվազեցնում են քրոմոսոմային աբեռացիաների մակարդակը բայթենդեր բջիջներում: Սակայն բայթենդեր բջիջներում առաջացող գլոբալ բջջային պատասխանը չի բացատրվում միայն ճառագայթմամբ մակածված օքսիդային սթրեսով, ուստի գոյություն ունեն այլ գործոններ, որոնք կարող են նպաստել բայթենդեր էֆեկտի առաջացմանը:

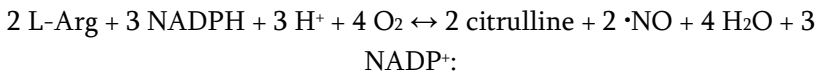
Հայտնի է, որ իոնացնող ճառագայթումը բարձրացնում է NO սինթազների ակտիվության մակարդակը: NO սինթազները հոմոդիմերներ են, որոնց յուրաքանչյուր մոնոմեր պարունակում է N-տերմինալ օքսիգենազային դոմեյն ու C-տերմինալ ռեդուկտազային դոմեյն, որոնք միացած են կալմոդուլին կապող դոմեյնով՝ ռեդուկտազից օքսիգենազային դոմեյն էլեկտրոնի փոխանցման համար: Ցուրաքանչյուր մոնոմերի օքսիգենազային դոմեյնը պարունակում է կատալիտիկ հեմի, տետրահիդրոբիոպտերինի (BH⁴՝ նեյրոմեդիատորիների կենսասինթեզի կոֆակտոր) ու L-արգինինի կապման տիրույթներ, իսկ ռեդուկտազային դոմեյնը՝ NADPH (անգլերեն՝ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate), ֆլավին ադենին դինուկլեոտիդի (ՖԱԴ) ու ֆլավին մոնոնուկլեոտիդի (ՖՄՆ) կապման տիրույթներ: Օքսիգենազային դոմեյնը ծառայում է որպես դիմերիզացման սայթ, որը կորդինացվում է Zn²⁺ իոններով (Նկ. 48):



Նկար 48. NO սինթազի հունդիմերներ: I) մոնոմերի վիճակում սինթազն NO⁻ փոխարեն առաջացնում է O₂; II) հունդիմերի վիճակում, եթե L-արգինինի (L-Arg) մակարդակը բավարար չէ, այս գործընթացը շարունակվում է; III) L-Arg-ի բավարար քանակության դեպքում տեղի է ունենում NADPH-ից էլեկտրոնի փոխանցում ՖՄՆ, ՖՄՆ ու կալմոդուլինին (CaM), որից էլ պրոտոպորֆիրինին (Haeme Fe), որի արդյունքում սինթեզվում է NO (Zhao et al., 2015):

Ինչպե՞ս է իոնացնող ճառագայթումն ազդում NO սինթազների ակտիվության վրա: Իոնացնող ճառագայթումը մակածում է ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքների ռեպարացիային մասնակցող ATM ու PKC կինազների ակտիվացում: ATM-ն ֆոսֆորիլացնում է տարբեր սպիտակուցներ, այդ թվում՝ Akt սպիտակուցը S473 դիրքում: Ակտիվացած Akt սերին/թրեոնին կինազը ֆոսֆորիլացնում է NO սինթազը տերմինալ ռեդուկտազային NADPH կատալիտիկ դոմեյնի S1177 դիրքում, ինչի արդյունքում բարձրանում է սպիտակուցի աֆինությունը NADPH ու L-արգինինի նկատմամբ: Միևնույն ժամանակ ճառագայթումը մակածում է ներքջային Ca²⁺ իոնների մակարդակի բարձրացում, որոնք կապվում են կալմոդուլինին, ինչի արդյունքում կալմոդուլինի հիդրոֆոբ սայթերը դառնում են հասանելի այլ սպիտակուցների հետ փոխազդեցության համար: PKC կինազը ֆոսֆորիլացնում է NO սինթազը կալմոդուլին կապող դոմեյնի T495 դիրքում, ինչի շնորհիվ կայցիում-

կապված կալմոդուլինը փոխազդում է NO սինթազի հետ: Ակտիվացած NO սինթազում NADPH-ից էլեկտրոնը ռեդուկտազային դոմեյնով փոխանցվում է BH4-ի ու ֆլավինների միջնորդությամբ դեպի օքսիդենազային դոմեյն, որի արդյունքում հեմի կենտրոնում Fe^{3+} վերականգնվում է մինչև Fe^{2+} և փոխազդում մոլեկուլային թթվածնի հետ՝ ձևավորելով $Fe^{2+}-O_2$ կոմպլեքսը: Վերջինս օքսիդացնում է L-արգինինի գուանիդինային մնացորդը, ինչի արդյունքում առաջանում է ցիտրուլին, և անջատվում են $\bullet NO$ ռադիկալներ (Նկ. 48).



$\bullet NO$ -ն հիդրոֆոբ է և հեշտությամբ դիֆուզվում է բջջային թաղանթներով՝ մասնակցելով իմունային, սիրտանոթային ու նյարդային համակարգերում մոլեկուլային ազդանշանի փոխանցմանը, ինչպես նաև հզոր անոթալայնիչ է (անոթային հարթ մկանների ռելաքսացիայի պատճառով): Ֆիզիոլոգիական պայմաններում $\bullet NO$ անոթալայնիչ հատկությունը պայմանավորված է լուծելի գուանիլատ ցիկլազի հետ փոխազդեցությամբ ու դրա ակտիվացմամբ: Գուանիլատ ցիկլազը ԳԵՖ-ից սինթեզում է ցԳՄՖ, որը կապվում և ակտիվացնում է ցԳՄՖ կախյալ սերին/թրեոնին կինազին (PKG): PKG կինազը ֆոսֆորիլացնում է միոզին ֆոսֆատազն ու ներբջջային Ca^{2+} իոնների մակարդակը կարգավորող իոնային անցուղիները (պոմպերը): Միոզին ֆոսֆատազը դեֆոսֆորիլացնում է միոզինի թեթև շղթան, իսկ ակտիվացված իոնային անցուղիներով առաջանում է Ca^{2+} իոնների արտահոսք: Այս փոփոխությունների արդյունքում խաթարվում է միոզինի կոնտրակտիլ ֆունկցիան, առաջանում են բջջաթաղանթի կտրուկ ապարենոացում, մկանային ռելաքսացիա և անոթալայնացում:

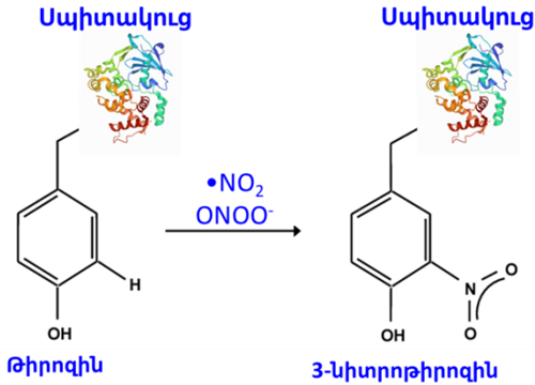
Անոթներում $\bullet NO$ -ն արգելակում է թրոմբոցիտների ագրեգացիան ու լեյկոցիտների ադիզիան էնդոթելային բջիջների մակե-

րեսին: Նեյտրոֆիլներում ակտինի պոլիմերիզացումը խթանող պրոֆիլինի S-նիտրոզիլացման արդյունքում բարձրանում է չպոլիմերիզացված ու կարճ F-ակտինի կոնցենտրացիան բջջում: Դրա հետևանքով ընկճվում է ակտինի հետ փոխազդող β ինտեգրինի կլաստերիզացիան բջջաթաղանթում և ինտեգրին կախյալ ադիեզիան: Ինչպես նաև նվազում է էնդոթելային սելեկտինների էքսպրեսիան, որը նույնպես ընկճում է լեյկոցիտների ադիեզիան էնդոթելի բջիջների հետ:

Բացահայտվել է, որ բայսթենդեր բջիջներում ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքների առաջացումը կախված է •NO-ի մակարդակից: Այսպես՝ •NO կլանող տետրամեթիլիմիդազոլինը արգելակում է միկրոկորիզների առաջացումը բայսթենդեր բջիջներում: Սակայն •NO ռադիկալները խիստ ռեակցիոնունակ են և ակտիվորեն փոխազդում են տարբեր սուբստրատների հետ: Ուստի հետաքրքիր է իմանալ, թե ինչ կապ գոյություն ունի •NO ռադիկալների ու բայսթենդեր բջիջներում ԴՆԹ վնասվածքների միջև:

Ճառագայթված հյուսվածքում •NO-ն մասնակցում է բջջային պատասխանի կարգավորման սպիտակուցների հետտրանսլյացիոն մոդիֆիկացիաներին: Առավել լավ ուսումնասիրված ուղիները սպիտակուցներում **թիրոզինի նիտրատացումն է ու S-նիտրոզիլացումը:**

Սպիտակուցների նիտրատացմամբ հետտրանսլյացիոն մոդիֆիկացիաներն առաջանում են պերօքսիհիտրիտ (ONOO⁻) անիոնի ու ազոտի դիօքսիդ ռադիկալի (•NO₂) ազդեցությամբ (Նկ. 49), իսկ նիտրատացման ռեակցիաները գլխավորապես առաջանում են թիրոզին, տրիպտոֆան, ցիստեին ու մեթիոնին ամինաթթուներում:



Նկար 49. Սպիտակուցի կառուցվածքում թիրոզինի նիտրատացման հետևանքով առաջանում է 3-նիտրոթիրոզին (Abello et al., 2009):

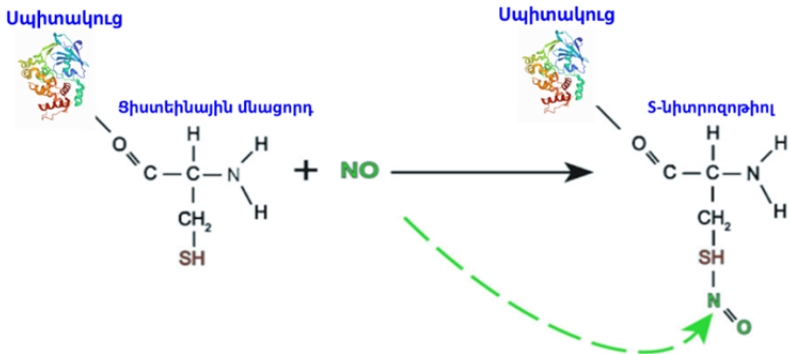
Թիրոզինի նիտրատացումը հյուսվածքների բորբոքման կենսամարկերներից է, որը հանդիպում է սենեսենսի, կանցերոզների ու ուռուցքների աճի ժամանակ: Սպիտակուցներում այսպիսի հետտրանսլյացիոն մոդիֆիկացիաները կարող են մակաձեղնաձև ինակտիվացում կամ գերակտիվացում: Օրինակ՝ նիտրոթիրոզինի առաջացումը կալմոդուլինի Y99 դիրքում ընկճում է NO սինթազին կապվելու հատկությունը, մինչդեռ Y138 դիրքում առաջացումը զգալիորեն բարձրացնում է NO սինթազի ակտիվությունն ու $\cdot\text{NO}$ ռադիկալների քանակը: Նիտրոթիրոզինի բարձր մակարդակը կարող է ընկճել նաև ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքների ռեպարացիային մասնակցող BRCA1 (անգլերեն՝ breast cancer gene 1) գենի էքսպրեսիան: PP2A (անգլերեն՝ protein phosphatase 2A) ֆոսֆատազում նիտրոթիրոզինի առաջացումն ակտիվացնում է այս սպիտակուցը, որը դեֆոսֆորիլացնում է RBL2 (անգլերեն՝ retinoblastoma-like 2) տրանսկրիպցիայի կոռեպրեսորը: Արդյունքում BRCA1 գենի պրոմոտորին կապվում է RBL2/E2F4 ռեպրեսորային կոմպլեքսը, որը ճանաչվում է հիստոն դեգացետիլազների և այլ կոռեպրեսորների կողմից, ինչի արդ-

յունքում բարձրանում է ԴՆԹ աֆինությունը հիստոնների նկատմամբ, և ընկճվում է BRCA1 գենի էքսպրեսիան: Այսպիսի կոմպլեքսի առաջացումը ցույց է տրվել նաև ճառագայթված շագանակագեղձի բջիջներում, որի հետևանքով բարձրանում են ոչ հոմոլոգիական ծայրերի կցման ռեպարացիայի ակտիվությունը ու ինդելների առաջացման ռիսկը:

Իոնացնող ճառագայթումը մակածում է դոզայից կախված թիրոզինի նիտրատացման մակարդակի աճ, որի բայսթենդեր ակտիվությունը ուսումնասիրվել է առնետների ոսկրածուծի բջիջներում: Ցույց է տրվել, որ ճառագայթահարված բջիջների հետ կուլտիվացվող հեմատոպոետիկ բջիջներում զգալիորեն բարձրանում է նիտրոթիրոզինի մակարդակը: Ուստի թիրոզինի նիտրոզացումը տեղաշարժում է ԴՆԹ ռեպարացիան բարձր ճշգրտությամբ հոմոլոգիական ռեպարացիայից դեպի ցածր ճշգրտությամբ ոչ հոմոլոգիական ծայրերի կցման ռեպարացիան:

S-նիտրոզիլացման արդյունքում •NO առաջացնում է կովալենտ կապ ցիստեինի թիոլային խմբի հետ և ձևավորում S-նիտրոզոթիոլ (Նկ. 50), որը կարող է առաջանալ պրոտեոմի մոտ 70 % չափով, և իրականացնում է կարգավորիչ գործառույթներ: Օրինակ՝ շնչուղիներում •NO փոխադրիչ S-նիտրոզոզլյուտաթիոնն ունի բրոնխոդիլատացիոն ազդեցություն (բրոնխալայնիչ), որի կոնցենտրացիայի նվազումը բարձրացնում է ասթմայի ռիսկը: Շնչուղիների հարթ մկանների բջիջներում S-նիտրոզոզլյուտաթիոնը նիտրոզիլացնում և ինակտիվացնում է GRK2 կինազը (անգլերեն՝ G protein-coupled receptor kinase 2), որի արդյունքում չեն ֆոսֆորիլացվում ակտիվացած ու G-կապակցված ընկալիչները (GPCR), որոնցից են β 2-ադրեներգիկ ընկալիչները: Դրա հետևանքով β առեստինը չի փոխազդում և արգելակում GPCR-ի ակտիվությունը: Ուստի β 2-ադրեներգիկ ընկալիչները մնում են ակտիվ և փոխազդում G սպիտակուցի հետերոտրիմերի G α s ենթամիավորի հետ, որն ակտիվացնում է մեմբրանին կապված ադենիլատ

ցիկլազը, ցԱՄՖ-ի սինթեզը և ցԱՄՖ կախյալ պրոտեին կինազը (PKA): Վերջինս միջնորդում է ռեկաքսացիան՝ ֆոսֆորիլացնելով մկանային կծկումների կարգավորմանը մասնակցող սպիտակուցները: S-նիտրոզոթիոլային խմբերը կարող են հեռացվել հակաօքսիդանտային ակտիվությամբ դենիտրոլազների միջոցով (օրինակ՝ թիոռեդոքսինային համակարգ, S-նիտրոզոզյուտաթիոն ռեդուկտազ): Ընդ որում՝ թիոռեդոքսինային համակարգի արգելակումը կարող է բարձրացնել ճառագայթման նկատմամբ գերզգայնությունը:



Նկար 50. Սպիտակուցի կառուցվածքում ցիստեինային մնացորդի նիտրոզիլացումն ու S-նիտրոզոթիոլի առաջացումը (Silva et al., 2014):

Ենթադրվում է, որ բայսթենդեր բջիջներում •NO գենաթունային էֆեկտները կարող են պայմանավորված լինել S-նիտրոզիլացման մեխանիզմով: Օրինակ՝ γ ճառագայթմանը ենթարկված մկների մոտ ցույց է տրվել S-նիտրոզիլացված սպիտակուցների քանակի ավելացում: Հետաքրքիր է, որ մարդու ծայրամասային արյան մշակումը •NO դոնոր S-նիտրոզոզյուտաթիոնով զգալիորեն բարձրացնում է ճառագայթմամբ մակածված քրոմոսոմային աբեռացիաների մակարդակը: Դրա պատճառը կարող է լինել ռեպարացիայի ֆերմենտների ակտիվության խաթարումը S-նիտրոզոթիոլային խմբերի առաջացման պատճառով: Այսպիսի մոդի-

ֆիկացիաներ հայտնաբերվել են ճառագայթված տարբեր բջիջների ԴՆԹ ռեպարացիային մասնակցող ֆերմենտների՝ O⁶-ալկիլգուանին ԴՆԹ ալկիլտրանսֆերազի, 8-օքսոգուանին գլիկոզիլազի, AP էնդոնուկլեազ 1, DNA-PKcs և ԴՆԹ լիզազի կառուցվածքներում: S-նիտրոզիլացումը հանգեցնում է տրանզիցիաների, տրանսվերսիաների, ԴՆԹ միաշղթա ու երկշղթա վնասվածքների առաջացմանն ու բջջի մահվանը: Ներկայումս S-նիտրոզիլացման ուղով բայսթենոներ էֆեկտի մակածումը հետաքրքիր վարկած է, որի փորձնական ապացույցները կարող են օգտակար լինել ռադիոթերապիայի համար:

Ազոտի ու թթվածնի ակտիվ ռադիկալների մակարդակի բարձրացմամբ բայսթենոներ էֆեկտն ուսումնասիրվել է մարդու կերատինոցիտների կուլտուրայում (HaCaT): γ ճառագայթված HaCaT բջիջների միջավայրով չճառագայթված բջիջների մշակումը հանգեցնում էր ROS և \cdot NO մակարդակների բարձրացմանը: Ընդ որում՝ ROS մակարդակը պահպանվում էր 24 ժամ, մինչդեռ \cdot NO մակարդակը՝ 4 ժամ: Այսպիսով՝ կարելի է ենթադրել, որ կարճ կիսակյանք ունեցող \cdot NO ռադիկալների բայսթենոներ էֆեկտները հավանաբար կապված են սպիտակուցների մոդիֆիկացիաներով, մինչդեռ ավելի երկար ժամանակ պահպանվող ROS ռադիկալներն ունակ են մակածելու ԴՆԹ օքսիդացման վնասվածքներ:

Հետաքրքիր է, որ բայսթենոներ էֆեկտը կարող է ամպլիֆիկացվել, ինչի շնորհիվ կենսաբանական էֆեկտը կարող է դիտվել նախնական ճառագայթված բջիջներից համեմատաբար հեռու տեղակայված բջիջներում: Օրինակ՝ ճառագայթահարված բջիջներից անջատված \cdot NO ռադիկալները կարող են փոխազդել հարևան չճառագայթահարված բջիջների հետ, որտեղ կարող է մակածվել \cdot NO ռադիկալներ, որոնք էլ ակտիվացնում են \cdot NO ռադիկալների արտադրությունը հարևան բջիջներում՝ ամպլիֆիկացնելով առաջնային բջիջների բայսթենոներ էֆեկտը: Այս երևույթը նկարագրվել է MCF7 (կրծքագեղձի քաղցկեղի բջիջներ) բջջային

գծում, որի ճառագայթահարման ժամանակ արտադրված •NO ռադիկալները ճնշում են բայսթենդեր ֆիբրոբլաստների Cav-1 (էնդոթելային NO սինթազի արգելակիչ) սպիտակուցի ակտիվությունը և մակածում NO սինթազի գերէքսպրեսիա: Դրա հետևանքով բայսթենդեր ֆիբրոբլաստներն արգելակում են հարևան ֆիբրոբլաստների Cav-1 սպիտակուցն ու ակտիվացնում էնդոթելային NO սինթազը: Այսպիսի բայսթենդեր էֆեկտը կարող է ունենալ ստոխաստիկ ազդեցություն, որի մուտատոր ազդեցությունը (*չպետք է նույնականացնել քաղցկեղի մուտատոր ֆենոտիպի հետ*) կախված է ազոտի ակտիվ ռադիկալներով (NO/RNS) մակածված գենոմային անկայունության աստիճանից և դրա տևողությունից ու բայսթենդեր էֆեկտի ամպլիֆիկացման դաշտից: Օրինակ՝ սուր բորբոքային ռեակցիան հանգեցնում է NO/RNS քանակի ու գենոմային անկայունության կտրուկ բարձրացման: Սակայն կարճատև է լինում և ունենում է ամպլիֆիկացման փոքր դաշտ: Ուստի մուտատոր ազդեցությունը լինում է խիստ ցածր: Մինչդեռ քրոնիկ բորբոքման դեպքում դիտվում է միջին աստիճանի գենոմային անկայունություն, որը պահպանվում է ավելի երկար և ունենում է ամպլիֆիկացման ավելի մեծ դաշտ: Հետևաբար քրոնիկ բորբոքման մուտատոր ազդեցության ռիսկն ավելի բարձր է: Սակայն այսպիսի մուտատոր ազդեցության մուլեկուլային մեխանիզմների նկարագրումն ու դրանց ֆիզիոլոգիական նշանակության գնահատումը դեռևս ապագայի խնդիրներ են:

Մի շարք հետազոտությունների արդյունքներ ցույց են տալիս նաև միտոքոնդրիումների մասնակցությունը բայսթենդեր էֆեկտի կարգավորման գործընթացում: 2012 թ. բացահայտվել է, որ ճառագայթումից առաջ բջիջների մշակումը ցիտոքրոմ c-ի արգելակիչ ցիկլոսպորին A-ով ճնշում է բայսթենդեր բջիջներում միկրոկորիզների ու •NO ռադիկալների առաջացումը: Մինչդեռ ճառագայթված բջջային կուլտուրային ցիտոքրոմ c-ի ավելացումը մասնակիորեն վերականգնում էր բայսթենդեր միկրոկորիզներ-

րի մակարդակը: Այս տվյալներից կարելի է եզրակացնել, որ միտոքոնդրիումներից անջատվում են բայսթենոլեր ակտիվությամբ կլաստոզեն գործոններ, որոնց բնույթը դեռևս պարզաբանման կարիք ունի: Հետաքրքիր է, որ ճառագայթված բջիջներում միկրոկորիզների մակարդակը լիովին չէր վերականգնվում ցիտոքրոմ c-ով մշակելու դեպքում: Ուստի ցիտոքրոմ c-ի ձերբազատումը կարևոր է բայսթենոլեր էֆեկտի առաջացման համար, սակայն առանցքային դերը պատկանում է այլ գործոններին: Հետագայում կատարված աշխատանքները ցույց տվեցին, որ մտՂՆԹ-ից զուրկ բջիջների ճառագայթահարումը չի առաջացնում բայսթենոլեր էֆեկտներ, իսկ ճառագայթահարված բջիջներում միկրոկորիզների մակարդակը զգալիորեն ավելի ցածր է լինում՝ համեմատած վայրի տիպի բջիջների հետ: Այսպիսով՝ բացահայտվեց մտՂՆԹ մասնակցությունը ճառագայթման բայսթենոլեր ու գենաթունային էֆեկտների առաջացման գործընթացում: Իսկ ինչպե՞ս է կապված մտՂՆԹ-ն բայսթենոլեր էֆեկտների առաջացման հետ:

Վերջին տարիների հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ ճառագայթման բայսթենոլեր էֆեկտները կարող են առաջանալ **էքզոսոմներում ներառված մտՂՆԹ-ի** միջոցով:

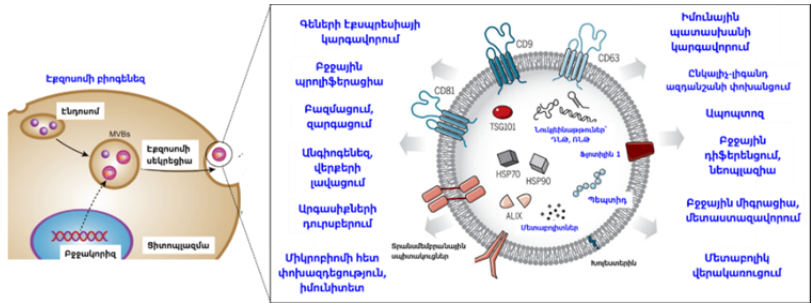
Էքզոսոմները տարբեր տիպի բջիջների կողմից արտաբջջային միջավայր ձերբազատվող թաղանթային կառուցվածքով վեզիկուլներ են (30-150 նմ տրամագծով), որոնք մասնակցում են միջբջջային հաղորդակցմանը և պարունակում են ՌՆԹ-ներ, ՂՆԹ, սպիտակուցներ ու լիպիդներ: Էքզոսոմների մասին «Vesiclepedia» (<http://microvesicles.org>) տեղեկատարանի համաձայն՝ 41 տարբեր օրգանիզմներից անջատված արտաբջջային վեզիկուլներում ընդհանուր թվով հայտնաբերվել են >349.980 սպիտակուցներ, >38.140 ՌՆԹ-ներ և 639 լիպիդներ: Արտաբջջային վեզիկուլներից են նաև միկրովեզիկուլներն ու ապոպտոզային վեզիկուլները, ինչպես նաև էկտոսոմները (նեյտրոֆիլային էքզոսոմներ), պրոստատոմները (շագանակագեղձի էքզոսոմներ), միզ-

րասումները (բջջային միգրացիա մակածող), օնկոսումները (քաղցկեղային բջիջներից առաջացող) և այլն:

Էքզոսումներն առավել ակտիվ արտադրվում են քաղցկեղային ու իմունային բջիջների կողմից, որոնք կարող են ներթափանցել այլ բջիջներ մակրոպինոցիտոզի, բջջային թաղանթի հետ միաձուլման ու կլատրին կախյալ ուղիներով: Մակայն դեռևս հայտնի չեն տարբեր ուղիներով ներթափանցած էքզոսումների պարունակության ներբջջային տեղակայման, դեգրադացման կամ ֆունկցիոնալ ազդեցությունների առանձնահատկությունները: Վերջին տարիներին բացահայտվել է քաղցկեղային բջիջներից առաջացող էքզոսումների թաղանթային ինտեգրինների նշանակությունը հյուսվածքային սպեցիֆիկության համար: Օրինակ՝ ցույց է տրվել, որ թոքերում մետաստազ առաջացնող կրծքագեղձի քաղցկեղի բջիջների էքզոսումները, որոնք պարունակում են ինտեգրիններ $\alpha 6 \beta 4$ և $\alpha 6 \beta 1$, գլխավորապես կլանվում են թոքերի ֆիբրոբլաստների ու էպիթելային բջիջների կողմից *in vivo*: Ընդ որում՝ այսպիսի էքզոսումներով նախապես մշակված մկների թոքերում մետաստազների առաջացման հաճախականությունը կարող է բարձրանալ մինչև 1000 անգամ: Մինչդեռ ենթաստամոքսային գեղձի քաղցկեղից առաջացող էքզոսումները, որոնք պարունակում են $\alpha \nu \beta 5$ ինտեգրիններ, հայտնաբերվում են լյարդի բջիջներում: Հետագա ուսումնասիրություններում բացահայտվեց, որ $\alpha 6 \beta 4$ ու $\alpha 6 \beta 1$ ինտեգրինները կապվում են թոքային հյուսվածքի արտաբջջային մատրիքսում բարձր էքսպրեսիվություն ունեցող լամինիսին, իսկ $\alpha \nu \beta 5$ ինտեգրինները՝ ֆիբրոնեկտինով հարուստ լյարդի Կուպֆերի բջիջների արտաբջջային մատրիքսի հետ: Այսպիսով՝ ուռուցքներից առաջացող էքզոսումները թիրախ օրգաններում ձևավորում են նախամետաստազային խորշը՝ մետաստազների առաջացումը սպեցիֆիկ հյուսվածքում կամ մետաստազների օրգանոտրոպիզմը, մինչդեռ դենդրիտային բջիջների, B և T լիմֆոցիտների էքզոսումներն ունեն արգելակող

ազդեցություն ուռուցքի աճի վրա: Ուստի էքզոսոմները կարող են ունենալ օնկոխթանիչ կամ օնկոսուպրետոր ակտիվություն՝ կախված բջջային ծագումից ու բիոակտիվ մոլեկուլային «բեռից»:

Էքզոսոմների առաջացման մեխանիզմները լիովին չեն պարզաբանվել, սակայն հայտնի է, որ դրանք առաջանում են պլազմային թաղանթի ինվազիոնացիայի ու բազմավեզիկուլային մարմնիկների ձևավորման ճանապարհով (Նկ. 51):



Նկար 51. Էքզոսոմների բիոգենեզը, դրանց պարունակությունը, կենսամարկերներն ու կարգավորիչ ֆունկցիաները (Dai et al., 2020; Kalluri and LeBleu, 2020):

Էքզոսոմների բիոգենեզը սկսվում է պլազմային թաղանթի ներփքման արդյունքում վաղ էնդոսոմի ձևավորմամբ, որից առաջանում են ինտրայլումենալ վեզիկուլներ պարունակող բազմավեզիկուլային մարմնիկներ: Վերջիններս միաձուլվում են պլազմային թաղանթին և ձերբազատում էքզոսոմներն արտաբջջային միջավայր: Բազմավեզիկուլային մարմնիկների ձևավորումը կարգավորվում է տրանսպորտի համար անհրաժեշտ էնդոսոմային տեսակավորման համալիրների (անգլերեն՝ endosomal sorting complexes required for transport, ESCRT) մասնակցությամբ: ESCRT-0 կոմպլեքսը կապվում է մոնոուբիթիտինացված սպիտակուցներին HRS-կապված կլատրին կոմպլեքսի միջոցով, որը կապվում է էնդոսոմային թաղանթին ESCRT-1/2 կոմպլեքսների կողմից: Դրա արդյունքում էնդոսոմային թաղանթում առաջա-

նում է ինվազիանցիա, որի ներփքման սահմանին ESCRT-3 կոմպլեքսն առաջացնում է պարուրաձև սեղմվածք: Վերջինս կտրվում է Alix սպիտակուցի ու VPS4 ԱԵՖազի մասնակցությամբ, ներառվում էնդոսոմի կազմում՝ առաջացնելով ինտրալյումենալ վեզիկուլ: Այսպիսի մի քանի ինտրալյումենալ վեզիկուլների առաջացմամբ ձևավորվում է բազմավեզիկուլային մաքմնիկ (ուշ էնդոսոմներ), որը միաձուլվում է պլազմային թաղանթին Rab ընտանիքի սպիտակուցների (օրինակ՝ Rab27A և Rab27B) միջոցով: Ընդ որում՝ պլազմային թաղանթին միաձուլվող էնդոսոմները հարուստ են խուլետերինով, մինչդեռ խուլեստերինաղքատ էնդոսոմները միաձուլվում են լիզոսոմներին: Էքզոսոմների ձերբագատումը սկսվում է էնդոսոմին կապված սինապտոտազմին սպիտակուցի ու պլազմային թաղանթին գտնվող սինտաքսինի փոխազդեցությունից: Այնուհետև միջթաղանթային SNARE սպիտակուցային կոմպլեքսը (էնդոսոմային V-SNARE և թաղանթային T-SNARE) միջնորդում է թաղանթների միաձուլումն ու էքզոսոմների ձերբագատումն արտաբջջային միջավայր: Ներկայումս անհայտ են մնում էքզոսոմներում տարբեր մոլեկուլային գործոնների ընտրողական ներառման մոլեկուլային մեխանիզմները:

Ճառագայթման բայսթենդեր էֆեկտները կարող են միջնորդվել էքզոսոմներով, ինչը կախված է դրանց մոլեկուլային պարունակությունից: Օրինակ՝ բացահայտվել է **մտԴՆԹ պարունակող էքզոսոմներով մակաձված բայսթենդեր էֆեկտ**: Չճառագայթված ֆիբրոբլաստների մշակումը ճառագայթված ֆիբրոբլաստներից անջատված էքզոսոմներով մակաձում է ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքներ, որոնց հաճախականությունը նվազում է ԴՆԹագոլ մշակված էքզոսոմներով կուլտիվացման պայմաններում: Իսկ մտԴՆԹ ցածր մակարդակ ունեցող $\rho 0$ (կամ Rho0) ճառագայթված բջիջներից անջատված էքզոսոմներով չճառագայթված բջիջների մշակումը չի մակաձում ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքներ: Ուստի էք-

զոսումներում ներառված մտԴՆԹ-ն ունի բայսթենդեր ակտիվություն, որի մոլեկուլային մեխանիզմները դեռևս թերի են ուսումնասիրված:

ՄտԴՆԹ պարունակող էքզոսոմների գենաթունային ակտիվությունը կարող է պայմանավորված լինել բորբոքային ռեակցիայով: Բայսթենդեր էֆեկտը հաճախ ուղեկցվում է ցիտոկինների ձեռքբերմամբ ու բորբոքային պատասխանով: Ընդ որում՝ արտաբջջային մտԴՆԹ-ն նույնպես մակածում է բորբոքային պատասխան: Օրինակ՝ արտաբջջային մտԴՆԹ մակարդակը բարձր է ռևմատոիդ արթրիտով հիվանդների սինովիալ հեղուկներում, իսկ մկների հոդերում մտԴՆԹ ներարկումն առաջացնում է բորբոքում ու արթրիտ: Ուստի ենթադրվում է, որ ԴՆԹ վնասվածքներ կարող են առաջանալ արտաբջջային մտԴՆԹ-ով մակածված բորբոքային պատասխանի միջոցով: Միտոքոնդրիումներից դուրս եկած ԴՆԹ-ն կարող է ճանաչվել PRR (անզլերեն՝ pattern recognition receptor) ընկալիչների (օրինակ՝ cGAS և TLR9) կողմից, ինչը դիտվում է ախտաբանական վիճակների ժամանակ, ներառյալ ինֆեկցիաների, բջջային մահվան, նեյրոդեգեներացիաների, սրտի թերֆունկցիայով և COVID-19 հիվանդների մոտ և այլն: cGAS (անզլերեն՝ cyclic GMP-AMP synthase) սպիտակուցը կապվում է երկշղթա մտԴՆԹ-ին և կատալիզում ցԳՄՖ-ԱՄՖ դիմուկլեոտիդների (ցԳԱՄՖ) սինթեզը: Վերջիններս փոխազդում են STING (անզլերեն՝ stimulator of interferon genes) գործոնի հետ, որը ֆոսֆորիլացվում է TBK1 (անզլերեն՝ TANK-binding kinase 1) կինազի կողմից և ակտիվացնում ինտերֆերոնների ձեռքբերումը կարգավորող IRF3 (անզլերեն՝ interferon regulatory factor 3) տրանսկրիպցիայի գործոնը: Դրա հետևանքով ակտիվանում են հարյուրավոր ինտերֆերոնով ակտիվացվող գեներ՝ խթանելով բորբոքային ցիտոկինների ու քեմոկինների սինթեզը: Քրոնիկ բորբոքման պայմաններում այս փոփոխությունները նպաստում են լիմֆոցիտների, մակրոֆագերի ու նեյտրոֆիլների կողմից

թթվածնի և ազոտի ակտիվ ռադիկալների ձերբագատմանը, որոնք հարևան բջիջներում մակածում են ԴՆԹ վնասվածքներ ու գենոմային անկայունություն:

ՄտԴՆԹ-ն կարող է ակտիվացնել իմունային պատասխանը՝ էնդոլիզոսոմներում կապվելով TLR9 (անգլերեն՝ toll-like receptor 9) սպիտակուցին: ԴՆԹ-ին կապված TLR9 փոխազդում է MyD88 (անգլերեն՝ myeloid differentiation factor 88) գործոնին, որը նեյտրոֆիլներում ակտիվացնում է MAPK (անգլերեն՝ mitogen-activated protein kinase) կինազն ու NF-κB (անգլերեն՝ nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) գործոնները: Դրա արդյունքում NF-κB տրանսկրիպցիայի գործոնը տեղափոխվում է կորիզ և ակտիվացնում բորբոքային ցիտոկինների ու քեմոկինների սինթեզը:

Արտաբջջային մտԴՆԹ մակարդակի բարձրացում դիտվել է քրոնիկ ճառագայթման ցածր դոզաների ենթարկվող սրտաբանների և տիեզերագնացների արյան պլազմայում: Իսկ COVID-19 հիվանդների մոտ մտԴՆԹ մակարդակը կոռելացվում է հիվանդության ծանրության ու մահացության հետ:

Բայսթենդեր էֆեկտը կարող է ունենալ նաև հակաքաղցկեղային ազդեցություն, որը դիտվել է ռադիոնուկլիդային թերապիայի ժամանակ: *In vivo* պայմաններում դիտվող բայսթենդեր էֆեկտը կոչվում է արսևոպալ էֆեկտ: Օրինակ՝ իտրիում 90 (β ճառագայթման աղբյուր) ռադիոնուկլիդով լյարդի քաղցկեղի բուժման ժամանակ դիտվել է մետաստազների քանակի նվազում, որի հիմքում ընկած է իմունային պատասխանի ակտիվացումը: Վնասված քաղցկեղային բջիջներից ձերբագատվում են ուռուցքասոցացված հակածիններ (անգլերեն՝ tumor-associated antigens, TAA) ու քեմոկիններ (օրինակ՝ MCP-1 և CXCL16), որոնք գրավում են հակածին ներկայացնող բջիջները և բարձրացնում MHC I/II էքսպրեսիան: Արդյունքում շրջանառվող դենդրիտային բջիջները ներկայացնում են TAA գործոնները նախիվ CD4 և CD8 T լիմֆո-

ցիտներին, որոնք դիֆերենցվում են CD4+ T բջիջների ու ցիտոտոքսիկ T բջիջների: Այսպիսի T լիմֆոցիտները թիրախավորում են մետաստազավորված քաղցկեղային բջիջները և ընկճում քաղցկեղի զարգացումը:

Բայսթենդեր/աբսկոպալ էֆեկտի մոլեկուլային մեխանիզմները դեռևս լիովին բացահայտված չեն: Այն կարող է առաջանալ կոնտակտային ու ոչ կոնտակտային ուղիներով՝ ակտիվ ռադիկալների, պերօքսիդացման արգասիքների, բջջային ադիեզիայի սպիտակուցների, իմունային համակարգի բաղադրիչների, արտաբջջային վեզիկուլների, ԴՆԹ-ի և միկրոՌՆԹ-ների մասնակցությամբ: Այդ ուղիների հետազոտումը կարող է բացել նոր հնարավորություններ քաղցկեղի, աուտոիմուն հիվանդությունների, ծերացման և ախտաբանական այլ վիճակների բուժման համար: Միևնույն ժամանակ բայսթենդեր էֆեկտի մոլեկուլային մարկերների նշանակությունը ճառագայթման տարբեր դոզաների կենսաբանական էֆեկտների մոդելավորման համար դեռևս ապագայի խնդիր է:

4.2.6. Իոնացնող ճառագայթման ժառանգական էֆեկտները

Սումատիկ բջիջներում իոնացնող ճառագայթման կենսաբանական էֆեկտների ուսումնասիրումը թույլ է տվել բացահայտել դրա մուտագեն, կանցերոգեն, էպիմուտագեն և գենաթունային ազդեցության մոլեկուլային մեխանիզմները: Իսկ իոնացնող ճառագայթմամբ մակածված քրոմոսոմային արեռացիաների վերլուծության հիման վրա մշակվել են կենսադոզիմետրիայի հիմքում ընկած դոզա-էֆեկտ մոդելները, որոնց վրա հիմնված են ճառագայթային բուժման ու անվտանգության չափորոշիչները: Սակայն ճառագայթված մարդկանց սերունդներում իոնացնող ճառագայթման գենետիկական էֆեկտների գնահատման արդյունքները թույլ չեն տալիս միանշանակ եզրակացություն կատարել դրա տրանսգեներացիոն մուտագեն ազդեցության վերաբերյալ:

Ճառագայթված մարդկանց առավել մեծ պոպուլյացիան կազմում են Հիրոշիմայի ու Նագասակիի ատոմային ռմբակոծությունից հետո կենդանի մնացած մարդիկ, որոնք ռումբի պայթյունի հիպոկենտրոնից գտնվել են տարբեր հեռավորությունների վրա: Այս մարդկանց ու նրանց սերունդների մոտ գենետիկական խաթարումները, կյանքի տևողությունը, քաղցկեղի հաճախականությունն ու այլ կենսաբանական էֆեկտներն ուսումնասիրվում են «Radiation Effects Research Foundation» կազմակերպության կողմից: 1967-1985 թթ. ընթացքում գնահատվել են 1945 թ. ռմբակոծության հիպոկենտրոնից մինչև 2 կմ հեռավորության վրա գտնված ավելի քան 8300 մարդկանց (կլանված դոզան՝ >0.01 Գր, մեդիանան՝ $0.2-0.4$ Գր) սերունդների խմբում քրոմոսոմային արեռացիաների հաճախականությունները: Բացահայտվել է, որ ճառագայթահարված մարդկանց սերնդի քրոմոսոմային արեռացիաների մակարդակը (43 երեխա, 0.52%) հավաստիորեն չի տարբերվում սպոնտան մակարդակից (51 երեխա, 0.64 %):

Ստացված արդյունքները համապատասխանում էին նաև այլ երկրների տվյալների հետ (Աղ. 5).

Աղյուսակ 5. Տարբեր երկրներում քրոմոսոմային արեռացիաների սպոնտան մակարդակները

Երկիր	Քրոմոսոմային արեռացիաների հաճախականությունը, % (n=)
Կանադա (Վինիպեգ)	0.47 (66-ը՝ 13.939-ից)
ԱՄՆ (Բոստոն)	0.61 (84-ը՝ 13.751-ից)
Միացյալ թագավորություն (Էդինբուրգ)	0.67 (78-ը՝ 11.680-ից)
Դանիա (Օրհուս)	0.83 (93-ը՝ 11.148-ից)

Ավելին, նկատվել էր, որ չճառագայթված մարդկանց սերնդի մոտ սեռական քրոմոսոմների տրիսոմիաներն ու աուտոսոմ քրոմոսոմների կառուցվածքային խաթարումների մակարդակներն ավելի բարձր էին՝ համեմատած ճառագայթվածների հետ: Այս

արդյունքների հնարավոր բացատրություններից մեկը կարող է լինել այն, որ ճառագայթամաք մակածված քրոմոսոմային աբեռացիաներով գամետներն էլիմինացվել են գամետոգենեզի ընթացքում կամ էլ հանգեցրել են չգրանցված սպոնտան վիժումների՝ ցածր հաճախականությամբ:

Ուսումնասիրվել է նաև բնածին արատներով երեխաների ծնվելու հաճախականությունը ճառագայթման տարբեր դոզաներ ստացած ճապոնացի ծնողների մոտ: Հետազոտության մեջ ընդգրկվել են 65.431 նորածիններ, որոնցից 594-ը (0.91%) ունեցել են տարբեր տիպի արատներ: Սակայն արատներով ծնված երեխաների հաճախականության ու ծնողների կողմից ճառագայթման կլանված դոզաների հետ կապը չէր բացահայտվել: 0.91 % հաճախականությունը համապատասխանում է նաև 1922-1940 թթ. Տոկիոյի՝ Կարմիր խաչի կողմից ստացված սպոնտան հաճախականության տվյալներին, որտեղ գրանցվել էին 456 բնածին արատներով դեպքեր (0.92%): Այլ չափանիշներ, ինչպիսիք են վաղաժամ ծնունդներն ու պերինատալ մահը նույնպես թույլ չեն տվել բացահայտել կապը ճառագայթման դոզաների հետ:

Ճառագայթվածների հաջորդ խոշոր պոպուլյացիան կազմում են ճառագայթային թերապիայով բուժված մարդիկ, որոնք հետագայում ունեցել են սերունդ: Մի շարք հետազոտություններում F1 սերնդի մոտ գնահատվել են քրոմոսոմային աբեռացիաների, Մենդելյան հիվանդությունների ու բնածին արատների հաճախականությունները, որոնցում նույնպես չեն բացահայտվել կորեյացիաներ ծնողների կողմից ստացված ճառագայթման դոզաների հետ: Ռադիոթերապիայով բուժված իգական սեռի նախկին հիվանդների մոտ ցույց է տրվել ճառագայթման կապը վաղաժամ ծնունդների, նորածինների մոտ ցածր քաշի (<2.500 գ) ու պերինատալ մահերի, բայց ոչ բնածին արատների ռիսկի հետ, մինչդեռ ռադիոթերապիայով բուժված արական սեռի նախկին հիվանդների մոտ նման կորեյացիաներ չեն բացահայտվել: Սա կարելի է

բացատրել նրանով, որ իզական սեռի խմբում դիտված ռիսկի բարձրացումը հավանաբար չի կապված գենետիկական գործոնների հետ, այլ պայմանավորված է արգանդի բջիջների ճառագայթմամբ: Ընդ որում՝ ռիսկի բարձրացումը նկարագրվել է այն կանանց խմբում, որոնք ճառագայթվել են մինչ մենստրուալ ցիկլի մեջ մտնելը, բայց ոչ նրանց մոտ, ովքեր ճառագայթվել են մենարխի փուլից հետո: Նման արդյունքներ գրանցվել են նաև Դանիայում, որտեղ նույնպես չի բացահայտվել ռադիոթերապիայով քաղցկեղից բուժվածների սերունդներում (>14.600 մարդ) քրոմոսոմային աբեռացիաների ու ծնողների ճառագայթման միջև կապ (գոնադային ճառագայթման միջին դոզաներն արական ու իզական սեռերի համար կազմել են համապատասխանաբար 0.95 Գր և 0.91 Գր): Պատճառն այն է, որ քրոմոսոմային աբեռացիաները հանգեցնում են բջջի կենսագործունեությանը մասնակցող բազմաթիվ գեների ֆունկցիոնալ խաթարումների, ինչն էլ մակաձուլ է բջիջների ծրագրավորված մահ (օրինակ՝ ապոպտոզ կամ ֆերոպտոզ):

Հետաքրքիր է, որ կրծողների մոտ ստացված իոնացնող ճառագայթման ժառանգական էֆեկտների տվյալները հակասում են մարդկանց պոպուլյացիաներում ստացված արդյունքներին: Մի շարք հետազոտություններում ցույց է տրվել ճառագայթահարված մողելային օրգանիզմների F1 սերնդում կառուցվածքային քրոմոսոմային խաթարումների առաջացումը: Արու մկների մոտ հետմեյոզային սերմնաբջիջների ճառագայթահարումը բարձրացնում է գենային մուտացիաների, բնածին արատների ու դոմինանտ լետալ մուտացիաների մակարդակները, մինչդեռ արատներով կենդանիների ծնվելու հաճախականությունն ավելի ցածր էր պրեմեյոզային սպերմատոգոնիումների ճառագայթահարման դեպքում: Ուստի մեյոզը բնական արգելք է մուտացիաներով սեռական բջիջների բացասական սելեկցիայի համար: Քրոմոսոմային աբեռացիաներ դիտվել են նաև ճառագայթահարված գո-

նադներով իգական սեռի մկների սերունդներում ավելի բարձր հաճախականությամբ:

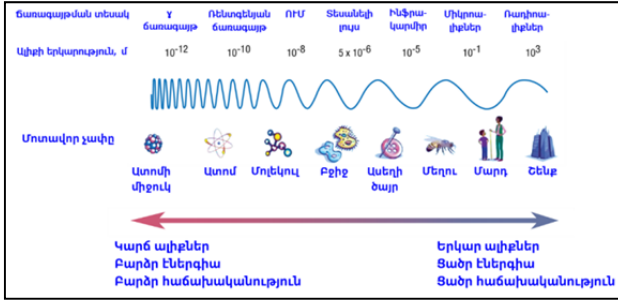
Այսպիսով՝ չնայած կենսաբանական մեխանիզմների ունիվերսալությանը՝ գենաթունային ազդեցության ժառանգական էֆեկտները կարող են տարբերվել տարբեր տեսակների մոտ: Որոշ առումով կարելի է ասել, որ «յուրաքանչյուր տեսակ գենաթունայնության առումով դժբախտ է լինում յուրովի» (եթե Լև Տոլստոյը ծանոթ լիներ գենաթունաբանությանը):

Ներկայումս մարդու մոտ իոնացնող ճառագայթման ժառանգական էֆեկտները գնահատելու նպատակով առաջարկվում է ուսումնասիրել սպիտակուց չկոդավորող հաջորդականությունների փոփոխությունները: Այդպիսի հաջորդականություններ են մինիսատելիտները, որոնց մուտացիաները ցույց են տրվել Չերնոբիլի վթարի հետևանքով ճառագայթահարված մարդկանց F1 սերնդում (տե՛ս Գլուխ 5.7 Մինիսատելիտային ԴՆԹ մուտացիաներ): Սակայն 2021 թ. 131 երեխաների գենոմների ամբողջական սեքվենավորման արդյունքում չեն բացահայտվել մինիսատելիտների *de novo* մուտացիաներ: Այս տարբերությունների հնարավոր պատճառներից կարող են լինել միջանհատական ու կլանված դոզաների տարբերությունները, ինչպես նաև կիրառված մեթոդների ու հետազոտված մարդկանց թվի տարբերությունները:

4.2.7. Ոչ իոնացնող ճառագայթման կենսաբանական էֆեկտները

Ոչ իոնացնող ճառագայթումը չունի բավականաչափ էներգիա՝ ատոմներից էլեկտրոններ պոկելու համար, սակայն ունակ է առաջացնելու էքսիտացիա կամ անցում դեպի էներգետիկ ավելի բարձր վիճակների: Այս ճառագայթման տեսակները գտնվում են էլեկտրոմագնիսական սպեկտրի ցածր էներգիայով ալիքների հատվածում և չեն առաջացնում նյութի իոնացում (Նկ. 52): Ոչ իո-

նացնող ճառագայթման տեսակներից են ռադիոալիքներն ու միկրոալիքները, տեսանելի, ինֆրակարմիկ ու ուլտրամանուշակագույն լույսի ճառագայթները:



Նկար 52. Էլեկտրամագնիսական սպեկտրի ալիքներն ու դրանց երկարությունները (<https://mysasdata.larc.nasa.gov/basic-page/electromagnetic-spectrum-diagram>):

Ոչ իոնացնող ճառագայթման տեսակներից են ուլտրամանուշակագույն (ՈւՄ) ճառագայթները, որոնց գենաթունային էֆեկտները նկարագրված են մարդու ու մի շարք այլ կենդանի օրգանիզմների մոտ: Մինչդեռ մարդու մոտ ռադիոալիքային ճառագայթման մուտագեն էֆեկտների մասին տվյալները խիստ սահմանափակ են, իսկ գենաթունաբանական թեստավորման տվյալները հազվադեպ են լինում վերարտադրելի: Ուստի ռադիալիքային ու գերցածր հաճախականությամբ ճառագայթների մուտագեն էֆեկտները դեռևս քննարկման առարկա են:

Ռադիոհաճախականության ալիքները կիրառվում են ռադիոհաղորդակցման, հեռուստահաղորդակցման, բջջային հեռախոսների, միկրոալիքային վառարանների, Wi-Fi ինտերնետի օգտագործման և այլ նպատակներով: Ներկայումս բջջային հեռախոսներն ու դրանց աշտարակները ստացել են լայն կիրառություն ամբողջ աշխարհում: Համաձայն «GSMA Intelligence» բջջային տեխնոլոգիաների կիրառության գլոբալ վերլուծական գործակալության տվյալների ներկայումս կան ավելի քան 5.1 մլրդ բջջային

հեռախոսների գրանցված օգտատերեր, իսկ 2025 թ. այս թիվն աճելու է 600 միլիոնով: Մակայն պետք է նկատի ունենալ, որ մարդու առողջության համար ոչ իոնացնող ճառագայթումը կարող է լինել նաև ռիսկային գործոն: 2011 թ. IARC գործակալությունը ռադիոհաճախականության էլեկտրոմագնիսական ալիքները դասակարգել է կանցերոգենների 2B, իսկ ուլտրամանուշակագույն ճառագայթները (100-400 նմ ալիքի երկարությամբ)՝ 1-ին խմբերում:

Միկրոալիքների առավել տարածված աղբյուրներից են էլեկտրահաղորդակցման գծերը (50-60 Հգ), համակարգչային էլրանները (60-90 Հգ), AM (530-1600 կՀգ) ու FM ռադիոալիքները (88-108 ՄՀգ), հեռուստաալիքները (50-700 ՄՀգ), բջջային հեռախոսները (850 ՄՀգ-2.4 ԳՀգ), միկրոալիքային վառարանները (2.45 ԳՀգ), նոթբուքներն ու Wi-Fi կապի աղբյուրները (2.4-6 ԳՀգ): Միկրոալիքային ճառագայթման արդյունքում կենդանի համակարգերում կարող են առաջանալ թերմալ ու ոչ թերմալ ազդեցություններ: Թերմալ ազդեցությունները (հյուսվածքի ջերմաստիճանը բարձրանում է $>1^{\circ}\text{C}$), որպես կանոն, առաջանում են տեղային հաստվածներում՝ հեռախոսի հետ շփման տեղամասում, երբ տեղի է ունենում ռադիոալիքների կլանում: Քանի որ ավելորդ ջերմային էներգիայի ցրման հնարավորությունը մարմնի կողմից սահմանափակ է, ապա թերմալ ազդեցություններն առաջացնում են ջերմային շոկի սպիտակուցների կամ սթրեսի պատասխանի սպիտակուցների ֆունկցիաների խաթարումներ: Ոչ թերմալ ազդեցություններն (հյուսվածքի ջերմաստիճանը բարձրանում է $<1^{\circ}\text{C}$) առաջանում են ամբողջ մարմնի ճառագայթման արդյունքում: Այս դեպքում բարձրանում է բջիջների թաղանթների վնասվածքների առաջացման ռիսկը:

Միկրոալիքների թերմալ ազդեցություններն առաջացնում են հյուսվածքում ջերմաստիճանի բարձրացում, որի հետևանքով կարող են վնասվել նյարդային բջիջները, սպերմատոզոիդների

ընդհանուր ու շարժունակ սպերմատոզոիդների քանակը: Միկրոալիքային ճառագայթումը կարող է առաջացնել քնի խանգարումներ, հիշողության խաթարումներ, իսկ երկարատև ազդեցության դեպքում՝ բարձրացնել գլխուղեղի ուռուցքների առաջացման ռիսկը:

Բջջային հեռախոսների օգտագործման ժամանակ մարմնի կողմից կլանված ռադիոհաճախականությամբ միկրոալիքային ճառագայթումը կոչվում է «սպեցիֆիկ աբսորբցիայի ուժգնություն» (ՍԱՈւ): Յուրաքանչյուր բջջային հեռախոս ունի բնորոշ ՍԱՈւ արժեք (Վտ/կգ), որի կլանման քանակը մարդու հյուսվածքների կողմից կախված է դրա հաճախականությունից, ուժգնությունից, բնեացումից, ազդեցության տևողությունից ու սարքի օգտագործման ընթացքում դրա տեղադրվածությունից: ՍԱՈւ արժեքի առավելագույն սահմանները կարող են տարբերվել տարբեր երկրների համար: Օրինակ՝ ԱՄՆ-ում ՍԱՈւ արժեքը չպետք է գերազանցի 1.6 Վտ/կգ, իսկ ԵՄ երկրներում՝ 2 Վտ/կգ սահմանը: Ներկայումս ՍԱՈւ նվազագույն արժեքի որոշման համար կենսաբանական թեստավորման ստանդարտ մեթոդներ չեն մշակվել: Հետևաբար այսպիսի ճառագայթման դոզա-էֆեկտ կախվածությունները դեռևս մոլեկուլային-կենսաբանական խորը հետազոտման կարիք ունեն:

Հիմնվելով իոնացնող ճառագայթման կենսաբանական էֆեկտների գնահատման չափանիշների վրա՝ ոչ իոնացնող ճառագայթման թունաբանական հետազոտություններում գլխավորապես գնահատվում են ԴՆԹ տարբեր տիպի վնասվածքներն ու կանցերոզեն էֆեկտներն ու գոնադային հյուսվածքների փոփոխությունները:

In vitro ու կրծողների մոդելներում ստացված տվյալների հիման վրա ենթադրվում է, որ միկրոալիքային ճառագայթումը կապված է արական անպտղության առաջացման ռիսկի հետ: Հայտնի է, որ սպերմատոզոիդներում ԴՆԹ վնասվածքները զգա-

լիորեն ընկճում են ֆերտիլությունը և կապված են սպերմատոզոիդների ցածր կոնցենտրացիայի ու հաճախ առաջացող սպոնտան վիժումների հետ: Ուստի գլխավորապես ուսումնասիրում են բջջային հեռախոսների ճառագայթմամբ մակածված ԴՆԹ վնասվածքները սպերմատոզոիդներում: Օրինակ՝ *in vitro* պայմաններում ցույց է տրվել ԴՆԹ վնասվածքների մակարդակի բարձրացում մարդու սպերմատոզոիդներում 850 ՄՀց հաճախականությամբ ու 1.46 Վտ/կգ ՄԱՈւ արժեքով բջջային հեռախոսի ճառագայթմանը ենթարկելու արդյունքում: Այսպիսի վնասվածքների առաջացումը կարող է պայմանավորված լինել ճառագայթմամբ մակածված օքսիդային սթրեսով: Սակայն հետազոտված սպերմատոզոիդների հիմնական մասը ստացվել էր սուբֆերտիլությամբ բնութագրվող սերմերի նմուշներից, ինչը զգալիորեն սահմանափակում էր տվյալների նշանակությունը: Ընդ որում՝ այդ արդյունքները չեն հաստատվել ճառագայթային նույն չափանիշներին ենթարկված սպերմատոզոիդների ԴՆԹ վնասվածքների հետազոտման այլ աշխատանքներում: Բջջային հեռախոսների 900-1800 ՄՀց հաճախականությամբ 5 ժամ ճառագայթմանը ենթարկված ֆերտիլ տղամարդկանց սպերմատոզոիդներում բացահայտվել է ԴՆԹ վնասվածքների մակարդակի բարձրացում: Սակայն մասնակիցների փոքր քանակը ($n=32$) թույլ չի տալիս լիարժեք պատկերացում կազմել արդյունքների կենսաբանական նշանակության վերաբերյալ:

Հակասական տվյալներ ստացվել են նաև կրծողների սպերմատոզոիդներում կատարված ԴՆԹ ու քրոմոսոմների վնասվածքների գնահատման փորձերում: Ուստի ներկայումս չկան հավաստի տվյալներ բջջային հեռախոսների ճառագայթման ու մարդու մոտ արական անպտղության միջև կապի վերաբերյալ: Մինևույն ժամանակ պետք է նկատի ունենալ, որ միկրոալիքների ու բջջային հեռախոսների ճառագայթման հետ կապված հետազոտությունների մոտ 90 %-ը նկարագրվում է օքսիդային սթրեսի

մակաձուլ *in vitro* ու *in vivo* համակարգերում: Ընդ որում՝ օրսի-դային սթրեսը ԴՆԹ սպոնտան վնասվածքների հիմնական պատճառներից մեկն է: Հետևաբար Պարացելսի գաղափարը տարբեր գործոնների չափաբաժինների ու տոքսիկ էֆեկտների միջև կապի վերաբերյալ ցանկալի է նկատի ունենալ նաև բջջային հեռախոսների օգտագործման ժամանակ:

4.2.8. Ուլտրամանուշակագույն (ՈւՄ) ճառագայթման գենետիկական էֆեկտները

Ոչ իոնացնող կամ էլեկտրոմագնիսական ճառագայթման առավել տարածված տեսակներից է ՈւՄ ճառագայթումը, որն առկա է արևային լույսում, Չերենկովի ճառագայթման, սնդիկային լամպերի, արհեստական արևայրուքի սարքերի, էլեկտրական գոդման և այլ սարքերի ճառագայթման սպեկտրներում:

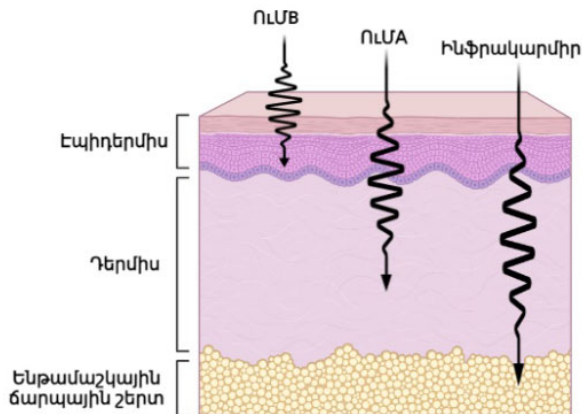
«Ուլտրամանուշակագույն» բառը նշանակում է մանուշակագույնից այն կողմ, քանի որ մանուշակագույնը տեսանելի լույսի ամենաբարձր հաճախականությամբ ալիքների մասն է կազմում: ՈւՄ ճառագայթման գլխավոր աղբյուրը արևային լույսն է, որի 10 %-ը կազմում են ՈւՄ ալիքները: Ներկայումս բջջային հեռախոսներում առկա են հավելվածներ, որոնք ցույց են տալիս բաց երկնքի տակ արեգակնային ՈւՄ ճառագայթման ինտենսիվությունը 1-ից (ցածր ռիսկի աստիճան) մինչև 11+ (զերբարձ ռիսկի աստիճան) սանդղակի վրա:

Ըստ ալիքի երկարության՝ տարբերում են ՈւՄԱ (315-400 նմ), ՈւՄԵ (280-315 նմ) ու ՈւՄԸ (100-280 նմ) տիպերի ՈւՄ ճառագայթներ, որոնք դասակարգվում են մարդու համար կանցերոգեն գործոնների խմբում (IARC 1): ՈւՄԱ ալիքներն առավել երկարն են, և դրանց 5 %-ը տիեզերքից անցնում է մեր մոլորակի մթնոլորտային շերտով, մինչդեռ ՈւՄԵ (99.9 %) ու ՈւՄԸ (100 %) ճառագայթների հիմնական մասը կլանվում է Երկրի օդոնային շերտի

կողմից: Սակայն ՈւՄՇ ճառագայթները կարող են արձակվել նաև մարդածին աղբյուրներից, ինչպիսիք են զոդման սարքերը, սնդիկային լամպերն ու ՈւՄ աղտահանող լամպերը, որոնք կիրառվում են ջրում, օդում, սննդամթերքներում ու մակերեսների վրա գտնվող բակտերիաների ու սնկերի բջիջները սպանելու համար:

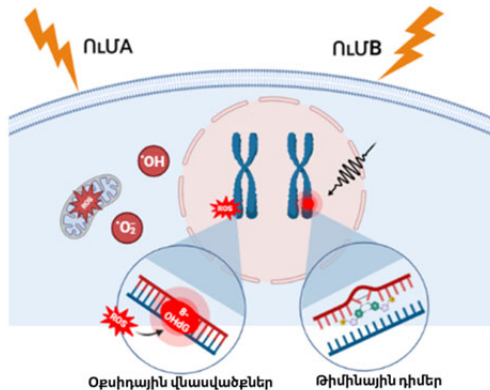
ՈւՄԱ ալիքները, ներթափանցելով էպիդերմիսի շերտով, փոխազդում են մելանոցիտների հետ և մակածում մելանինի արտադրությունն ու արևայրուքի առաջացումը: Սակայն ՈւՄ ճառագայթման երկարատև ազդեցությունը բարձրացնում է մաշկի քաղցկեղի՝ մելանոմայի առաջացման ռիսկը: Ընդ որում՝ այս ռիսկն ավելի բարձր է օնկոնոսուպրեսորային գեների մուտացիա (օրինակ՝ BRCA գենի) կրողների մոտ:

Մաշկով ճառագայթման ներթափանցումը կախված է դրա ալիքի երկարությունից: ՈւՄՅ ճառագայթները ներթափանցում են մինչև էպիդերմիս, ՈւՄԱ ճառագայթները կարող են հասնել մինչև դերմիս, իսկ տեսանելի լույսն ու ինֆրակարմիկ ճառագայթները՝ մինչև ենթամաշկային շերտը (Նկ. 53):



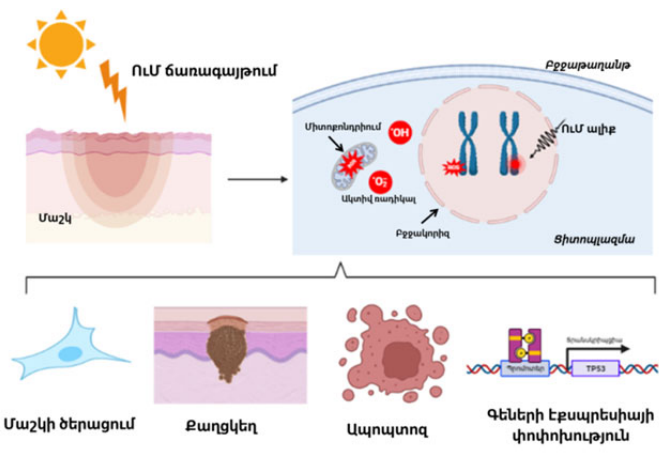
Նկար 53. ՈւՄԱ, ՈւՄՅ ու ինֆրակարմիկ ճառագայթների ներթափանցումը մաշկի տարբեր շերտերով (պատրաստված է BioRender համակարգով):

Մարդու մաշկի բջիջներում ՈւՄԱ ալիքները խթանում են ԴՆԹ անուղղակի վնասվածքները՝ բարձրացնելով ակտիվ ռադիկալների ու օքսիդային սթրեսի մակարդակները: Դրա արդյունքում բարձրացնում է օքսիդացած գուանինի՝ 8-հիդրօքսիդեգոքսիգուանոզինի (8-OHdG) հաճախականությունը ԴՆԹ մոլեկուլում, մինչդեռ ՈւՄԵ ճառագայթումը կարող է մակաձել ԴՆԹ ուղղակի վնասվածքներ՝ փոխանցելով ճառագայթների էներգիան ԴՆԹ մոլեկուլի ատոմներին: Որպես կանոն ՈւՄԵ-ն մակաձում է ցիկլոբութան պիրիմիդինային դիմերներ ու պիրիմիդին-պիրիմիդոնային (6-4) ֆոտոպրոդուկտներ (6-4PP), որոնցից գերակշռում են թիմինային դիմերները (Նկ. 54):



Նկար 54. ՈւՄԱ ու ՈւՄԵ ճառագայթումները մակաձում են ԴՆԹ օքսիդային վնասվածքներ և պիրիմիդինային դիմերներ (պատրաստված է BioRender համակարգով):

Մարդու մաշկում ՈւՄ ճառագայթմամբ մակաձված ԴՆԹ վնասվածքները կարող են հանգեցնել բջջային ու ֆոտոժերացմանը, ուռուցքների առաջացմանը, ապոպտոզի ակտիվացմանն ու գեների էքսպրեսիայի փոփոխությանը (Նկ. 55):

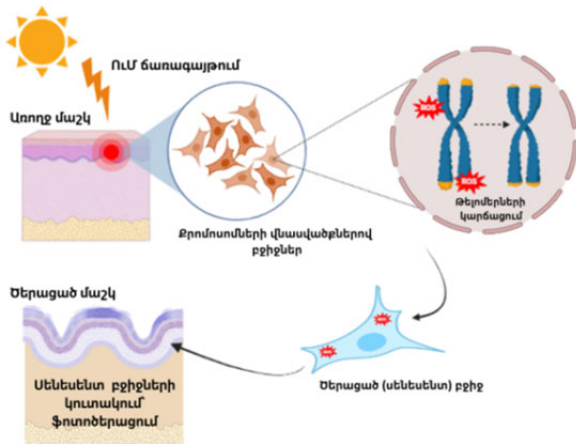


Նկար 55. Արեգակնային ՈւՄ ճառագայթմամբ մակածված մաշկի բջիջներում ԴՆԹ վնասվածքների արդյունքում առաջացող բացասական էֆեկտները (պատրաստված է BioRender համակարգով):

ՈւՄ ճառագայթմամբ մակածված բջջային ծերացում

Բջջային ծերացումը կամ սենեսենսը բջջային ցիկլի անդառնալի ձեռքբերումն է, որի արդյունքում ԴՆԹ չռեպարացվող վնասվածքներով կամ խիստ կարճացած թելոմերներով բջիջները չեն կարողանում կիսվել: Բացահայտվել է, որ մաշկի բջիջների ճառագայթումն ՈւՄ ալիքներով մակածում է քրոնոլոգիական ծերացման նման փոփոխություններ: Քրոնոլոգիական ծերացման ժամանակ դիտվում է մաշկի բարակացում, որն առաջանում է էպիդերմալ բջջային շերտի ատրոֆիայի ու դերմալ շերտերում ֆիբրոբլաստների ու արտաբջջային մատրիքսի բաղադրիչների կրճատմամբ: Միևնույն ժամանակ նվազում է կոլագենի քանակը, որը դառնում է մասնատված ու մաշկում անհամաչափ բաշխված: Սա պայմանավորված է տարիքին զուգընթաց ֆիբրոբլաստների կողմից ձեռքբառառվող մատրիքս մետալոպրոտեինազներով, որոնք քայքայում են արտաբջջային մատրիքսը: Նվազում են էլաստինների, պրոտեոգլիկանների, գլիկոզամինոգլիկանների ու ենթամաշկային սպիտակ աղիպոց հյուսվածքի մակարդակները:

Այսպիսի փոփոխությունները հանգեցնում են մաշկում սենե-սենտ բջիջների կուտակմանը: ՈւՄ ճառագայթմամբ մակաձվող այսպիսի արագացված ծերացումը կոչվում է **ֆոտոծերացում** (Նկ. 56):



Նկար 56. ՈւՄ ճառագայթումը մաշկի բջիջներում մակաձուլ է ակտիվ ռադիկալների (ROS) առաջացում, որոնք վնասում են քրոմոսոմները: Կարճացած թելոմերների առկայությունը խթանում է մաշկում սենե-սենտ բջիջների կուտակումն ու մաշկի ֆոտոծերացումը (պատրաստ-ված է BioRender համակարգով):

Հայտնի է, որ կորիզային ու միտոքոնդրիումային ԴՆԹ-ները ՈւՄ ճառագայթման թիրախներ են: Բացահայտվել է, որ ֆոտոծերացման արդյունքում մաշկի տարբեր շերտերում կուտակվում են 8-oxoG ու պիրիմիդինային դիմերները, որոնք իրենց հերթին կարող են հանգեցնել սենեսենտ բջիջների առաջացմանը: Ընդ որում՝ սենեսենտ բջիջներն ունակ են հարևան բջիջներում մակա-ծելու բջջային ծերացում բայսթենդեր մեխանիզմով՝ զեներացնելով ակտիվ ռադիկալներ, ցիտոկիններ ու մատրիքս մետալոպրո-տեինազներ: Այսպիսի էֆեկտներ ցույց են տրվել մարդու դերմալ ֆիբրոբլաստներում ՈւՄԱ ու ՈւՄԵ ճառագայթմամբ:

ՈւՄ ճառագայթամաբ մակաձվաձ ԴՆԹ ու արտաբջջային մատրիքսի վնասվաձքները կարող են խթանել բորբոքային գորձընթացների գարգացումը մաշկում: Օրինակ՝ մարդու կերատինոցիտներում ՈւՄ ճառագայթումն ալտիվացնում է NLRP3 ինֆլամասումի ձևավորումն ու բորբոքային ռեակցիայի գարգացմանը նպաստող տարբեր գորձոնների՝ IL-1 β , IL-1 α , IL-6, և TNF- α ձերբագատումը: Ենթադրվում է, որ երկարատև բորբոքային միկրոմիջավայրը կարող է հանգեցնել բջջային տրանսաֆորացիայի ու մետաստազավորմանը: Ուստի տրամաբանական է, որ մարդու մաշկում ՈւՄՅ ճառագայթումը բարձրացնում է նաև տարբեր ցիտոկինների ու քեմոկինների (CCL3, CXCL1, CXCL3 և CXCL5) գեների էքսպրեսիան ու խթանում իմունասուպրեսոր գորձոնների ձերբագատումը (օրինակ՝ IL-4, IL-10, TGF- β): Մակայն ինունասուպրեսորների երկարատև ալտիվությունը մաշկում բարձրացնում է հյուսվաձքի վնասման ու ինֆեկցիանների առաջացման ռիսկը: Ներկայումս ձերացման ֆենոտիպի հետ ասոցացվաձ քրոնիկ բորբոքումը կոշվում է «ինֆլամեյշինգ», որը բնութագրվում է արյան մեջ և պինդ հյուսվաձքներում տարիքի հետ ասոցացվաձ նախաբորբոքային մարկերների մակարդակի բարձրացմամբ: Ուստի կարելի է ենթադրել, որ ՈւՄ ճառագայթամաբ մակաձվաձ ԴՆԹ վնասվաձքները ֆոտոձերացման ու «ինֆլամեյշինգի» գլխավոր պատձառն են:

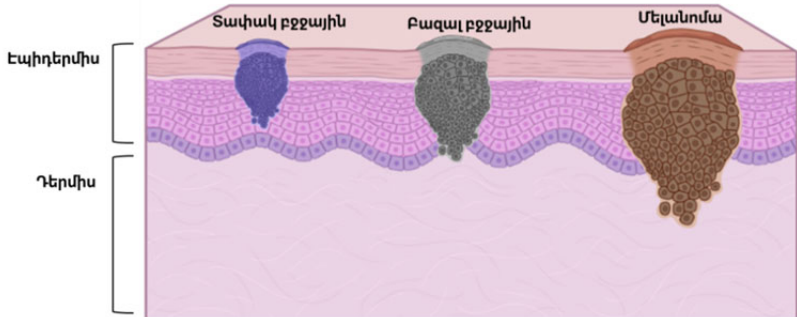
ՈւՄ ճառագայթամաբ մակաձվաձ քաղցկեղ

Մարդկանց համար ՈւՄ ճառագայթումը վիտամին D-ի սինթեզի հիմնական աղբյուրն է, որի պակասը կարող է հանգեցնել ոսկրերի խտության նվազմանը, օսթեոպորոզին ու վնասվաձքների առաջացմանը, ուստի չափավոր ՈւՄ ճառագայթումն անհրաձեղտ է օրգանիզմի բնականոն գորձունեության համար: Մակայն ՈւՄ ճառագայթումը, հատկապես ՈւՄՅ-ն, կարող է առաջացնել մաշկի կարմրաձություն ու էպիդերմալ մելանինի մակարդակի

ադապտիվ բարձրացում: Ավելին, այն կարող է մակաձել ակտիվ ռադիկալների մակարդակի բարձացում, TP53 գենի մուտացիա ու դրա օնկոսուպրեսոր ակտիվության կորուստ: Այսպիսի էֆեկտները կապված են մաշկի քաղցկեղի ինիցիացման ու զարգացման հետ:

Մաշկի քաղցկեղի հիմնական մասն առաջանում է արեգակնային ՈւՄ ճառագայթման արդյունքում: Առավել հաճախ հանդիպում են բազալ բջջային (basal cell cancer) ու տափակ բջջային (squamous cell cancer) քաղցկեղի տեսակները, որոնք առաջանում են մաշկի առավել հաճախ և երկարատև արևահարվող հատվածներում: Ենթադրվում է, որ ավելի հազվադեպ հանդիպող մելանոմայի (մաշկի քաղցկեղի առավել վտանգավոր տեսակ) առաջացման ռիսկը նույնպես բարձրանում է արևային ճառագայթման արդյունքում:

Տափակ բջջային քաղցկեղն առաջանում է էպիդերմիսի միջին ու վերին շերտերի բջիջների՝ կերատինոցիտների չկարգավորված բազմացմամբ: Բազալ բջջային քաղցկեղն առաջանում է բազալ բջիջների տրանսֆորմացիայի արդյունքում: Բազալ բջիջները էպիդերմիսի ստորին շերտի բջիջներ են, որոնցից սկիզբ են առնում նոր ձևավորվող կերատինոցիտները: Մելանոման առաջանում է էպիդերմիսի բազալ բջիջների շերտում տեղակայված մելանոցիտներից, որոնք արտադրում են ՈւՄ ճառագայթները կլանող մելանին պիգմենտը (Ակ. 57):



Նկար 57. Մաշկի տարբեր տեսակի քաղցկեղների՝ տափակ բջջային, բազալ բջջային ու մելանոմայի բջիջների ներթափանցումը մաշկի տարբեր շերտեր (պատրաստված է BioRender համակարգով):

Բազալ բջջային ու տափակ բջջային քաղցկեղի հիմնական մասը հեշտությամբ բուժվում է վիրահատական կամ ճառագայթային մեթոդներով: Մինչդեռ մելանոման կյանքին սպառնացող մաշկի քաղցկեղի տեսակ է:

4.2.9. Հակաճառագայթային միջոցներ

Իոնացնող ճառագայթման բացասական էֆեկտների բուժման համար կիրառվող դեղամիջոցները կարելի է բաժանել երեք հիմնական խմբի:

- **Ռադիոպրոտեկտորներ**, որոնք կիրառվում են ճառագայթումից առաջ: Գլխավորապես օգտագործվում են ռազմական, առաջնային պատասխանի մասնագետների և արտակարգ իրավիճակներին մասնակցող քաղաքացիական անձանց կողմից: Կիրառվում են հյուսվածքներում սուր կամ քրոնիկ էֆեկտների կանխման համար:
- **Ռադիոնվազեցնող** միջոցներ, որոնք կիրառվում են ճառագայթումից անմիջապես հետո: Գլխավորապես օգտագործվում են մահացությունների ընդհանուր թիվը կրճա-

տելու նպատակով: Կանխում են ախտանիշների առաջացումը:

- **Ռադիոթերապևտիկ** միջոցներ, որոնք կիրառվում են Ս&Հ դրսևորման ընթացքում և գլխավորապես բջջային թերապիայի միջոցներն են (օրինակ՝ բնային բջիջների տարբեր պոպուլյացիաներ): Կիրառվում են սուր կամ քրոնիկ էֆեկտների նվազեցման նպատակով:

Ներկայումս մշակվում են տարբեր մեխանիզմներով գործող հակաճառագայթային միացություններ: Մակայն նյարդաանոթային Ս&Հ-ի դեպքում այդպիսի միջոցներ դեռևս չեն բացահայտվել:

Ցույց է տրվել, որ ճառագայթման բացասական էֆեկտները ճնշող գործոններից առավել արդյունավետ են հակաօքսիդանտներն ու ջերմային շոկի սպիտակուցներն ակտիվացնող նյութերը:

*** Հետաքրքիր է:** $^{238}\text{U} \rightarrow ^{206}\text{Pb}$ ռադիոակտիվ փոխարկումների շղթայի վերլուծությունը ռադիոիզոտոպային տարեգրության մեթոդներից է, որը կիրառվում է մեկ միլիոնից մինչև մի քանի միլիարդ տարի հնությամբ քարերի կամ բյուրեղների տարիքը գնահատելու համար: Այս մեթոդը կիրառվել է մեր մոլորակի տարիքը նկարագրելու համար: Երկրի վրա (Ավստրալիա) հայտնաբերված ամենահին ցիրկոնի բյուրեղի տարիքը կազմում է մոտ 4,4 միլիարդ տարի: Այս տվյալները քիչ են տարբերվում Հյուսիսային Արիզոնայում (ԱՄՆ) հայտնաբերված երկնաքարի $\text{Pb} \rightarrow \text{Pb}$ ռադիոիզոտոպային վերլուծության արդյունքներից, որոնք ցույց են տալիս 4,58 միլիարդ տարի: Իսկ Լուսնից ու Մարսից ստացված քարերի և երկնաքարերի տարիքը կազմում է 4,5-4,51 միլիարդ տարի:

Գրականության ցանկ

1. Abello N, Kerstjens HA, Postma DS, Bischoff R. Protein tyrosine nitration: selectivity, physicochemical and biological consequences, denitration, and proteomics methods for the identification of tyrosine-nitrated proteins. *J Proteome Res.* 2009;8(7):3222-3238.
2. Aliper AM, Bozdaganyan ME, Sarkisova VA, et al. Radioprotectors.org: an open database of known and predicted radioprotectors. *Aging (Albany NY).* 2020;12(15):15741-15755. doi:10.18632/aging.103815.
3. Autsavapromporn N, Suzuki M, Funayama T, et al. Gap junction communication and the propagation of bystander effects induced by microbeam irradiation in human fibroblast cultures: the impact of radiation quality. *Radiat Res.* 2013;180(4):367-375.
4. Babayan N, Vorobyeva N, Grigoryan B, et al. Low Repair Capacity of DNA Double-Strand Breaks Induced by Laser-Driven Ultrashort Electron Beams in Cancer Cells. *Int J Mol Sci.* 2020;21(24):9488.
5. Bolus NE. Basic Review of Radiation Biology and Terminology. *J Nucl Med Technol.* 2017;45(4):259-264.
6. Calabrese EJ. The linear No-Threshold (LNT) dose response model: A comprehensive assessment of its historical and scientific foundations. *Chem Biol Interact.* 2019; 301:6-25.
7. Chen CA, Druhan LJ, Varadharaj S, Chen YR, Zweier JL. Phosphorylation of endothelial nitric-oxide synthase regulates superoxide generation from the enzyme. *J Biol Chem.* 2008;283(40):27038-27047.
8. Dai J, Su Y, Zhong S, et al. Exosomes: key players in cancer and potential therapeutic strategy. *Signal Transduct Target Ther.* 2020;5(1):145. doi:10.1038/s41392-020-00261-0.
9. Donnelly EH, Nemhauser JB, Smith JM, et al. Acute radiation syndrome: assessment and management. *South Med J.* 2010;103(6):541-546.
10. Ghimire K, Altmann HM, Straub AC, Isenberg JS. Nitric oxide: what's new to NO?. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2017;312(3):C254-C262.
11. Gulliford SL, Prise KM. Relative Biological Effect/Linear Energy Transfer in Proton Beam Therapy: A Primer. *Clin Oncol (R Coll Radiol).* 2019;31(12):809-812.
12. Gupta S, Sharma RS, Singh R. Non-ionizing radiation as possible carcinogen. *Int J Environ Health Res.* 2022 Apr;32(4):916-940. doi: 10.1080/09603123.2020.1806212. Epub 2020 Sep 4. PMID: 32885667.

13. Herate C, Sabatier L. Retrospective biodosimetry techniques: Focus on cytogenetics assays for individuals exposed to ionizing radiation. *Mutat Res.* 2020; 783:108287.
14. <https://remm.hhs.gov/aboutdicentric.htm>.
15. Iliakis G, Mladenov E, Mladenova V. Necessities in the Processing of DNA Double Strand Breaks and Their Effects on Genomic Instability and Cancer. *Cancers (Basel)*. 2019;11(11):1671. Published 2019 Oct 28. doi:10.3390/cancers11111671.
16. International Atomic Energy Agency. Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment. Technical Reports Series No. 405, Vienna. 2001.
17. J. Jeffrey Peirce, Ruth F. Weiner, P. Aarne Vesilind, Chapter 16 - Radioactive Waste, Editor(s): J. Jeffrey Peirce, Ruth F. Weiner, P. Aarne Vesilind, *Environmental Pollution and Control (Fourth Edition)*, Butterworth-Heinemann, 1998, Pages 211-231.
18. Jargin SV. Radiation Safety and Hormesis. *Front Public Health*. 2020;8:278.
19. K. Buchtela, RADIOCHEMICAL METHODS. Gamma-Ray Spectrometry, Editor(s): Paul Worsfold, Alan Townshend, Colin Poole, *Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition)*, Elsevier, 2005, Pages 72-79.
20. Kabilan U, Graber TE, Alain T, Klovov D. Ionizing Radiation and Translation Control: A Link to Radiation Hormesis? *Int J Mol Sci*. 2020;21(18):6650.
21. Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science*. 2020;367(6478):eaau6977. doi:10.1126/science.aau-6977.
22. Kam WW, Banati RB. Effects of ionizing radiation on mitochondria. *Free Radic Biol Med*. 2013;65:607-619.
23. Kaur P, Rai U, Singh R. Genotoxic Risks to Male Reproductive Health from Radiofrequency Radiation. *Cells*. 2023;12(4):594. Published 2023 Feb 12. doi:10.3390/cells12040594.
24. Kesari KK, Agarwal A, Henkel R. Radiations and male fertility. *Reprod Biol Endocrinol*. 2018 Dec 9;16(1):118. doi: 10.1186/s12958-018-0431-1. PMID: 30445985; PMCID: PMC6240172.

25. Kowalska A, Nasonova E, Czerski K, Kutsalo P, Pereira W, Krasavin E. Production and distribution of chromosome aberrations in human lymphocytes by particle beams with different LET. *Radiat Environ Biophys.* 2019;58(1):99-108.
26. Lamadrid Boada AI, Romero Aguilera I, Terzoudi GI, González Mesa JE, Pantelias G, García O. Rapid assessment of high-dose radiation exposures through scoring of cell-fusion-induced premature chromosome condensation and ring chromosomes. *Mutat Res.* 2013;757(1):45-51.
27. Lee YI, Choi S, Roh WS, Lee JH, Kim TG. Cellular Senescence and Inflammaging in the Skin Microenvironment. *Int J Mol Sci.* 2021 Apr 8;22(8):3849. doi: 10.3390/ijms22083849.
28. Lin B, Gao F, Yang Y, et al. FLASH Radiotherapy: History and Future. *Front Oncol.* 2021;11:644400.
29. Michael I. Ojovan, William E. Lee, Stepan N. Kalmykov, Chapter 5 - Background Radiation, Editor(s): Michael I. Ojovan, William E. Lee, Stepan N. Kalmykov, *An Introduction to Nuclear Waste Immobilisation (Third Edition)*, Elsevier, 2019, Pages 47-55.
30. Miranda S, Correia M, Dias AG, et al. Evaluation of the role of mitochondria in the non-targeted effects of ionizing radiation using cybrid cellular models. *Sci Rep.* 2020;10(1):6131.
31. Mun GI, Kim S, Choi E, Kim CS, Lee YS. Pharmacology of natural radioprotectors. *Arch Pharm Res.* 2018;41(11):1033-1050. doi:10.1007/s12272-018-1083-6.
32. Nakamura N, Suyama A, Noda A, Kodama Y. Radiation effects on human heredity. *Annu Rev Genet.* 2013;47:33-50. doi: 10.1146/annurev-genet-111212-133501. Epub 2013 Aug 21. PMID: 23988120. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23988120/>.
33. Omer H. Radiobiological effects and medical applications of non-ionizing radiation. *Saudi J Biol Sci.* 2021 Oct;28(10):5585-5592. doi: 10.1016/j.sjbs.2021.05.071. Epub 2021 Jun 1. PMID: 34588869; PMCID: PMC8459055.
34. Peinado H, Zhang H, Matei IR, et al. Pre-metastatic niches: organ-specific homes for metastases. *Nat Rev Cancer.* 2017;17(5):302-317.
35. Prasanna PGS, Loats H, Gerstenberg HM, et al. AFRRI's gamma-ray, x-ray and fission-neutron calibration curves for the dicentric assay:

- Application of a metaphase finder system. (PDF - 309 KB) Fort Belvoir, VA, USA; AFRRRI, Defense Technical Information Center, Fort Belvoir, VA, 2002.
36. Pristyazhnyuk IE, Menzorov AG. Ring chromosomes: from formation to clinical potential. *Protoplasma*. 2018;255(2):439-449.
 37. Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Photoaging: UV radiation-induced inflammation and immunosuppression accelerate the aging process in the skin. *Inflamm Res*. 2022 Aug;71(7-8):817-831. doi: 10.1007/s00011-022-01598-8.
 38. Sassi M, Carter DJ, Uberuaga BP, Stanek CR, Mancera RL, Marks NA. Hydrogen bond disruption in DNA base pairs from ¹⁴C transmutation. *J Phys Chem B*. 2014;118(35):10430-10435.
 39. Sassi M, Carter DJ, Uberuaga BP, Stanek CR, Marks NA. Carbon-14 decay as a source of non-canonical bases in DNA. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1840(1):526-534.
 40. Sharma S, Singla N, Chadha VD, Dhawan DK. A concept of radiation hormesis: stimulation of antioxidant machinery in rats by low dose ionizing radiation. *Hell J Nucl Med*. 2019; 22(1):43-48.
 41. Siegel JA, Pennington CW, Sacks B, Welsh JS. The Birth of the Illegitimate Linear No-Threshold Model: An Invalid Paradigm for Estimating Risk Following Low-dose Radiation Exposure. *Am J Clin Oncol*. 2018; 41(2):173-177.
 42. Silva MP, Cedraz-Merchez PL, Varanda WA. Effects of nitric oxide on magnocellular neurons of the supraoptic nucleus involve multiple mechanisms. *Braz J Med Biol Res*. 2014;47(2):90-100.
 43. Singh VK, Seed TM. Entolimod as a radiation countermeasure for acute radiation syndrome. *Drug Discov Today*. 2021;26(1):17-30.
 44. Singh VK, Seed TM. Entolimod as a radiation countermeasure for acute radiation syndrome. *Drug Discov Today*. 2021;26(1):17-30. doi:10.1016/j.drudis.2020.10.003.
 45. Staveley B. *Principles of Cell Biology (BIOL2060)*. 2017.
 46. Tang CH, Wei W, Liu L. Regulation of DNA repair by S-nitrosylation. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1820(6):730-735.
 47. Tolstykh EI, Degteva MO, Bougrov NG, Napier BA. Body Potassium Content and Radiation Dose from 40K for the Urals Population (Russia). *PLoS One*. 2016;11(4):e0154266.

48. Vecoli C, Borghini A, Andreassi MG. The molecular biomarkers of vascular aging and atherosclerosis: telomere length and mitochondrial DNA4977 common deletion. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2020;784:108309. doi:10.1016/j.mrrev.2020.108309.
49. Vivek Kumar PR, Karuppasamy CV, Ramachandran EN, Anil Kumar V, Jaikrishan G, Das B. Premature chromosome condensation assay to study influence of high-level natural radiation on the initial DNA double strand break repair in human G0 lymphocytes. *Mutat Res.* 2020;849:503141.
50. Walker JK, DeFea KA. Role for β -arrestin in mediating paradoxical β 2AR and PAR2 signaling in asthma. *Curr Opin Pharmacol.* 2014;16:142-147.
51. Wang B, Yasuda H. Relative Biological Effectiveness of High LET Particles on the Reproductive System and Fetal Development. *Life (Basel).* 2020;10(11):298.
52. Wang H, Yu KN, Hou J, Liu Q, Han W. Radiation-induced bystander effect: early process and rapid assessment. *Cancer Lett.* 2015;356(1):137-144.
53. Yakovlev VA. Role of nitric oxide in the radiation-induced bystander effect. *Redox Biol.* 2015;6:396-400.
54. Yeager M, Machiela MJ, Kothiyal P, et al. Lack of transgenerational effects of ionizing radiation exposure from the Chernobyl accident. *Science.* 2021;372(6543):725-729.
55. Zhao Y, Vanhoutte PM, Leung SW. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. *J Pharmacol Sci.* 2015;129(2):83-94.
56. <https://mynasadata.larc.nasa.gov/basic-page/electromagnetic-spectrum-diagram>.
57. <https://vividmaps.com/a-visualization-of-every-nuclear/>.
58. <https://provisionhealthcare.com/about-proton-therapy/advantages-of-proton/>.
59. <https://www.protominternational.com/2018/06/bragg-peak/>.
60. <https://www.ptcog.ch/index.php/facilities-in-operation>.
61. https://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/TRS405_scr.pdf.

4.3. Կենսաբանական մուտագեններ

Կենսաբանական մուտագենների խմբին են պատկանում վիրուսները, բակտերիաներն ու տրանսպոզացվող (մոբիլ) էլեմենտները:

4.3.1. Վիրուսների գենաթունային էֆեկտները

Վիրուսներով մակաձված մուտագեն էֆեկտները կարող են լինել ուղղակի ու անուղղակի ազդեցությամբ, որի ժամանակ տեր բջջի գենոմի ամբողջականությունը խաթարվում է վիրուսային գենոմի ինտեգրման կամ բորբոքային ռեակցիաների ու ROS ռադիկալների առաջացման պատճառով: Որպես կանոն ԴՆԹ վիրուսները մակաձում են տեր բջջի ԴՆԹ ուղղակի խաթարումներ՝ ներկառուցվելով գենոմի մեջ, մինչդեռ ՌՆԹ վիրուսների գենաթունային էֆեկտները գլխավորապես պայմանավորված են բորբոքային ռեակցիաների ու ROS ռադիկալների մակաձմամբ: Բացառություն են կազմում ռետրովիրուսները, որոնք հետադարձ տրանսկրիպցիայով իրենց ԴՆԹ-ն ինտեգրում են բջջի գենոմում:

Մուտագեն էֆեկտներով օժտված ԴՆԹ վիրուսներից են հերպես սիմպլեքս վիրուսը (HSV1/2), մարդու հերպեսվիրուս 6 (HHV-6A/B), Էպստեյն-Բար վիրուսը (EBV), Մարեկի հիվանդության վիրուսը (MDV), հեպատիտ B և C վիրուսները (HBV, HCV), կորոնավիրուսները և այլն: Ընդ որում՝ EBV, HBV ու HCV վիրուսները օնկոգեն վիրուսներ են:

Ներկայումս հայտնի են բազմաթիվ աշխատանքներ, որոնցում ցույց է տրվել վիրուսներից ԴՆԹ վնասվածքների առաջացնելու կամ ԴՆԹ վնասվածքների պատասխանի կարգավորմանը մասնակցող գեների ու սպիտակուցների ակտիվացման դրական ազդեցությունը վիրուսային ինֆեկցիայի զարգացման համար: Այս ենթազվխում վիրուսների գենաթունայնությունը քննության

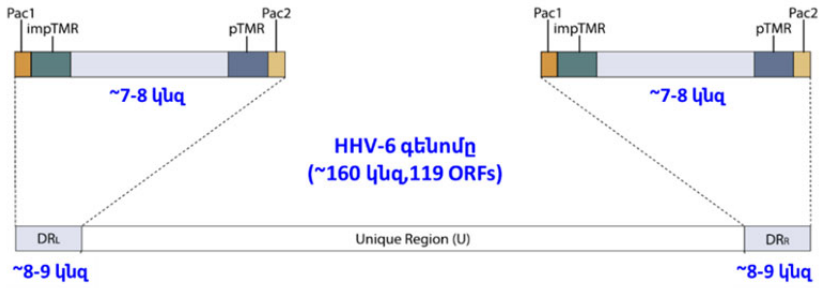
կառնենք մարդու քրոմոսոմներում ինտեգրվող HHV-6A/B-ի ու օնկոգեն ակտիվությամբ վիրուսների օրինակներով:

HHV-6A/B

Պոպուլյացիայում առավել տարածված ու լատենտ փուլում տեր բջջում քրոմոսոմային ինտեգրմամբ վիրուսներից են HHV-6A/B: HHV-6A/B-ով վարակումը գլխավորապես տեղի է ունենում մինչև երկու տարեկան հասակը կամ փոխանցվում է ժառանգական ճանապարհով, իսկ պոպուլյացիայում տարածվածությունը կազմում է >90 %: HHV-6A-ն ներթափանցում է բջիջներ՝ գլիկոպրոտեինային տետրամերով (H (gH), L (gL), Q1 (gQ1), և Q2 (gQ2)) կապվելով կոմպլեմենտի կարգավորիչ CD46 թաղանթային սպիտակուցին (բոլոր կորիզավոր բջիջները), իսկ HHV-6B-ն՝ CD134-ին (միայն ակտիվացած T լիմֆոցիտները): Օրալ ճանապարհով ներթափանցած վիրուսն ակտիվորեն բազմանում է թքագեղձերի բջիջներում ու լիմֆատիկ հանգույցներում, այնուհետև արյունատար համակարգով տարածվում է տարբեր օրգաններում ու հյուսվածքներում (յարդ, երիկամ, մաշկի էպիթել, հեմատոպոետիկ բնային բջիջներ, կենտրոնական նյարդային համակարգի բջիջներ): HHV-6A/B-ի բջջային տրոպիզմը բավականին լայն է, և կարող են վարակել մակրոֆագերը, նատուրալ կիլերները, վասկուլյար ու լիմֆատիկ էնդոթելային բջիջները, վահանաձև գեղձի ու էնդոէտրիոմի էպիթելային բջիջները, ֆիբրոբլաստները, օլիգոդենդրոցիտներն ու նեյրոնները: Առաջնային վարակման ժամանակ դիտվում են մարմնի ջերմաստիճանի բարձրացում, մաշկի ցանավորում, երբեմն՝ դող ու ստամոքսաղիքային համակարգի խաթարումներ: Ցույց է տրվել HHV-6-ի կապը էպիլեպսիայի, հիպերսոմնիայի, դեմենցիայի, էնցեֆալիտի, Հաշիմոտոյի ու Ալցհեյմերի հիվանդությունների, ստամոքսաղիքային խաթարումների, իզական անպտղության, միոկարդիտի, տրանսպլանտատի մերժման և ախտաբանական այլ երևույթների հետ: Ներկայումս HHV-

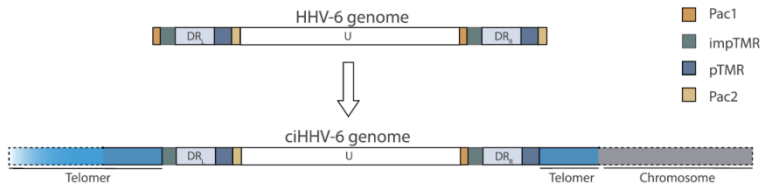
6-ի պատճառահետևանքային կապն այս հիվանդությունների հետ հաստատված չէ:

HHV-6-ի գենոմը ~160 կնգ (HHV-6A GS շտամը՝ 156 կնգ, HHV-6B Z29 շտամը՝ 161 կնգ) չափ ունեցող գծային երկշղթա ԴՆԹ է, որը պարունակում է ավելի քան 100 ORF (անզլերեն՝ open reading frame) հաջորդականություններ (իՌՆԹ-ի սկզբնական ու ստոպ կոդոնների միջև գտնվող հատված) (Նկ. 58): Գեների մեծ մասը տեղակայված են U տեղամասում, որն աջից ու ձախից սահմանակցվում է համապատասխանաբար DRR ու DRL տեղամասերով (8-9 կնգ): HHV-6A և HHV-6B գենոմների միջև նուկլեոտիդային հաջորդականությունների հոմոլոգիան միջինում կազմում է 90 %: DR տեղամասերի աջ ծայրում (DRR) գտնվում են կատարյալ թելոմերային կրկնությունները (pTMR), որոնք համապատասխանում են մարդու թելոմերների նուկլեոտիդային հաջորդականությանը (TTAGGG)ն, իսկ ձախ ծայրում (DRL) գտնվում են ոչ կատարյալ թելոմերային կրկնությունները (impTMR), որոնք ընդհատվում են այլ հեքսամերներով (ընդհանուր՝ 50-60 կրկնություն): TMR հատվածներին կից տեղակայված են վիրուսային գենոմի կտրման և փաթեթավորման համար պատասխանատու Pac1 ու Pac2 լոկուսները:



Նկար 58. HHV6A/B-ի գենոմի կառուցվածքը: Երկշղթա ԴՆԹ-ն ունի մոտ 160 կնգ չափ: U տեղամասը պարունակում է հերպեսվիրուսների համար սպեցիֆիկ կոնսերվատիվ գեներ: DR հատվածները պարունակում են 9 ORF տեղամասեր (Aimola et al., 2020):

Լատենտ փուլի բջջային թիրախները ծայրամասային արյան լիմֆոցիտներն ու մոնոցիտներն են: Բացահայտվել է, որ լատենտ փուլում HHV-6A/B վիրուսներն ինտեգրում են իրենց ԴՆԹ-ն տեր բջջի քրոմոսոմների թելոմերային հատվածներում (ciHHV-6): Ընդ որում՝ օդակաձև կորիզային էպիտոմներ չեն հայտնաբերվում: HHV-6A/B կարող են ինտեգրվել ինչպես սոմատիկ, այնպես էլ սեռական բջիջների քրոմոսոմներում (աուտոսոմ ու սեռական) և ժառանգվել հաջորդ սերնդին (iciHHV-6) Մենդելյան բաշխմամբ: Վիրուսային ԴՆԹ ժառանգական փոխանցմամբ վարակումը հանդիպում է պոպուլյացիայի 1-2 % մոտ: Դրա հետևանքով այս անհատների լեյկոցիտներում, մազերի ֆոլիկուլներում և այլ նմուշներում դիտվում է HHV-6-ի վիրուսային ԴՆԹ-ի կայուն բարձր մակարդակ (106-107 կրկնօրինակ/մլ): iciHHV-6 ինտեգրումը նույնականացվել է մի շարք քրոմոսոմներում, ներառյալ՝ 1q, 6q, 7q, 9q, 10q, 11p, 17p, 18p, 18q, 19q, 22q ու Xp: Հետաքրքիր է, որ քրոմոսոմներում հոմոլոգիական ռեկոմբինացիայով ինտեգրված վիրուսային ԴՆԹ-ն (մեկ կրկնօրինակ) ունի հստակ ուղղվածություն. աջ ծայրի (DRR) pTMR տեղամասը կցվում է սուբթելոմերային լոկուսին, իսկ ձախ ծայրի (DRL) impTMR տեղամասը՝ թելոմերային լոկուսին (Նկ. 59): Բացահայտվել է, որ TMR հաջորդականությունների դելեցիան արգելակում է վիրուսի ԴՆԹ ինտեգրումը քրոմոսոմներում, սակայն չի ազդում դրա ռեպլիկացիայի վրա: Ընդ որում՝ միայն pTMR-ի դելեցիան գրեթե ամբողջությամբ է արգելակում ինտեգրումը, ուստի ենթադրվում է, որ այն ուղղորդում է ինտեգրման/ռեկոմբինացիայի առաջին ռեակցիան: Ինտեգրված վիրուսային ԴՆԹ-ից դելեցվում են աջ ծայրի (DRR) Pac2 ու ձախ ծայրի (DRL) Pac1 լոկուսները:

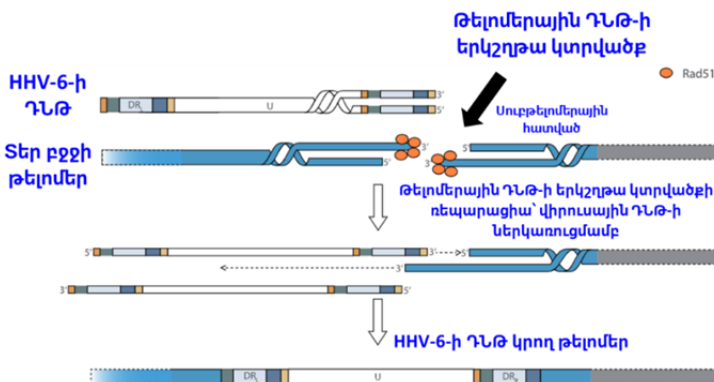


Նկար 59. HHV-6-ի գենոմի ինտեգրումը տեր բջջի քրոմոսոմի թելոմերային հատվածում (Aimola et al., 2020):

Ներկայումս ուսումնասիրվում են հոմոլոգիական ռեկոմբինացիայով HHV-6A/B-ի ԴՆԹ ինտեգրման երկու հավանական մեխանիզմներ՝ ԴՆԹ վնասվածքով մակաձված ռեպլիկացիան (անզլերեն՝ break-induced replication, BIR) ու մեկ շղթայի կցման (անզլերեն՝ single-strand annealing, SSA) ռեպարացիան: Երկու ուղիներն էլ բացատրում են HHV-6A/B-ի ԴՆԹ ինտեգրման ուղղվածությունն ու Pac1/Pac2 դելեցիաները:

BIR ուղին ակտիվանում է ԴՆԹ երկշղթա կտրվածքների ռեպարացիայի ժամանակ, երբ հոմոլոգ մատրիցան հասանելի է միայն միաշղթա հատվածի ներմուծման համար: Այսպիսի վնասվածքներ առաջանում են թելոմերների կարճացման ու ռեպլիկացիոն պատառաքաղի կոլափսի ժամանակ (ռեպլիկացիոն սթրես): Վնասվածքի առաջանալուց հետո հոմոլոգիական ռեկոմբինացիային մասնակցող սպիտակուցները, ներառյալ Rad51 ռեկոմբինազը, կուտակվում են կտրված ԴՆԹ հատվածներում: Միաշղթա ԴՆԹ-ին կապված սպիտակուցային կոմպլեքսն օգտագործում է TMR լոկուսների հոմոլոգին որպես ռեկոմբինացիայի մատրիցա: Ներկառուցվելուց հետո վիրուսային ԴՆԹ շղթաներից մեկը հեռացվում է, իսկ բջջային ռեպլիկացիայի համակարգը սինթեզում է կոմպլեմենտար շղթան: Սեքվենավորման տվյալները ցույց են տալիս, որ DRR ծայրի pTMR հաջորդականության ինտեգրումն առաջին ռեակցիան է, որի հետևանքով դելեցվում է Pac2-ը (Նկ. 60): Այդպիսի դիրքով ինտեգրման արդյունքում DRL ծայրի Pac1-ն

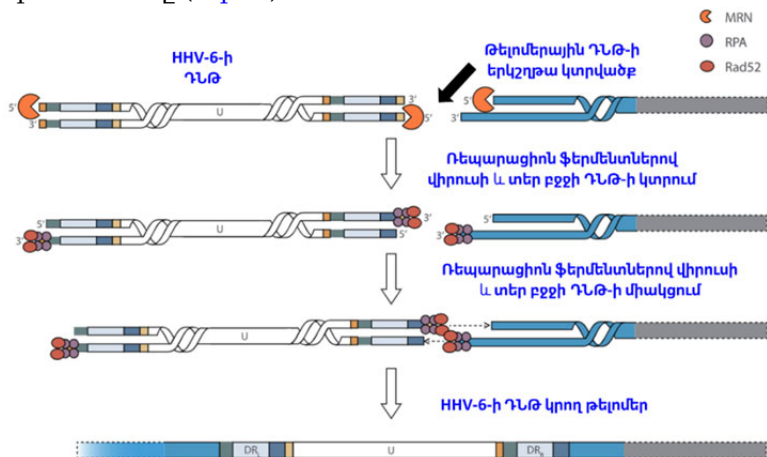
ունենում է ծայրային դիրք, և բջջի բաժանման ժամանակ թելոմերների կտրման հետևանքով դելեցվում է նաև Pac1-ը: Մինևույն ժամանակ impTMR-ը կարող է ծառայել որպես մատրիցա թելոմերների էլոնգացիայի համար: Ցույց է տրվել, որ թելոմերագային կոմպլեքսի արգելակումը ճնշում է HHV-6A/B-ի ԴՆԹ ինտեգրումը: Սակայն Rad51 ռեկոմբինազի արգելակումը զգալիորեն չի ազդում HHV-6A/B-ի ԴՆԹ ինտեգրման վրա, ինչը վկայում է, Rad51-ով միջնորդավորված BIR ուղուց բացի, մեկ այլ մեխանիզմի գոյության մասին:



Նկար 60. Տեր բջջի թելոմերային ԴՆԹ վնասվածքը խթանում է BIR ակտիվացումն ու Rad51 բջջային ռեկոմբինազի կուտակումը վնասվածքի հատվածում: Ռեկոմբինազը նպաստում է բջջի թելոմերներին հոմոլոգ վիրուսի ԴՆԹ շղթաներից մեկի 3' ծայրով ներխուժումը դեպի կտրված հատվածը, իսկ չինտեգրված շղթան էլիմինացվում է (Aimola et al., 2020):

SSA-ն ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքների ռեպարացիայի մեխանիզմներից մեկն է, երբ ռեպարացիայի ժամանակ օգտագործվում են հոմոլոգիական ծայրեր, և կախված է Rad52-ից: Այս ուղին զգալիորեն ակտիվանում է Rad51-ի արգելակման ժամանակ: Առաջին փուլում MRN (MRE11-Rad50-NBS1) կոմպլեքսը ճանաչում և կապվում է բջջի ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքներին ու վիրուսային ԴՆԹ-ի ծայրերին: Այնուհետև MRN կոմպլեքսի 5'-3' էնդոնուկլեա-

գային ակտիվության շնորհիվ հեռացվում են բջջային ու վիրուսային ԴՆԹ-ների 5' նուկլեոտիդները, ինչի արդյունքում առաջանում են 3' կաչուն ծայրեր, որոնք կոմպլեմենտար են լինում բջջային թելոմերների ու վիրուսային TMR-ի միջև: RPA սպիտակուցը պաշտպանում է 3' կաչուն ծայրերը, մինչդեռ Rad52-ը նպաստում է կոմպլեմենտար հատվածների հայտնաբերման ու կցման ռեակցիաներին: Նուկլեազային ռեակցիաների ընթացքում հեռացվում է DR_R Pac2-ը, իսկ թելոմերների էլոնգացիայի ժամանակ՝ DR_L Pac1-ը (Նկ. 61):



Նկար 61. Տեր բջջի թելոմերային ԴՆԹ վնասվածքը խթանում է MRN սպիտակուցային համալիրի կուտակումը վնասվածքի տեղամասում և վիրուսային ու թելոմերային ԴՆԹ-ից նուկլեոտիդների հեռացումը 5'-3' ուղղությամբ: Արդյունքում առաջանում են կաչուն ծայրեր, որոնց միանում է RPA սպիտակուցը (replication protein A) ու կապում Rad52-ին: Այս համալիրը խթանում է կոմպլեմենտարության սկզբունքով վիրուսային ԴՆԹ ու թելոմերային ԴՆԹ միացումն ու վիրուսի ԴՆԹ ինտեգրումը քրոմոսոմում (Aimola et al., 2020):

Ենթադրվում է, որ ԴՆԹ ինտեգրմանը կարող են մասնակցել նաև վիրուսային գործոնները: Բջջի թելոմերների և վիրուսի DR տեղամասերի միջև ռեկոմբինացիային ու վիրուսային ԴՆԹ ինտեգրմանը նպաստում է U94 վիրուսային ինտեգրազը, որը կա-

րող է կապվել ԴՆԹ-ին (միաշղթա ու երկշղթա) և ունի էքզոնուկլեազային (3'-5'), ԱԵՖազային ու հելիկազային ակտիվություն: Հետաքրքիր է, որ *in vitro* պայմաններում քաղցկեղային բջիջներում HHV-6A/B-ի ԴՆԹ ինտեգրման համար U94 ինտեգրազի ակտիվությունը պարտադիր պայման չէ: Ենթադրվում է, որ դա կարող է պայմանավորված լինել քաղցկեղային բջիջներում հոմոլոգիական ռեկոմբինացիային մասնակցող սպիտակուցների ակտիվությամբ: Պարզվել է նաև, որ U94 էքսպրեսիան ավելի բարձր է լատենտ փուլում՝ համեմատած լիտիկ ինֆեցիայով բջիջների հետ: Միննույն ժամանակ U94-ն արգելակում է վիրուսային գեների էքսպրեսիան վարակված լիմֆոցիտներում, ուստի ենթադրվում է, որ այն առանցքային նշանակություն ունի լատենտության հաստատման համար: Վիրուսային ԴՆԹ ինտեգրմանը նպաստող գործոններից են U41-ն ու U70-ը, որոնք ակտիվացնում են SSA ռեպարացիայի ուղին, սակայն դրանց լոեցումը զգալիորեն չի ազդում HHV-6A/B-ի ԴՆԹ ինտեգրման վրա: Վերջին տարիներին բացահայտվել է, որ IE-1 վիրուսային սպիտակուցը թիրախավորում է բջջի PML սպիտակուցին, որը մասնակցում է ԴՆԹ ռեպարացիային, ռեկոմբինացիային ու թելոմերների երկարության պահպանմանը: PML նոքդաունը զգալիորեն նվազեցնում է HHV-6A/B-ի ԴՆԹ ինտեգրման հաճախականությունը, ինչը ցույց է տալիս բջջային ու վիրուսային համակարգերի համատեղված գործունեության նշանակությունը վիրուսային ԴՆԹ ինտեգրման համար:

Այսպիսով՝ HHV-6A/B-ի ԴՆԹ ինտեգրման թիրախը քրոմոսոմների սուբթելոմերային/թելոմերային հատվածներն են, ընդ որում՝ երկար ուսերում հաճախականությունն ավելի բարձր է: Ոչ թելոմերային ինտեգրումը խիստ հազվադեպ երևույթ է: Ներկայումս հայտնի է միայն մեկ աշխատանք, որում նկարագրվել են HHV-6-ի DR հատվածի ոչ թելոմերային ինգեգրման օրինակներ *in vitro* (6p25.3, 13q21.33, 19p13.3, 20q13.3, Xq21.1) և *in vivo* (5q13.3)

(Gulve et al., 2017): Ենթադրվում է, որ սուրբթելումերային/թելումերային հատվածների քրոմատինում ռեպրեսիվ էպիգենետիկական նիշերի ապասկտիվացումը կարող է նպաստել icHHV-6-ի վերասկտիվացմանը:

Օնկոգեն վիրուսներ

Վիրուսային օնկոգենները բացահայտվել է, երբ թռչունների էրիթրոբլաստոզի բջիջներից անջատվեցին առաջին օնկոգեն ռետրովիրուսները 1908 թ.: Իսկ 1911 թ. Փեյթոն Ռաուսը ստացավ հավերի ֆիբրոսարկոմայի վիրուսը (Ռաուսի սարկոմայի վիրուս): Այս հետազոտությունները հիմք դրեցին Հ. Վարմուսի ու Ս. Բիշոփի կողմից կատարված կարևորագույն հայտնագործության համար, որի արդյունքում պարզվեց, որ օնկոգեն ռետրովիրուսները կրում են վիրուսային օնկոգեններ (v-onc), որոնք ծագում են բջջային պրոտոօնկոգեններից (c-onc): Ռետրովիրուսների բազմացման ցիկլի ընթացքում դրանք երբեմն կարող են իրենց գենոմում ներառել նաև տեր բջջի պրոտոօնկոգենները: Երբ այդպիսի վիրուսները վարակում են այլ բջիջներ, դրանք կարող են բջջի գենոմ ներմուծել փոխված պրոտոօնկոգենները (արդեն՝ օնկոգեններ), ինչը կարող է հանգեցնել անկառավարելի բջջային պրոլիֆերացիայի ու քաղցկեղի առաջացման: Այս աշխատանքների համար 1989 թ. Հ. Վարմուսն ու Ս. Բիշոփը արժանացան Նոբելյան մրցանակի:

Վիրուսային օնկոգենները տեղի չի ունենում սուր ինֆեկցիայի ժամանակ, այլ առաջանում է ինֆեկցիայից 15-40 տարի անց՝ բացառությամբ EBV-ասոցացված լիմֆոպրոլիֆերատիվ հիվանդության, որը կարող է առաջանալ ինֆեկցիայից կարճ ժամանակ (4-6 շաբաթ) անց: Մարդու քաղցկեղի 12-20 %-ը մակաձվում է օնկո-վիրուսներով, որոնցից 80 % քաղցկեղի դեպքերը դիտվում են զարգացող երկրներում:

Ներկայումս հայտնի է մարդու 7 օնկովիրուս, որոնցից EBV (IARC 1), HBV (IARC 1), մարդու պապիլոմավիրուսը (HPV (IARC 1)), մարդու հերպեսվիրուս-8 (HHV-8 (IARC 1)) ու Մերկելի բջիջների պոլիոմավիրուսը (MCPyV (IARC 1)) ԴՆԹ վիրուսներ են, իսկ HCV (IARC 1)-ն ու մարդու T-բջջային լիմֆոտրոպ վիրուս-1-ը (HTLV-1 (IARC 1))՝ ՌՆԹ վիրուսներ:

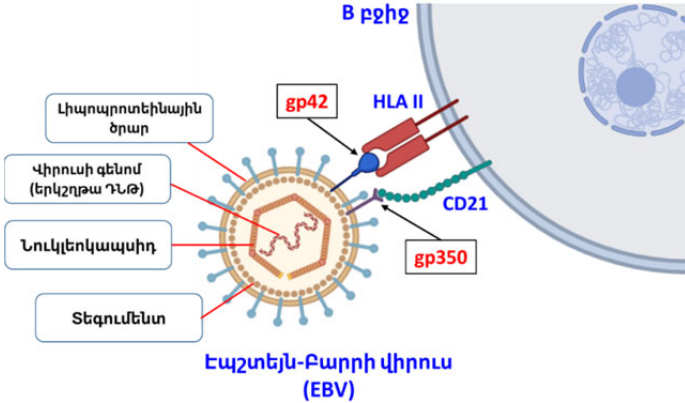
Որպես կանոն, բոլոր օնկովիրուսները խթանում են կանցերոզները՝ օգտագործելով մոլեկուլային ընդհանուր մեխանիզմներ: Շատ հաճախ արգելակվում են ուռուցքի աճը ճնշող՝ օնկոսուպրեսոր ուղիները, օրինակ՝ p53-ը ու pRb ուղին: Այլ հաճախակի թիրախներ են ուռուցքի նեկրոզ-ասոցացված գործոնները (TRAFs), թելոմերազ-ռեվերս տրանսկրիպտազը (անգլերեն՝ telomerase reverse transcriptase, TERT), ցիտոպլազմային PI3K-AKT-mTOR միտոզեն ուղին, կորիզային գործոն κB (NF-κB), β-կատենինը, ինտերֆերոնի ազդակուղիները, հյուսվածքային համատեղելիության կոմպլեքս-I (MHC-1) և JAK/STAT կինազային ու տրանսկրիպցիան ակտիվացնող ուղիները: Տեր բջջի ԴՆԹ վնասվածքների պատասխանման ուղին (անգլերեն՝ DNA damage response pathway, DDR) նույնպես կարող է խաթարվել, հատկապես ԴՆԹ վիրուսներով ինֆեկցիայի դեպքում: DDR-ը հայտնաբերում և վերականգնում է վնասված բջջային ԴՆԹ-ն PIKK ընտանիքի սերին/թրեոնին կինազների միջոցով, որոնցից են ատաքսիա-տելանգիեկտազիա մուտացված (ATM), ատաքսիա-տելանգիեկտազիա ու RAD3-ի հետ կապված (ATR) և ԴՆԹ-կախյալ պրոտեին կինազները (DNA-PK): DDR-ը կարող է արգելակել բջջային ցիկլի առաջընթացը, մինչև վնասված ԴՆԹ-ն կռեպարացվի, կամ վիրուսային ԴՆԹ-ն այլևս չի հայտնաբերվի բջջում: Օնկոզները խթանելու նպատակով վիրուսային սպիտակուցները ակտիվացնում են DDR-ի այն բաղադրիչները, որոնք օգտակար են վիրուսային բազմացման կամ բջջային տրանսֆորմացիայի համար (օրինակ՝ ռեպարացիայի գործոնների ներգրավու-

մը) և արգելակում են DDR-ի այն ուղիները, որոնք վտանգավոր են վիրուսային ԴՆԹ գոյության համար (օրինակ՝ ապոպտոտիկ ուղիները): Որոշ վիրուսներով մակաձվող օնկոգենը կանխարգելելու համար մշակվել են պատվաստանյութեր, օրինակ՝ HBV-ի ու HPV-ի դեմ: Ներկայումս վիրուսային կանցեռոգենեզի դեմ թերապևտիկ պատվաստանյութերի մշակումն արդի կենսաբժշկության ակտիվ զարգացող ուղիներից է:

Օնկոգեն վիրուսներով մակաձվող գենոմային անկայունության մեխանիզմները մանրամասն դիտարկենք EBV վիրուսի օրինակով:

EBV վիրուսը մարդու առաջին անգամ բացահայտված օնկովիրուսն է (նախկինում՝ մարդու հերպեսվիրուս-4), որով ինֆեկցիան գլխավորապես ձեռք է բերվում մանկական հասակում՝ թքի միջոցով: Ենթադրվում է, որ մարդկանց պոպուլյացիայի ավելի քան 90 %-ը վարակվում է այս վիրուսով մինչև հասուն տարիքը: EBV-ն առավել հայտնի է որպես ինֆեկցիոն մոնոնուկլեոզի հարուցիչ: Առաջնային ինֆեկցիայից հետո վիրուսը մնում է լատենտ վիճակում, գլխավորապես հանգստի վիճակում գտնվող հիշողության B բջիջներում: Սակայն կարող է հանդիպել նաև էպիթելային ու T բջիջներում կամ նատուրալ քիլերներում (NK բջիջներ): EBV վիրուսի հետ ասոցացվող քաղցկեղի տեսակներից են Բուրկիտի լիմֆոման, Հոջկինի լիմֆոման, հետփոխպատվաստման լիմֆոպրոլիֆերատիվ հիվանդությունը, T-բջջային լիմֆոպրոլիֆերատիվ մի շարք հիվանդություններ (ներառյալ ծայրամասային T-բջջային լիմֆոման, ագրեսիվ NK-բջջային լեյկեմիան և այլն): Էպիթելային ծագման քաղցկեղի տեսակներից են ստամոքսի քաղցկեղն ու հազվադեպ հանդիպող քթումպանային (նազոֆարինգեալ) քաղցկեղը: Ենթադրվում է, որ T ու NK բջիջները վարակվում են, երբ փորձում են սպանել EBV վիրուսով վարակված բջիջներին: Իսկ էպիթելային բջիջների վարակը տեղի է ունենում B բջիջների հետ ուղղակի բջիջ-բջիջ կոնտակտի ժամանակ:

EBV վիրուսը ներթափանցում է B բջիջներ վիրուսի մակերեսին առկա gp350 ու gp42 գլիկոպրոտեինների և B բջիջների CD21 ու HLA II դասի ընկալիչների միջև փոխազդեցությամբ (Նկ. 62):



Նկար 62. B բջջի վարակումն EBV վիրուսով: Վիրուսի gp350 և gp42 գլիկոպրոտեինները կապվում են համապատասխանաբար բջջային սպիտակուցների՝ CD21 ու HLA II դասի մոլեկուլների հետ (պատրաստված է BioRender համակարգով):

Առաջնային ինֆեկցիան տեղի է ունենում օրոֆարինգեալ B (կամ էպիթելային) բջիջներում, որի ժամանակ վիրուսը ռեպլիկացվում է և անջատում սեփական գեների հիմնական մասը՝ իմունային համակարգից խուսափելու համար: Լատենտ փուլում վիրուսային ԴՆԹ-ն դառնում է օղակաձև և անցնում էպիսոմի վիճակի, սակայն կարող է նաև ինտեգրվել քրոմոսոմներում: Ընդ որում՝ ինտեգրումը տեղի է ունենում գլխավորապես գեներով աղքատ հատվածներում, մինչդեռ լիտիկ ճանապարհով վիրուսի բազմացումը հանգեցնում է նոր վիրուսային մասնիկների ձևավորմանն ու բջջի մահվան: Ուստի օնկոգենեզն ընթանում է լատենտ փուլով:

B բջիջներում EBV վիրուսի LMP-1 սպիտակուցի կոնֆորմացիան համապատասխանում է բջջի թաղանթի CD40 սպիտակու-

ցի ակտիվ վիճակի կոնֆորմացիային: Արդյունքում բջիջն անվերջ ստանում է հակաապոպտոզային ու միտոզեն ազդակներ, որը հանգեցնում է բջջային տրանսֆորմացիայի ու քաղցկեղի առաջացմանը:

EBV-մակաձած օնկոգենեզի գործընթացում հիմնական դերը խաղում են PI3K/AKT և JAK/STAT միտոզեն ուղիները, որոնց ակտիվացումը բերում է գենոմային անկայունության, բջջի պրոլիֆերատիվ պոտենցիալի բարձրացման, ապոպտոզի հանդեպ կայունության, մետաբոլիզմի վերածրագրավորման, հյուսվածքային ինվազիային ու մետաստազավորմանը: Ջուգահեռաբար LMP-1 սպիտակուցը մասնակցում է օքսիդային սթրեսի մակարդակի բարձրացմանը, ATM ռեպարացիայի ուղու ու G2 չեքփոխի արգելակմանը, որը նույնպես նպաստում է գենոմային անկայունության և քրոմոսոմային խաթարումների մակաձմանը: Հետաքրքիր է, որ EBV վիրուսով վարակված որոշ ուռուցքային բջիջներում դիտվել են նաև 3p, 6q21-25, 9p21 և քրոմոսոմային այլ լոկուսների դելեցիաներ: Վարակված բջիջներում հանդիպում են նաև TP53 գենի ու բջջային MYC պրոտոօնկոգենի մուտացիաներ: Վիրուսի մեկ այլ սպիտակուց՝ LMP-2A, ակտիվացնում է Notch ուղին և մակաձում է էպիթելային-մենզենքիմային տրանզիցիան ու բջջային միգրացիան:

Խիստ վտանգավոր օնկոպիրուսներից են HBV և HCV, որոնք առաջացնում են լյարդի ցիրոզ ու քաղցկեղ: Ներկայումս աշխարհում ավելի քան 2 մլրդ մարդ վարակված է HBV վիրուսով, մոտ 170 մլն մարդ՝ HCV վիրուսով: Տարեկան ավելի քան 840.000 մարդ մահանում է HBV ու HCV վիրուսներով վարակման արդյունքում:

HBV օնկոգեն ակտիվությունը գլխավորապես պայմանավորված է տեղ բջջի քրոմոսոմների ֆրազիլ հատվածներում վիրուսային երկշղթա ԴՆԹ (3.2 կնգ) ինտեգրմամբ: Վիրուսային ԴՆԹ ինտեգրումը հայտնաբերվել է HBV-մակաձված լյարդի քաղցկեղի 80–90 % դեպքերում: ԴՆԹ ինտեգրման արդյունքում

մակաձվում են մուտացիաներ, քրոմոսոմային անկայունություն, գեների էքսպրեսիայի խաթարում: Առավել վտանգավոր են վիրուսային HBx ու preS/S գեները, որոք հանգեցնում են տեր բջջի TERT, MLL4, CCNE1, NTRK2, IRAK2, MAPK1 գեների էքսպրեսիայի փոփոխությանը: Այս գեները կարգավորում են թելոմերազի ակտիվությունը, բջջային ցիկլի պրոգրեսիան, բջջի պրոլիֆերացիան, ապոպտոզն ու օքսիդային սթրեսի պատասխան ռեակցիաները: HBx-ը ընկճում է նաև TP53 գենի ակտիվությունն ու խթանում տրանսկրիպցիայի գործոնների՝ E2F1, NF-κB և AP-1-ի էքսպրեսիան: Ընդ որում՝ քրոնիկ HBV վիրուսով հիվանդների լյարդի բջիջներում՝ հեպատոցիտներում ցույց է տրվել թելոմերների կարճացում ու 8-OHdG մակարդակի բարձրացում: Ներկայումս մշակվել է HBV վիրուսի դեմ պատվաստանյութ, որը հասանելի է նաև Հայաստանում:

Գենաթունայնության նմանատիպ մեխանիզմներով գործում են նաև մյուս օնկովիրուսները, որոնք մակաձում են գենոմի անկայունություն, պրոտոօնկոգենների ակտիվացում, օնկոսուպրետորների ինակտիվացում ու բջջային տրանսֆորմացիա:

ՌՆԹ օնկովիրուսները ռետրովիրուսներ են, որոնք պարունակում են բնորոշ հիմնական գեները՝ pol, gag ու env.

1. **pol** – կոդավորում է պոլիպրոտեին, որը կտրատվում է մի քանի վիրուսային ֆերմենտների՝

- պրոտեազ, որը այլ վիրուսային սպիտակուցները կտրատելու համար,
- հետադարձ տրանսկրիպտազ, որը վիրուսային ՌՆԹ-ն փոխարկում է ԴՆԹ-ի,
- ինտեգրազ, որը վիրուսային ԴՆԹ-ն ներկառուցում է տեր բջջի գենոմում:

2. **gag** – կոդավորում է պոլիսպիտակուց, որը կտրատվում և առաջացնում է վիրուսի մատրիքսի, կափսիդի ու նուկլեոկափսիդի սպիտակուցները, որոնք վիրուսային մասնիկի հիմքն են:

3. **env** – կողավորում է վիրուսի ծածկոցի (թաղանթի) գլիկոպրոտեինները, որոնք անհրաժեշտ են բջջին ամրանալու ու ինտերնալիզացիայի համար:

Տեր բջջի գենոմում ինտեգրվելուց հետո տեղի է ունենում վիրուսային օնկոգենեզը խթանող գեների՝ *v-onc* էքսպրեսիան:

4.3.2. Տրանսպոզացվող էլեմենտների գենաթունային էֆեկտները

Տրանսպոզացվող էլեմենտները (անգլերեն՝ transposable elements) կամ տրանսպոզոնները մոբիլ նուկլեոտիդային հաջորդականություններ են, որոնք կարող են տեղափոխվել գենոմի տարբեր հատվածներ: Այդ պատճառով դրանք կոչվում են նաև ցատկող գեներ, որոնք առաջին անգամ բացահայտել է Բարբարա ՄաքՔլինտոկը 1950-ական թթ. եգիպտացորենի քրոմոսոմներում: Այս աշխատանքների համար նա 1983 թ. ստացել է Նոբելյան մրցանակ:

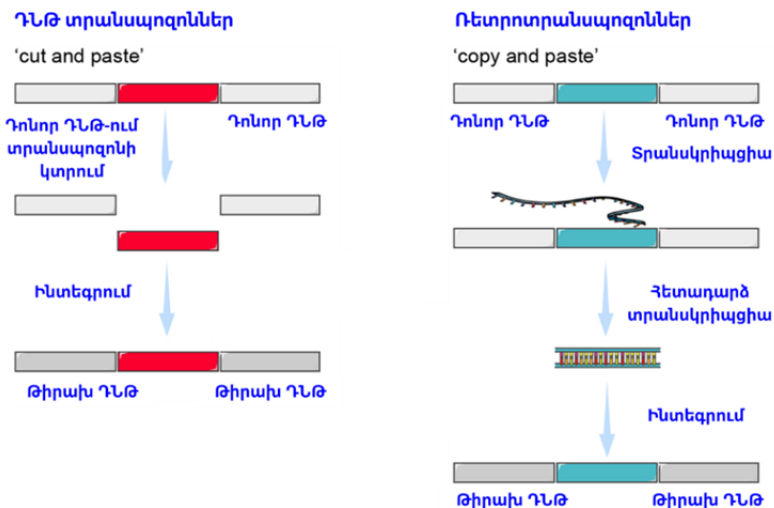
Տրանսպոզոնները բացահայտվել են բոլոր էուկարիոտների գենոմներում (բացառությամբ որոշ պրոտիստների՝ *Plasmodium falciparum*, *Toxoplasma gondii*, *Encephalitozoon intestinalis* և *Theileria parva*), և դրանց չափերը կարող են տատանվել 100-10.000 նգ-ի սահմաններում: Սակայն կան նաև ավելի երկար հաջորդականություններ, որոնք հասնում են մինչև 700 կնգ (անգլերեն՝ Starships կամ cargo-mobilizing elements) և հանդիպում են որոշ սնկերի գենոմներում (օրինակ՝ *Ascomycota*): Որոշ բույսերի գենոմներում տրանսպոզոնները կարող են կազմել մինչև 85 % (օրինակ՝ եգիպտացորենը, գարին), խոզերի գենոմում՝ 40 %, *Drosophila* պտղաճանճի գենոմում՝ 20 %, հավինը՝ 10 %, իսկ խմորասնկերում՝ 3 %: Սակայն գենոմում տրանսպոզոնների հաճախականությունը կախված չէ օրգանիզմի զարգացման բարդությունից: Տրանսպոզոնները վիրուսների գենոմային բրաձոներ են,

որոնք կորցրել են իրենց վարակելու հասկությունը: Սակայն լինելով գենոմում ինտեգրված հաջորդականություններ՝ փոխանցվում են սերունդներին միլիոնավոր տարիների էվոլյուցիայի ընթացքում:

Տրանսպոզոններն ունեցել են կարևոր ազդեցություն հոմինիդների էվոլյուցիայում: Օրինակ՝ հոմինիդների նախնիները կորցրել են պոչը բրախիուրեայի գենոմ (TBXT) տրանսպոզոնի ինսերցիայի հետևանքով: Ներկայումս տրանսպոզոնների մեծ մասը գտնվում են լուծված վիճակում տարբեր էպիգենետիկական մեխանիզմների շնորհիվ: Սակայն դրանք կարող են ակտիվանալ ու մակածել մուտագեն էֆեկտներ՝ տարբեր տիպի ֆենոտիպային դրսևորմամբ:

Մարդու գենոմում տրանսպոզոնները կազմում են 40-45 %-ը (մինչդեռ մեր սեփական սպիտակուց կոդավորող գեները կազմում են 1-2 %) և ըստ իրենց տրանսպոզիցիայի սկզբունքի՝ դասակարգվում են երկու խմբում՝ ռետրոտրանսպոզոններ (class I) ու ԴՆԹ տրանսպոզոններ (class II): Գենոմի բոլոր տրանսպոզացվող էլեմենտների ամբողջությունը կոչվում է մոբիլոմ:

ԴՆԹ տրանսպոզոնների մեծ մասը ինակտիվ է և բազմանում է «cut-and-paste» մեխանիզմով, որի ժամանակ տրանսպոզոնը կտրում է ինքն իրեն գենոմի մի հատվածից և տեղափոխում մեկ այլ հատված տրանսպոզաց ֆերմենտի մասնակցությամբ: Մարդու գենոմում ԴՆԹ տրանսպոզոնները կազմում են մոտ 3 % և ներառում են DDE, Կրիպտոն, Հելիտրոն ու Մեյվերիք/Պոլինտոն էլեմենտները: Ռետրոտրանսպոզոնները բազմանում են ՌՆԹ մոլեկուլի սինթեզով, որի հիման վրա հետադարձ տրանսկրիպցիայով սինթեզվում է կրկնօրինակ ԴՆԹ-ն ու ներկառուցվում է գենոմում: Քանի որ այսպիսի տրանսպոզոնների սկզբնական հաջորդականությունը մնում է անփոփոխ իր տեղում, ապա այս տրանսպոզիցիան կոչում է «copy-and-paste» (Նկ. 63):

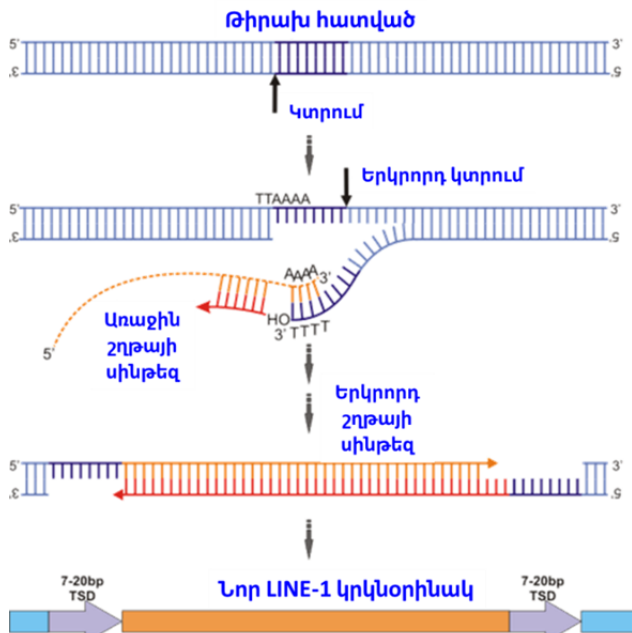


Նկար 63. Ներկայացված են ԴՆԹ տրանսպոզոնների ու ռետրոտրանսպոզոնների տրանսպոզիցիայի սխեմաները (Zhou et al., 2022):

Ռետրոտրանսպոզոնները կազմում են մոբիլ էլեմենտների հիմնական մասը: LTR (long terminal repeat) ռետրոտրանսպոզոնների սպիտակուց կոդավորող գեների (pol, gag, env) երկու ծայրերում առկա են մի քանի հարյուր նուկլեոտիդ երկարությամբ LTR հաջորդականությունները, որոնք ճանաչվում են ինտեգրացիոն կոդինգ և ծառայում են տրանսպոզոնի ու քրոմոսոմային ԴՆԹ միաձուլման համար: LTR տրանսպոզոնների հիմնական մասը կազմում են մարդու էնդոգեն ռետրովիրուսները, որոնք գենոմի 8 % են կազմում: Էնդոգեն ռետրովիրուսները գենոմի բրաժոներ են, որոնք միլիոնավոր տարիների ընթացքում առաջացած մուտացիաների հետևանքով կորցրել են վարակելու հասկությունը:

non-LTR ռետրոտրանսպոզոնները չունեն LTR կրկնություններ, կազմում են գենոմի մոտ 34 %-ը՝ ներառելով ակտիվ տրանսպոզացիոն LINE-1 (Long interspersed element 1) կամ L1, SINE (Short interspersed nuclear elements), Alu ու SVA էլեմենտները: non-LTR էլեմենտներն ունեն երկու ORF հատվածներ՝ ORF1 ու

ORF2: ORF1-ի ֆունկցիան դեռևս լիովին պարզ չէ, սակայն դրա կողավորած սպիտակուցը՝ ORF1P, կարող է առաջացնել օլիգոմերներ ու կապվել ՌՆԹ մոլեկուլներին ու մետաղների իոններին: ORF2-ը կողավորում է էնդոնուկլեազային ու հետադարձ տրանսկրիպտազային ակտիվությամբ ORF2P սպիտակուցը: Տրանսկրիպցիայի արդյունքում սինթեզվում է ռետրոտրանսպոզոնի իՌՆԹ-ն, որն անցնում է ցիտոպլազմա և ենթարկվում տրանսյացիայի: Արդյունքում սինթեզվում են ORF1P ու ORF2P սպիտակուցները, որոնք միանում են միմյանց ու ռետրոտրանսպոզոնի ՌՆԹ-ին՝ առաջացնելով ռիբոնուկլեոպրոտեինային մասնիկը (RNP): RNP-ն տեղափոխվում է կորիզ, որտեղ էնդոնուկլեազը կտրում է քրոմոսոմային ԴՆԹ 3'-AA/TTTT-5' հաջորդականությունը՝ առաջացնելով ազատ 3'-OH ծայր: Ռետրոտրանսպոզոնի AAAA տեղամասը կոմպլեմենտարության սկզբունքով կապվում է առաջացած միաշղթա ԴՆԹ-ի TTTT հատվածին, իսկ 3'-OH ծայրն օգտագործվում է որպես ՌՆԹ-ին կոմպլեմենտար ԴՆԹ սինթեզի սկիզբ: Այնուհետև կտրվում է կոմպլեմենտար շղթայի ԴՆԹ-ն և սինթեզվում կրկնօրինակ ԴՆԹ-ին կոմպլեմենտար հատված, ինչն էլ հանգեցնում է L1 ռետրոտրանսպոզոնի ինսերցիային գենոմի նոր հատվածում (Նկ. 64): Ներկառուցման հետևանքով նոր LINE-1 ռետրոտրանսպոզոնի երկու ծայրերում առաջանում են քրոմոսոմային ԴՆԹ 7-20 նգ դուպլիցացիաներ, որոնք կոչվում են թիրախ տեղամասի դուպլիկացիաներ (անգլերեն՝ target site duplication, TSD): TSD հատվածները ռետրոտրանսպոզոնների ակտիվության կենսամարկեր են և կոչվում են մոբիլ էլեմենտների «գենոմային սպիեր»:



Նկար 64. LINE-1-ի ռետրոտրանսպոզիցիայի սխեման (<https://collecta.com/blogs/news/cancer-human-mobilome-line-1-retrotransposons>):

Մարդու գենոմում հայտնաբերվել են ավելի քան 500.000 L1 կրկնօրինակներ, որոնք բազմացել են մոտ 150 մլն տարվա էվոլյուցիայի ընթացքում և կազմում են գենոմի 17 %-ը: Այս ընթացքում L1 ռետրոտրանսպոզոնների հիմնական մասն ինակտիվացել է տրանսպոզիցիայի ընթացքում առաջացող մուտացիաների արդյունքում: Մակայն 1988 թ. Հայզ Կազազիանն առաջին անգամ բացահայտեց L1 նոր ինսերցիա հեմոֆիլիայով հիվանդի գենոմում, որի ընտանիքի պատմության մեջ նման հիվանդություն չէր արձանագրվել: Հետազոտության արդյունքում բացահայտվեց X քրոմոսոմին շղթայակցված գործոն VIII գենում L1 ռետրոտրանսպոզոնի ինսերցիա, ինչը հիմք դրեց մոբիլ էլեմենտների մուտագեն էֆեկտների ուսումնասիրություններին: Ներկայումս

հայտնի են ավելի քան 100 ախտաբանական դեպքեր, որոնք առաջացել են ռետրոտրանսպոզիցիայի արդյունքում, ներառյալ հեմոֆիլիա, β -թալասեմիա, Դյուշենի մկանային դիստրոֆիան, ցիստիկ ֆիբրոզ, Ապերտի համախտանիշը, նեյրոֆիբրոմատոզը, քաղցկեղը ու նյարդաբանական մի շարք հիվանդություններ:

Մարդու գենոմում հայտնի են 80-100 կոմպլեքս (ակտիվ) L1 ռետրոտրանսպոզոններ, որոնք ունեն պոտենցիալ մուտագեն ակտիվություն: Ընդհանուր առմամբ մարդու հիվանդություն առաջացնող մուտացիաների 0.4 %-ը բաժին է ընկնում ռետրոտրանսպոզոնների ինսերցիաներին: Մուտագեն էֆեկտներն առաջանում են գլխավորապես գեների էքսպրեսիայի կամ սպլայսինգի խաթարման արդյունքում: Օրինակ՝ ցույց է տրվել մարդու էնդոգեն ռետրովիրուսների gag ու pol գեների ակտիվության կապը շիզոֆրենիայի զարգացման ռիսկի հետ: Ավելին, հայտնաբերվել են gag գենի նուկլեոտիդային հաջորդականությանը նման հատվածներ հիվանդների գանգուղեղային հեղուկում: Հետագա ուսումնասիրությունները պարզեցին, որ ռետրովիրուսների սպլիտակուցները կարող են խաթարել նեյրոնների ազդանշանային ուղիները: Օրինակ՝ բացահայտվել է շիզոֆրենիայի զարգացման հետ կապված գեների (BDNF, NTRK2 ու DRD3) գերէքսպրեսիայի կապը env գենի բարձր էքսպրեսիայի հետ նյարդային բջիջների կուլտուրայում: Վերջին տարիներին շիզոֆրենիայով հիվանդների գլխուղեղի բջիջներում ցույց է տրվել, որ env գենը խթանում է երկաթի ու մալոնդիալդեհիդի մակարդակներն ու TFR1 ընկալիչի էքսպրեսիան՝ միաժամանակ ընկճելով գլյուտաթիոնի մակարդակը, ինչը հանգեցնում է միտոքոնդրիոմների թաղանթի վնասմանն ու ֆերոպտոզի ռիսկի բարձրացմանը: Հայտնաբերվել են նաև L1 էլեմենտների բազմաթիվ ինսերցիաներ շիզոֆրենիայով հիվանդների գլխուղեղի պրեֆրոնտալ կեղևի բջիջների տարբեր գեներում, որոնք պատասխանատու են սինափսների կարգավորման համար:

Ռետրոտրանսպոզոնների ինսերցիաներ հայտնաբերվել են նաև տարբեր քաղցկեղային բջիջներում: Օրինակ՝ կոլոռեկտակ քաղցկեղով հիվանդների 1 % դեպքերում հայտնաբերվում են L1 ռետրոտրանսպոզոնի ինսերցիաներ APC գենում, ինչպես նաև 333 այլ սպիտակուց կոդավորող գեներում:

«TCGA» (The Cancer Genome Atlas) ծրագրի շրջանակում բացահայտվել են ավելի քան 800 ռետրոտրանսպոզոնային ինսերցիաներ թոքի, գլխի ու պարանոցի, կոլոռեկտակ ու էնդոմետրիալ քաղցկեղի ժամանակ: Բացահայտված մուտացիաների մեծ մասը կապված էին գեների ինակտիվացման կամ օնկոգենների գերէքսպրեսիայի հետ, որոնք հանգեցրել էին գենոմային անկայունության ու քրոմոսոմային վերակառուցումների:

Ռետրոտրանսպոզիցիան կարող է հանգեցնել նաև սպիտակուցների բջջային տեղակայման խաթարումների ու ախտաբանական վիճակների զարգացմանը: Օրինակ՝ ֆուկուտին գենում (FKTN) SVA ռետրոտրանսպոզոնի ինսերցիան հանգեցնում է ֆուկուլամայի մկանային դիստրոֆիայի առաջացմանը, որի պատճառը սպիտակուցի տեղակայումն է էնդոպլազմային ցանցում Գոլջիի համալիրի փոխարեն:

Այսպիսով՝ տրանսպոզացվող էլեմենտները գենաթույներն են, որոնք խաթարում են ԴՆԹ նատիվ կառուցվածքը: Սակայն դրանք կարող են ունենալ նաև մուտագեն էֆեկտներ՝ խաթարելով գեների էքսպրեսիան, ինակտիվացնելով գեներն ու մակաձեռնվ գենոմային անկայունություն:

4.3.3. Բակտերիաների գենաթունային էֆեկտները

Բակտերիաների գենաթունային էֆեկտները պայմանավորված են ինչպես դրանց կողմից արտադրվող գենաթույներով, այնպես էլ անուղղակի մեխանիզմներով (օրինակ՝ բորբոքային ռեակցիաներով, ROS արտադրությամբ և այլն): Գենաթունային ազդե-

ցության հետևանքով մակաձվում են ԴՆԹ միաշղթա ու երկշղթա վնասվածքներ, որոնց մեծ քանակով առաջացումը կարող է հանգեցնել բջջային ցիկլի արգելակման, ապոպտոզի, սենեսենզի կամ էլ քաղցկեղի առաջացման:

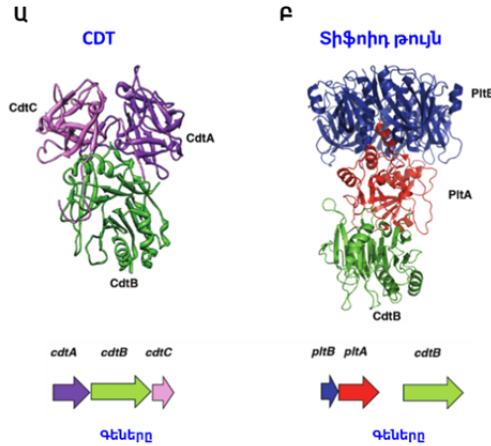
Ներկայումս հայտնի են երեք տիպի բակտերիալ զենաթույներ.

- ցիտոլետալ ընդարձակող թույներ (անգլերեն՝ cytolethal distending toxins, CDT), որոնք արտադրվում են ավելի քան 30 տարբեր տեսակի Գրամ բացասական բակտերիաների կողմից (օրինակ՝ *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*), *Haemophilus ducreyi* (*H. ducreyi*), *Shigella dysenteriae* (*S. dysenteriae*)),
- տիֆոիդ թույնը, որն արտադրվում է *Salmonella enterica* serovar Typhi (*S. Typhi*) շտամի կողմից,
- կոլիբակտիններ, որոնք գլխավորապես արտադրվում են *Escherichia coli* (*E. coli*) B2 ֆիլոգենետիկ խմբի շտամների կողմից:

CDT-ներն ու տիֆոիդ թույնը կոչվում են բազմասպիտակուց AB-տիպի զենաթույներ, իսկ կոլիբակտինները փոքր պոլիկետիդ-պեպտիդային մետաբոլիտներ են:

CDT-ները բաղկացած են ֆերմենտային ակտիվ «A» ենթամիավորից (CdtB) ու երկու թիրախ-կապող «B» ենթամիավորներից (CdtA և CdtC) (Նկ. 65U): Գենաթունային հատկությունը պայմանավորված է «A» ենթամիավորի ԴՆԹագային ակտիվությամբ: Տիֆոիդ թույնը կազմված է երկու «A» ենթամիավորներից (CdtB և PltA) ու ընկալիչ-կապող հոմոպենտամերային ենթամիավորից (PltB) (Նկ. 65Բ): Ֆունկցիոնալ առումով տիֆոիդ թույնի CdtB ենթամիավորը նման է CDT-ների CdtB ենթամիավորին: CDT-ներ կամ տիֆոիդ թույն արտադրող բակտերիաները, որպես կանոն, մարդու պաթոգեններ են: Օրինակ՝ *A. actinomycetemcomitans*,

H. ducreyi, *E. coli*, *C. Jejuni* և *S. Typhi* առաջացնում են բերանի խոռչի, սեռական օրգանների, ստամոքսաղիքային ուղու, կամ հավակարգային հիվանդություններ:



Նկար 65. (U) CDT (*H. ducreyi*) և (F) տիֆոիդ թույների (*S. Typhi*) կառուցվածքը: (U) CdtB ենթամիավորը ԴՆԹազային ակտիվությամբ տեղամասն է, իսկ CdtA և CdtC ենթամիավորները պատասխանատու են բջջին կապվելու ու ինտերնալիզացվելու համար: (F) PtlB հինգ մոնոմերներից կազմված սկավառակին միացած են ԱԿՖ ռիբոզիլ տրանսֆերազային ակտիվությամբ PtlA ու ԴՆԹազային ակտիվությամբ CdtB ենթամիավորները (Grasso et al., 2015):

CDT-ները բացահայտվել են *C. coli*, *C. foetus*, *C. jejuni* և *C. lari* բակտերիաների տեսակներում, ինչպես նաև *E. coli* և *Shigella* բակտերիաներում, որոնք բոլորը կողավորում են *cdt* գեները միևնույն օպերոնում: Հետաքրքիր է, որ CDT-ների ԴՆԹազային ակտիվությունը զգալիորեն զիջում է կաթնասունների ԴՆԹազ I-ի ակտիվությանը: Օրինակ՝ HeLa բջիջներում կաթնասունների ԴՆԹազ I-ը մակաճում է քրոմատինի զգալի փոփոխություններ 4–40 պգ/մլ կոնցենտրացիայով ազդելիս: Իսկ CdtB-ով նմանատիպ էֆեկտ ստանալու համար անհրաժեշտ է 40 մկգ/մլ: Ենթադրվում է, որ այս տարբերության պատճառներից մեկը կարող

է լինել CdtB-ի հավելյալ ֆերմենտային ակտիվությունը: Օրինակ՝ մարդու բջջային կուլտուրաներում ցույց է տրվել CdtB-ի ֆոսֆատազային ակտիվությունը:

Բջիջ ներթափանցելու համար CDT-ները կապվում են թաղանթի N-շղթայակցված գլիկոպրոտեիններին (օրինակ՝ թաղանթային ընկալիչները) և/կամ գլիկոսֆինգոլիպիդներին: Այնուհետև՝ 10 րոպեի ընթացքում, տեղի են ունենում թույնի էնդոցիտոզ, վաղ էնդոսոմի ձևավորում ու ռետրոգրադ փոխադրում դեպի տրանս Գոլջի ու էնդոպլազմային ցանց, որտեղ ճանաչվում է ERAD համակարգի (անգլերեն՝ endoplasmic reticulum-associated degradation pathway) կողմից որպես սխալ ֆոլդինգով սպիտակուց: ERAD համակարգում CDT-ները կտրվում են պրոտեասոմային սպիտակուցների կողմից, ինչի հետևանքով դրանց կորիզային փոխադրման հաջորդականությունը դառնում է հասանելի իմպորտինների համար: Վերջիններս փոխադրում են CDT-ները դեպի բջջակորիզ, որտեղ դրանք մակաձում են ԴՆԹ վնասվածքներ: Նման մեխանիզմով գործում է նաև տիֆոիդ թույնը, որի կառուցվածքում հայտնաբերվել են դեպի էնդոպլազմային ցանց ռետրոգրադ փոխադրման բաղադրիչներ:

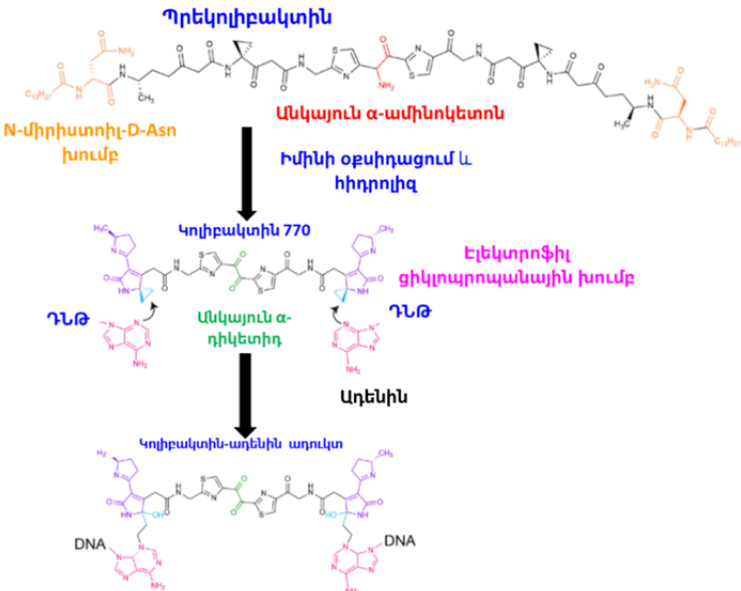
CDT-ները կարող են մակաձել ԴՆԹ միաշղթա ու երկշղթա վնասվածքներ՝ կախված կոնցենտրացիայից: Բացահայտվել է, որ HeLa բջիջներում *E. coli* բակտերիաներից անջատված CDT-ն ցածր չափաբաժնով (50 պգ/մլ) ազդելիս բարձրացնում է ԴՆԹ կոմետների, չH2AX և 53BP1 լոկուսների ու ռեպարացիայի ֆերմենտների մակարդակները: Ընդ որում՝ ԴՆԹ միաշղթա կտրվածքները մակաձվում են ինտոքսիկացիայից 3-6 ժամվա ընթացքում: Հետագայում այս վնասվածքները բջջային ցիկլի S փուլի ընթացքում փոխարկվում են երկշղթա կտրվածքների, քանի որ ռեպլիկացիոն պատառաքաղն արգելակվում է չռեպարացված միաշղթա վնասվածքների առկայության ժամանակ: Մինչդեռ ավելի բարձր կոնցենտրացիաները (75 նգ/մլ) մակաձում են

գլխավորապես ԴՆԹ երկշղթա կտրվածքներ՝ անկախ բջջային ցիկլի փուլից: Պատճառը կարող է լինել այն, որ բարձր կոնցենտրացիաները կարող են հանգեցնել զուգահեռ շղթաներում միմյանց մոտ տեղակայված (<10-20 նգ) միաշղթա կտրվածքների առաջացմանը, որոնք ռեպարացիոն համակարգերը փոխարկում են երկշղթա կտրվածքի: Որպես կանոն CDT-ների ԴՆԹազային ակտիվությունը չի դրսևորում գենոմային սպեցիֆիկություն, սակայն ֆիզիկապես առավել ԴՆԹ հատվածների կտրման հավանականությունն ավելի բարձր է:

Կարևոր է նկատի ունենալ, որ գենաթունային հատկությունների գուգահեռ CDT-ները դրսևորում են նաև պոտենցիալ կանցերոգեն էֆեկտներ: Օրինակ՝ մարդու նորմալ ֆիբրոբլաստների ու աղիքային էպիթելային բջիջների կուլտիվացումը CDT-ի ներկայությամբ մակաձել է կետային մուտացիաներ ու քրոմոսոմային խաթարումներ, որոնք չեն հանգեցրել սենեսենսի ու ապոպտոզի: Ավելին, դիտվել է խարսխումից անկախ աճ, պրոլիֆերատիվ ուղիների ակտիվացում, բջջային չեքփոփոխների ակտիվացման խաթարում և կիսապինդ ազարի միջավայրում աճ: Հետաքրքիր է, որ մարդու նախաուռուցքային աղիքային էպիթելային բջիջներում, որոնք կրում էին կոլոռեկտակ քաղցկեղին բնորոշ մուտացիաներ APC, TP53 և KRAS գեներում, դիտվել են *E. coli* CDT-ով մակաձված ԴՆԹ ու քրոմոսոմների վնասվածքներ և դրանց թերի ռեպարացիա: Միևնույն ժամանակ բջիջները կարողանում էին աճել խարսխումից անկախ կերպով: Ուստի կարելի է ենթադրել, որ CDT-ները կարող են նպաստել նախաուռուցքային ֆենոտիպով բջիջների տրանսֆորմացիային դեպի ուռուցքային ֆենոտիպի:

Կոլիբակտիոնները երկրորդային, փոքր պեպտիդային մետաբոլիտներ են, որոնք մակաձում են ԴՆԹ միջշղթայական կարաններ՝ հանգեցնելով երկշղթա վնասվածքների, քրոմոսոմային խաթարումների ու բջջային ցիկլի արգելակմանը գլխավորապես

G2/M փուլում: Որպես կանոն, կոլիբակտինները պարունակում են երկու ցիկլոպրոպանային մնացորդներ, որոնցից յուրաքանչյուրը կապված է α,β -չհագեցած իմինին (Նկ. 66): Դրա շնորհիվ ցիկլոպրոպանային խմբերը դրսևորում են բարձր էլեկտրոֆիլություն:



Նկար 66. Պրեկոլիբակտինից կոլիբակտին 770-ի սինթեզ և կոլիբակտինի ու ադենինի միջև կարանի առաջացում (Du and Song, 2022):

Կոլիբակտինները գլխավորապես արտադրվում են *E. coli* բակտերիաների շտամների կողմից, որոնք անջատվել են նեոնատալ բակտերիալ մենինգիտով, սեպտիսեմիայով (արյան թունավորում), միզատար ուղիների ինֆեկցիաներով, աղիքային վարակներով, կոլոռեկտալ քաղցկեղով և այլ հիվանդների կենսաբանական նմուշներից: Սակայն կոլիբակտինները կողավորող pks կոդյակը (կամ c1b գեների կլաստեր) հայտնաբերվել է նաև *Klebsiella pneumonia* (*K. pneumonia*), *K. aerogenes* և *Citrobacter*

koseri (*C. koseri*) բակտերիաների գենոմներում: Բակտերիաների ԴՆԹ-ն չի վնասվում կոլիբակտինների ազդեցությամբ, քանի որ դրանք սինթեզվում են որպես ինակտիվ պրեկոլիբակտիններ, որոնք պերիպլազմային համալիրում հիդրոլիզվում են և անցնում ցիկլային վիճակի: Այնուհետև սինթեզված ակտիվ կոլիբակտինը դուրս է բերվում բջջից:

Կոլիբակտիններն առավել հաճախ առաջացնում են միջ-շղթայական կարաններ ադենինների հետ: Ընդ որում՝ բջջի ներթափանցող բակտերիաների կոլիբակտիններն ունեն ավելի բարձր գենաթունային ակտիվություն, քանի որ արտաբջջային միջավայրում դրանք կարող են արագ դեգրադացվել: Յուրյց է տրվել, որ կոլիբակտինները HeLa բջիջներում մակածում են չH2AX լոկուսների մակարդակի բարձրացում, որոնք կոլոկալիզացվում են միջշղթայական կարանների ռեպարացիային մասնակցող FANCD2 սպիտակուցի հետ: Կոլիբակտինների չափաբաժնից կախված գենաթունային էֆեկտները հետազոտվել են նաև ԴՆԹ կոմես մեթոդով: Հատկանշական է, որ կոլիբակտին սինթեզվում է ոչ միայն պաթոգեն բակտերիաների, այլև տարբեր երկրներում որպես պրոբիոտիկ օգտագործվող *E. coli* Nissle 1917 (*EcN*) շտամից : Ընդ որում վերջին տարիներին բացահայտվել է, որ մարդու աղիքային օրգանոիդների կոլտուրայում *EcN*-ը մակածում է կոլոռեկտալ քաղցկեղին բնորոշ մուտացիոն պրոֆիլ, մասնավորապես՝ ATA, ATT, կամ TTT հաջորդականություններում երկրորդ թիմինի փոխարինումներ: Ավելին, կոլիբակտին արտադրող *E. coli* շտամով կո-կոլտիվացված աղիքային օրգանոիդներում հայտնաբերվել են մարդու ավելի քան 5.870 քաղցկեղի գենոմներին (գլխավորապես կոլոռեկտալ քաղցկեղի գենոմին) բնորոշ մուտացիոն պրոֆիլներ:

Ներկայումս իրականացվում են *EcN* շտամի գենաթունային ու մուտագեն հատկությունների ուսումնասիրման լայնածավալ աշխատանքներ:

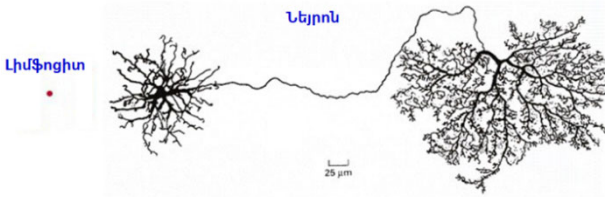
Գրականության ցանկ

1. Aimola G, Beythien G, Aswad A, Kaufer BB. Current understanding of human herpesvirus 6 (HHV-6) chromosomal integration. *Antiviral Res.* 2020;176:104720.
2. Caselli E, D'Accolti M, Caccuri F, et al. The U94 Gene of Human Herpesvirus 6: A Narrative Review of Its Role and Potential Functions. *Cells.* 2020;9(12):2608.
3. Du L, Song J. Delivery, structure, and function of bacterial genotoxins. *Virulence.* 2022; 13(1):1199-1215. doi:10.1080/21505594.2022.2097417
4. Grasso F, Frisan T. Bacterial Genotoxins: Merging the DNA Damage Response into Infection Biology. *Biomolecules.* 2015;5(3):1762-1782. Published 2015 Aug 11. doi:10.3390/biom5031762.
5. Gulve N, Frank C, Klepsch M, Prusty BK. Chromosomal integration of HHV-6A during non-productive viral infection. *Sci Rep.* 2017; 7(1):512.
6. Hill R, Smith D, Canning G, Grey M, Hammond-Kosack KE, McMullan M. Starship giant transposable elements cluster by host taxonomy using k-mer-based phylogenetics. *G3 (Bethesda).* 2025;15(6):jkaf082. doi:10.1093/g3journal/jkaf082.
7. Kazazian HH Jr, Wong C, Youssoufian H, Scott AF, Phillips DG, Antonarakis SE. Haemophilia A resulting from *de novo* insertion of L1 sequences represents a novel mechanism for mutation in man. *Nature.* 1988;332(6160):164-166. doi:10.1038/332164a0.
8. Mui UN, Haley CT, Tying SK. Viral Oncology: Molecular Biology and Pathogenesis. *J Clin Med.* 2017;6(12):111. Published 2017 Nov 29. doi:10.3390/jcm6120111.
9. Pantry SN, Medveczky PG. Latency, Integration, and Reactivation of Human Herpesvirus-6. *Viruses.* 2017; 9(7):194.
10. Pleguezuelos-Manzano C, Puschhof J, Rosendahl Huber A, et al. Mutational signature in colorectal cancer caused by genotoxic pks+ *E. coli*. *Nature.* 2020;580(7802):269-273. doi:10.1038/s41586-020-2080-8.
11. Rosendahl Huber A, Pleguezuelos-Manzano C, Puschhof J, et al. Improved detection of colibactin-induced mutations by genotoxic *E. coli* in organoids and colorectal cancer. *Cancer Cell.* 2024;42(3):487-496.e6. doi:10.1016/j.ccell.2024.02.009.

12. Wallaschek N, Sanyal A, Pirzer F, et al. The Telomeric Repeats of Human Herpesvirus 6A (HHV-6A) Are Required for Efficient Virus Integration. *PLoS Pathog.* 2016;12(5):e1005666.
13. Wells JN, Feschotte C. A Field Guide to Eukaryotic Transposable Elements. *Annu Rev Genet.* 2020;54:539-561. doi:10.1146/annurev-genet-040620-022145.
14. Xue M, Wernke KM, Herzon SB. Depurination of Colibactin-Derived Interstrand Cross-Links. *Biochemistry.* 2020;59(7):892-900. doi:10.1021/acs.biochem.9b01070.
15. Zhang W, Huang C, Yao H, Yang S, Jiapaer Z, Song J, Wang X. Retrotransposon: an insight into neurological disorders from perspectives of neurodevelopment and aging. *Transl Neurodegener.* 2025 Mar 25;14(1):14. doi: 10.1186/s40035-025-00471-y.
16. Zhou S, Sakashita A, Yuan S, Namekawa SH. Retrotransposons in the Mammalian Male Germline. *Sex Dev.* 2022;16(5-6):404-422. doi:10.1159/000520683.

4.4. Էպիգենաթույներ

Տասնամյակներ շարունակ այն հարցը, թե միևնույն գենոտիպ ունեցող տարբերակված բջիջների բազմազանությունը ինչպես է զարգանում մեկ բջջից՝ զիգոտից, բորբոքում էր նախամուլեկուլային կենսաբանության ժամանակաշրջանի գիտական հանրության երևակայությունը: Ենթադրվում էր, որ բջիջների ու հյուսվածքների տարբերակման ժամանակ որոշ գեներ, որոնք առկա էին զիգոտում, ենթարկվում էին դելեցիայի: Իսկապես, բավականին բարդ էր պատկերացնել, որ միմյանցից այդչափ տարբերվող նեյրոնն ու լիմֆոցիտը կրում են միևնույն գենոմը (Նկ. 67):



Նկար 67. Նկարում ցույց տրված այս նեյրոնը թույլ է տալիս ցանցաթաղանթում ստանալ էլեկտրական ազդանշաններ բազմաթիվ այլ բջիջներից ու փոխանցել դրանք հարևան բջիջներին: Լիմֆոցիտը արյան բջիջներից է, որը մասնակցում է իմունային պատասխանին և շրջանառվում է օրգանիզմում: Այս երկու բջիջները կրում են միևնույն գենոմը, սակայն տարբերվում են գեների էքսպրեսիայով (Alberts et al., 4th edition, 2002):

1940 թ. բրիտանացի կենսաբան Կոնրադ Վեդինգտոնը մշակեց «Էպիգենետիկա» տերմինը, որը դասակարգում էր զիգոտից մինչև հասուն օրգանիզմի ձևավորմանը հանգեցնող բոլոր կենսաբանական իրադարձությունները: Ներկայումս էպիգենետիկական սահմանվում է որպես գեների ֆունկցիաների միտոտիկ ու մեյոտիկ ժառանգական փոփոխությունների ամբողջություն, որը չի կարելի բացատրել ԴՆԹ-ում նուկլեոտիդային հաջորդականությունների փոփոխությամբ: Հետևաբար էպիգենոմը բաղկացած է քիմիական միացություններից (ներառյալ սպիտակուցները) ու էպիգենետիկական փոփոխություններից, որոնք որոշում են բջջի «ինքնությունը» օրգանիզմի հյուսվածքային բազմազանության մեջ:

Գեների էքսպրեսիայի էպիգենետիկական կարգավորումներն իրականանում են ԴՆԹ մեթիլացման, հիստոնների հետաքրանսլյացիոն մոդիֆիկացիաների, չկոդավորող ՌԴՆ-ների ու քրոմատինի տարածական դասավորության կարգավորման միջոցով:

Էպիգենետիկական փոփոխությունները կարող են ազդել ԴՆԹ-ի ու հիստոնային սպիտակուցների միջև փոխազդեցության ուժի, հետևաբար ԴՆԹ փաթեթավորման մակարդակի վրա: ԴՆԹ

փաթեթավորման առանցքային գործոնները լիզինով ու արգինինով հարուստ **միջուկային հիստոններն** են (դրական լիցքով), որոնք առաջացնում են հետերոդիմերներ՝ H2A-H2B ու H3-H4: Հիդրոֆոբ փոխազդեցությունների միջոցով երկուական H2A-H2B ու H3-H4 հետերոդիմերներն առաջացնում են հիստոնային օկտամերը, որի շուրջ փաթաթվում է 147 նգ չափ ունեցող ԴՆԹ (~1.7 պտույտ), և ձևավորում է նուկլեոսոմը՝ քրոմատինի կրկնվող միավորը:

Լինքերային H1 հիստոնները նուկլեոսոմին միացնում են ԴՆԹ 10 նգ չափ ունեցող մաս միջուկային հիստոնների հետ ԴՆԹ փոխազդեցության սկզբի ու պտույտի ավարտի հատվածում, ինչի շնորհիվ այս համակարգը կայունանում է և կոչվում քրոմատոսոմ: Դրա արդյունքում քրոմատինն անցնում է փաթեթավորման երկրորդային՝ սոլենոիդի մակարդակի, որտեղ H4 հիստոնի N-ամինոտերմինալ պոչիկները փոխազդում են H2A հիստոնների հետ: Հիստոնային պոչիկների քիմիական մոդիֆիկացիաների (ացետիլացում, դեացետիլացում, ուբիքվիտինացում, ֆոսֆորիլացում և այլն), չկոդավորող ՌՆԹ-ների էքսպրեսիայի ու ԴՆԹ մեթիլացման արդյունքում նուկլեոսոմում փոփոխվում է ԴՆԹ-հիստոն փոխազդեցության ուժը: Դրա հետևանքով փոխվում է ԴՆԹ հասանելիությունը տրանսկրիպցիայի գործոնների և այլ սպիտակուցների համար: Այսպիսի փոփոխություններն ընկած են էուքրոմատինային ու հետերոքրոմատինային հատվածներում գեների էքսպրեսիայի կարգավորման մեխանիզմների հիմքում:

Շրջակա միջավայրի գործոնների ազդեցությամբ առաջացող էպիգենետիկական փոփոխություններից առավել լավ ուսումնասիրված են ԴՆԹ մեթիլացման խաթարումները: Սոմատիկ բջիջներում ԴՆԹ մեթիլացումն առաջանում է գուանինին նախորդող ցիտոզինային հիմքերի (CpG դինուկլեոտիդ) C5 դիրքում, որի արդյունքում ձևավորվում է 5-մեթիլ ցիտոզին (5mC), ինչը դառնալի փոփոխություն է: Մարդու գենոմում հայտնաբերվել են գրեթե 28

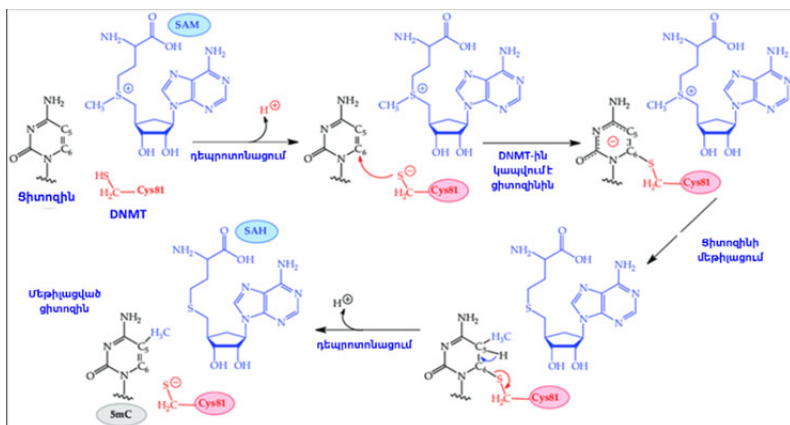
միլիոն CpG դինուկլեոտիդներ, որոնց ~70-80 %-ը հանդիպում է գեների պրոմոտորներում: CpG դինուկլեոտիդները կենտրոնացած են CpG կղզյակներում, որոնք 1000 նգ ԴՆԹ-ի հատվածներ են՝ >50 % CpG պարունակությամբ: Էմբրիոնային բնային բջիջներում բացահայտվել են CpA մեթիլացված հատվածներ, որոնք կազմում են մեթիլացված ցիտոզինների 25 %-ը: Մեթիլացված CpA հանդիպում են նաև օցիտներում ու նեյրոններում: Վերջին տարիներին նույնականացվել են նաև իՌՆԹ մեթիլացված մոլեկուլներ (N⁶-մեթիլ ադենին), որոնց կենսաբանական նշանակությունը դեռևս պարզ չէ:

Կաթնասունների գենոմի մեթիլացման պրոֆիլը ձևավորվում է էմբրիոնալ փուլում և փոխանցվում հասուն օրգանիզմի բոլոր բջիջներին ԴՆԹ-ն մեթիլացնող, մեթիլացված հատվածներին կապվող ու դեմեթիլացնող սպիտակուցների գործունեությամբ:

ԴՆԹ մեթիլացման ռեակցիաները կատալիզվում են ԴՆԹ-մեթիլ տրանսֆերազների (անգլերեն՝ DNMT) մասնակցությամբ (Նկ. 68): Մարդու գենոմը կոդավորում է հինգ DNMT՝ DNMT1, DNMT2, DNMT3A, DNMT3B ու DNMT3L տրանսֆերազներ: DNMT3A ու DNMT3B ֆերմենտները կատալիզում են *de novo* մեթիլացումը, իսկ DNMT1-ը վերականգնում է ԴՆԹ մեթիլացումը ռեպլիկացիայից հետո չմեթիլացված ԴՆԹ-ի դուստր շղթայում: DNMT1, DNMT3A ու DNMT3B տրանսֆերազները կոչվում են **կանոնավոր**, իսկ DNMT2 ու DNMT3L՝ **ոչ կանոնավոր**, քանի որ չունեն բնորոշ կատալիտիկ ակտիվություն: DNMT2 ներկայումս վերանվանվել է TRDMT1 (անգլերեն՝ tRNA (cytosine-5)-methyltransferase) և գլխավորապես մասնակցում է որոշ փՌՆԹ-ների մեթիլացմանը: DNMT3L առաջացնում է հետերոդիմեր DNMT3A տրանսֆերազի հետ և բարձրացնում ԴՆԹ-ի նկատմամբ աֆինությունը: DNMT3A ու DNMT3B տրանսֆերազները ունեն C-տերմինալ մեթիլտրանսֆերազի դոմեյն, որին նախոր-

դում են կարգավորիչ տեղամասերը՝ պրովին-տրիպտոֆան-տրիպտոֆան-պրովին (PWWP, ԴՆԹ-սպիտակուց փոխազդեցություն) և ATRX–DNMT3–DNMT3L-տիպի (ADD, սպիտակուց-սպիտակուց փոխազդեցություն) ցինկային մատների դոմեյնները: Այս դոմեյններն առանցքային են քրոմատինի ու դրա վերակառուցմանը մասնակցող այլ գործոնների հետ փոխազդեցության համար:

Կատալիտիկ ակտիվություն ունեցող բոլոր DNMT-ներն օգտագործում են S-ադենոզիլ մեթիոնինը (SAM) որպես մեթիլ խմբի դոնոր ու ԴՆԹ շղթայում հիմքը շրջելու մեխանիզմը (անզլերեն՝ base-flipping)՝ նուկլեոտիդը մեթիլացնելու համար: Մեթիլացման ռեակցիան ինիցիացվում է տրանսֆերազի PCQ (պրովին-ցիստեին-գլյուտամին, motif IV) կոնսերվատիվ հատվածի ցիստեինային մնացորդով, որը նուկլեոֆիլ հարձակում է գործում ցիտոզինային օղակի C⁶ դիրքի ատոմի վրա: Դրան հաջորդում է S-ադենոզիլ մեթիոնինից մեթիլ խմբի փոխադրումը ցիտոզինի C⁵ ատոմին, որի հետևանքով հեռացվում է H⁺, և ձևավորվում է 5mC (Նկ. 68):



Նկար 68. DNMT-ով կատալիզվող ԴՆԹ մեթիլացման սխեման: Ռեակցիայի արդյունքում SAM-ից մեթիլ խումբը տեղափոխվում է ցիտոզինի C⁵ դիրք, իսկ որպես արգասիք առաջանում է S-ադենոզիլ հոմոցիստեին (SAH) (Jerbi et al., 2017):

Էմբրիոնալ բջիջներում ԴՆԹ ճշգրիտ մեթիլացումն ու բջջային կիսումների արդյունքում կրկնապատկվող ԴՆԹ դուստր շղթաներին մեթիլացման պրոֆիլի փոխանցումը խիստ կարևոր է սաղմի նորմալ զարգացման համար: DNMT3A ու DNMT3B կողմորոգ գեներից յուրաքանչյուրի նոքաուրջ մկների մոտ հանգեցնում է էմբրիոնալ լետալության, ինչը ցույց է տալիս, որ այս գեներն ունեն միմյանցից անկախ ֆունկցիաներ, որոնք չեն կոմպենսացվում մեկը մյուսով: Մարդկանց մոտ DNMT3A ու DNMT3B էքսպրեսիայի փոփոխություններ հայտնաբերվել են քաղցկեղի, նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունների, ICF համախտանիշի (անզլերեն՝ Immunodeficiency, Centromeric instability and Facial anomalies syndrome) և ախտաբանական այլ վիճակների ժամանակ: Բացահայտվել է DNMT3A ու DNMT3B պոլիմորֆ տարբերակների ու կանանց մոտ սպոնտան վիժումների միջև կապը: DNMT3A ու DNMT3B էքսպրեսիայի խաթարումներ բացահայտվել են նաև շրջակա միջավայրի տարբեր գործոնների՝ ալկոհոլի, ծխախոտի, օդի աղտոտիչների, ծանր մետաղների ու պոլիցիկլիկ արոմատիկ ածխաջրածինների ազդեցության պայմաններում: Ներկայումս հայտնի են ավելի քան 500 միացություններ, այդ թվում՝ բնական ծագման, որոնք ունակ են արգելակելու DNMT ակտիվությունը: Այդպիսի բնական ծագման միացություններից են կուրկումինը, էպիգալոկատեխին գալատը, գենիստեինը, կվերցետինը, լիկոպենը և այլ միացություններ: Օրինակ՝ կանաչ թեյի պոլիֆենոլ էպիգալոկատեխին գալատն արգելակում է DNMT1, DNMT3A ու DNMT3B ակտիվությունը՝ կապվելով կատալիտիկ տեղամասի հետ և ընկճում ԴՆԹ մեթիլացումը:

Այսպիսով՝ 5mC առաջացումը ԴՆԹ որոշակի լոկուսներում բջջի նորմալ կենսագործունեության անհրաժեշտ պայմաններից է, որը կարգավորվում է մեթիլացնող ֆերմենտների կողմից, սակայն բարձրացնում է կետային մուտացիաների սպոնտան մակարդակը: Հետևաբար էվոլյուցիայի ընթացքում բջջում պետք է

զարգանար մեկ այլ ուղի, որով կիրականանար 5mC-ի դեմեթիլացումն ու փոխարինումը ցիտոզինով: Ֆերմենտային ճանապարհով ԴՆԹ-ից 5mC աստիճանական հեռացումը կատալիզվում է TET (անգլերեն՝ ten-eleven translocation) խմբի Fe(II) ու α -կետոլյուտարատ կախյալ դիօքսիզենազներով, որոնք օքսիդացնում են 5mC, ու արդյունքում առաջանում են 5-հիդրօքսիմեթիլ ցիտոզին (5hmC), 5-ֆորմիլ ցիտոզին (5fC) ու 5-կարբօքսիմեթիլ ցիտոզին (5caC): 5fC-ն ու 5caC-ն հեռացվում են թիմին-ԴՆԹ-գլիկոզիլազի (TDG) միջոցով, իսկ ցիտոզինը վերականգնվում է հիմքերի էքսցիզիոն ռեպարացիայի ճանապարհով: TDG մոնոֆունկցիոնալ ֆերմենտ է, որը պատկանում է ուրացիլ-ԴՆԹ-գլիկոզիլազների գերընտանիքին և հեռացնում է թիմինը G-T դուպլեքսներից (առաջանում են 5mC սպոնտան դեամինացման արդյունքում): Այս ֆերմենտները նույնպես կիրառում են հիմքը շրջելու մեխանիզմը և կատալիզում են N-գլիկոզիդային կապի հիդրոլիզը դեզօքսիտիբոզի ու ազոտային հիմքի (թիմին) միջև, որի արդյունքում ԴՆԹ շաքարաֆոսֆատային հենքում գոյանում են ալիքիմիդիկնային հատվածներ (AP-սայթ): AP-սայթում AP-էնդոնուկլեազը հիդրոլիտիկ ճանապարհով կտրում է ֆոսֆոդիեսթերական կապը, որի արդյունքում հարևան նուկլեոտիդներում առաջանում են 5'-դեզօքսիտիբոզ ֆոսֆատային ու 3'-հիդրօքսիլային հատվածներ: Հաջորդ փուլում ԴՆԹ-պոլիմերազը հեռացված նուկլեոտիդի փոխարեն ավելացնում է գուանինին կոմպլեմենտար ցիտոզինը, իսկ ԴՆԹ-լիզազը վերականգնում է ցիտոզինի ու հարևան նուկլեոտիդների միջև կապերը:

5mC-ի դեմեթիլացումն արգելակվում է, երբ մուտացված իզոցիտրատ դեհիդրոզենազի (IDH1/2) մասնակցությամբ սինթեզվող 2-հիդրօքսիզլյուտարատը կապվում է TET խմբի սպիտակուցների հետ: Նման երևույթ բացահայտվել է գլիոմայի ու սուր միելոիդ լեյկեմիայի բջիջներում, որոնցում ցույց է տրվել 2-հիդրօքսիզլյուտարատի գերսինթեզ: Դրա հետևանքով արգելակվում է

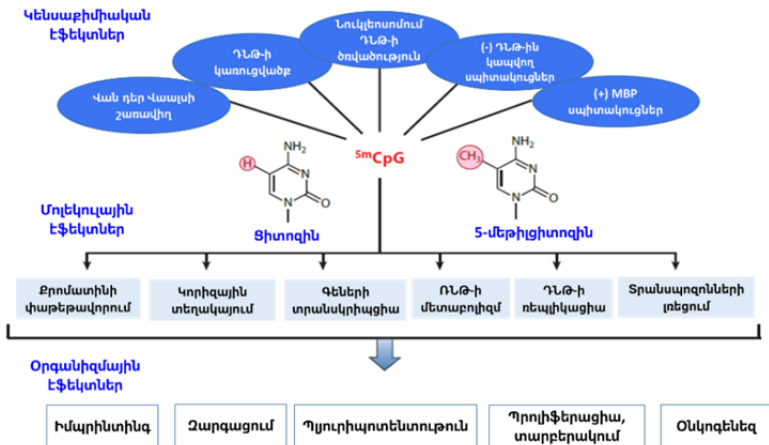
5mC→5hmC անցումը, ինչը կարող է ակտիվացնել օնկոգենները՝ ընկճելով օնկոսուպրետորները: Այսպիսով՝ 2-հիդրօքսիզյուրուտարատը էպիգենետիկական ակտիվությամբ օնկոմետաբոլիտ է:

TET խմբի սպիտակուցների ֆունկցիան կարող է արգելակվել նաև միջավայրի որոշ գործոնների ազդեցությամբ: Օրինակ՝ ճարպերի բարձր քանակությամբ սննդակարգով սնվող լաբորատոր մկների սրտի մեզենքիմային բջիջներում դիտվել են TET ներկորիզային սպիտակուցների, թիմին-ԴՆԹ գլիկոզիլազի և α -կետոզյուտարատի սինթեզի խաթարումներ: Ցույց է տրվել նաև TET1 գենի էքպրեսիայի ընկճում ակոհոլայի չարաշահման հիվանդությամբ տառապողների ուղեղիկի բջիջներում: Լաբորատոր կենդանիների գլխուղեղի տարբեր բջիջներում դիտվել են TET գեների էքպրեսիայի փոփոխություններ ֆիզիկական ծանրաբեռնվածության ազդեցությամբ: Այսպիսով՝ կենսակերպի տարբեր գործոնների էպիգենետիկական էֆեկտները կարող են պայմանավորված լինել ԴՆԹ մեթիլացման փոփոխությամբ: Լաբորատոր կենդանիների մոտ այդ էֆեկտները կարող են դրսևորվել նաև տրանսգեներացիոն մեխանիզմով, ինչը, սակայն, լիովին չի պարզաբանված մարդկանց պոպուլյացիայում:

5mC սպոնտան կամ ոչ ֆերմենտային դեմեթիլացումը հաճախ տեղի է ունենում հիդրօքսի ռադիկալներով օքսիդացման պատճառով, որի արդյունքում ձևավորվում է թիմին, և առաջանում է տրանզիցիայի տիպի մուտացիա (C→T):

ԴՆԹ մեթիլացման ու դեմեթիլացման մեխանիզմների խաթարումներն առաջացնում են հիպերմեթիլացում ու հիպոմեթիլացում: Գեների պրոմոտորային հատվածներում հիպերմեթիլացումը հանգեցնում է դրանց լռեցման, իսկ հիպոմեթիլացումը դիտվում է ակտիվ տրանսկրիպցիայի ենթարկվող գեներում: Այսպիսով՝ ԴՆԹ մեթիլացումը գեների էքսպրեսիայի համար գործում է «մոլեկուլային անջատիչի» պես: Ուստի ԴՆԹ մեթիլացման վրա ազդող էպիգենաթոյները կարող են ունենալ տարատեսակ ազ-

դեցույթուններ կենսաքիմիական, մոլեկուլային ու օրգանիզմային մակարդակներում (Նկ. 69):



Նկար 69. ԴՆԹ-ում 5mC-ի ազդեցությունը կենսաքիմիական, մոլեկուլային ու օրգանիզմային մակարդակներում: Կենսաքիմիական և մոլեկուլային էֆեկտները պայմանավորում են օրգանիզմի նորմալ զարգացումը, ֆիզիոլոգիան ու ախտաբանական հետևանքները: MBP - methyl-CpG binding proteins (Franchini et al., 2012):

ԴՆԹ մեթիլացման վրա ազդող շրջակա միջավայրի էպիգենետիկ փոփոխությունները են նաև որոշ ծանր մետաղներ (օրինակ՝ Cd, Hg, Cr, As, Pb), օրգանական միացություններ (օրինակ՝ բիսֆենոլ A, ֆորմալդեհիդ), օդի աղտոտիչներ (հատկապես պինդ մասնիկները՝ PM₁₀ կամ PM_{2.5}), որոնց բացասական ազդեցությունները ցույց են տրվել մարդու ու կենդանիների բջիջներում: Այս գործոնների էպիգենետիկական էֆեկտները գլխավորապես պայմանավորված են ակտիվ ռադիկալների առաջացմամբ, ԴՆԹ մեթիլացման ու ռեպարացիայի ֆերմենտների ակտիվության փոփոխությամբ, քրոմատինի վերախմբավորումներով, ադուկտների առաջացմամբ և այլն: Օրինակ՝ պրենատալ շրջանում խմելու ջրի միջոցով անօրգանական արսենի (IARC 1) ազդեցությանը ենթարկված նո-

րածինների պորտալարի արյան լեյկոցիտներում բացահայտվել են ավելի քան 2900 գեների մեթիլացման փոփոխություններ: Հետաքրքիր է, որ անօրգանական արսենի ազդեցությանը ենթարկված նորածին առնետների գլխուղեղի հյուսվածքներում զգալիորեն ընկճվում են DNMT և TET ֆերմենտների մակարդակները:

Երբեմն հանդիպում են նաև մուտագեն ու էպիգենաթունային փոփոխությունների զուգակցումներ: Օրինակ՝ ԱՖՅ1-8,9-էպօքսիդը ԴՆԹ կառուցվածքում առաջացնում է N⁷ գուանինային ադուկտներ, ինչը կոռելացվում է MGMT, p16 և RASSF1A օնկոսուպրեսորների պրոմոտորների հիպերմեթիլացումից կախյալ լռեցման հետ: Հարկավոր է հիշել, որ ոչ բոլոր էպիգենետիկական խաթարումներն ունեն կանցերոզեն ազդեցություն: Ուստի կանցերոզենեզի հետ կապված էպիգենաթոյների նույնականացումն ու դասակարգումը ժամանակակից գենաթունաբանության կարևոր խնդիրներից են:

Շրջակա միջավայրի առավել տարածված և վտանգավոր աղտոտիչներից է Pb-ը, որն ունի (էպի)գենաթունային, ներյութունային, մուտագեն ու օտոտոթունային (խաթարում է լսողությունը) էֆեկտներ: Նորածին երեխաների ոտքի կրնկի արյան չորացած դաջվածքների նմուշներում ցույց են տվել, որ արյան մեջ Pb-ի կոնցենտրացիան հակադարձ կոռելացվում է ԴՆԹ 33 CpG լոկուսների մեթիլացման հետ: Բացահայտված որոշ լոկուսներ գտնվում են նեյրոգենեզն ու օրգանիզմի զարգացումը կարգավորող գեներում:

Հատկանշական է, որ հիմքերի սպոնտան կամ մակածված մեթիլացում կարող է առաջանալ նաև այլ նուկլեոտիդներում, սակայն այսպիսի փոփոխությունները չեն համարվում էպիգենետիկական, այլ **ալկիլացման մուտագեն էֆեկտների մոլեկուլային կենսամարկերներ** են: Օրինակ՝ կաթնասունների յուրաքանչյուր բջջում մեկ օրվա ընթացքում սպոնտան ճանապարհով կարող են առաջանալ մինչև 4.000 N⁷-մեթիլգուանին, 600 N³-մեթիլադենին

ու 10-30 **O⁶-մեթիլգուանին**: N⁷-մեթիլգուանինը չի ունենում զգալի էֆեկտներ բջջի կենսագործունեության համար, սակայն N⁷-մեթիլգուանինի ռեպարացիայի ընթացքում կարող են առաջանալ ապուրինային հատվածներ, իսկ իմիդազոլային օղակի վնասվելու արդյունքում՝ ֆորամալիդոպիրիմիդիններ: O⁶-մեթիլգուանինն ու O⁴-մեթիլթիմինն ու O⁴-էթիլթիմինը մուտագեն փոփոխություններ են, որոնք առաջացնում են համապատասխանաբար G→A ու T→C տրանզիցիաներ: Իսկ N³-մեթիլադենինը բջջաթունային փոփոխություն է, որն արգելակում է ԴՆԹ ռեպլիկացիան ԴՆԹ-պոլիմերազի ու ադենինի միջև փոխազդեցության խաթարման միջոցով և մակածում է ապոպտոզ:

Ներկայումս OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development) թեստավորման ուղեցույցներում բացակայում են էպիգենետիկական խաթարումների գնահատման սպեցիֆիկ թեստեր: Այդպիսի թեստերը կարող են զգալի նշանակություն ունենալ հատկապես ոչ գենաթունային կանցերոզների նույնականացման ու էպիգենետիկական մեխանիզմով ազդող դեղանյութերի (օրինակ՝ ազացիտիդին, պանոբինոստատ) թեստավորման համար:

Գրականության ցանկ

1. Franchini DM, Schmitz KM, Petersen-Mahrt SK. 5-Methylcytosine DNA demethylation: more than losing a methyl group. *Annu Rev Genet.* 2012; 46:419-441.
2. Jerbi J, Springborg M, den-Haan H, Cerón-Carrasco J. S-adenosyl-l-methionine analogs as enhanced methyl donors: Towards novel epigenetic regulators. *Chemical Physics Letters.* 2017; 690:74-81.
3. Kohli RM, Zhang Y. TET enzymes, TDG and the dynamics of DNA demethylation. *Nature.* 2013 Oct 24;502(7472):472-9.
4. Lee KW, Pausova Z. Cigarette smoking and DNA methylation. *Front Genet.* 2013;4:132.
5. Lyko F. The DNA methyltransferase family: a versatile toolkit for epigenetic regulation. *Nat Rev Genet.* 2018;19(2):81-92.

6. Ma B, Stepanov I, Hecht SS. Recent Studies on DNA Adducts Resulting from Human Exposure to Tobacco Smoke. *Toxics*. 2019;7(1):16.
7. Marczylo EL, Jacobs MN, Gant TW. Environmentally induced epigenetic toxicity: potential public health concerns. *Crit Rev Toxicol*. 2016; 46(8):676-700.
8. Montrose L, Goodrich JM, Morishita M, et al. Neonatal Lead (Pb) Exposure and DNA Methylation Profiles in Dried Bloodspots. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(18):6775.
9. Negri A, Naponelli V, Rizzi F, Bettuzzi S. Molecular Targets of Epigallocatechin-Gallate (EGCG): A Special Focus on Signal Transduction and Cancer. *Nutrients*. 2018;10(12):1936.
10. Pidugu LS, Dai Q, Malik SS, Pozharski E, Drohat AC. Excision of 5-Carboxylcytosine by Thymine DNA Glycosylase. *J Am Chem Soc*. 2019;141(47):18851-18861.
11. Saldívar-González FI, Gómez-García A, Chávez-Ponce de León DE, et al. Inhibitors of DNA Methyltransferases From Natural Sources: A Computational Perspective. *Front Pharmacol*. 2018; 9:1144.
12. Xu W, Yang H, Liu Y, et al. Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α -ketoglutarate-dependent dioxygenases. *Cancer Cell*. 2011;19(1):17-30.

4.5. Միկրոպլաստիկ

Աշխարհում պլաստմասսի արտադրությունը սկսվել է դեռևս 1900 թվականից և մարդու առօրյա կյանքում կիրառվում է բազմաթիվ նպատակներով, օրինակ՝ տարբեր պարագաների ու սննդամթերքների փաթեթավորման, հեղուկների շշացման, համակարգիչների ու տեխնիկայի պատրաստման, հագուստի, կոսմետիկ միջոցների արտադրման և մի շարք այլ նպատակներով: Որպես կանոն պլաստմասսից պարագաները դասակարգվում են ըստ իրենց առաջնային պոլիմերի կամ կոդմնային շղթայի քիմիական բաղադրության, օրինակ՝ ակրիլներ, պոլիէթերներ, սի-

լիկոններ, պոլիէթիլեններ, պոլիպրոպիլեններ, պոլիուրեթաններ ու հալոգենացված պլաստիկներ: Յույց է տրվել, որ 2023 թ. պլաստմասե պարագաների արտադրանքի ընդհանուր զանգվածը կազմել է ավելի քան 400 մլն տոննա, իսկ 2040 թ. սպասվում է, որ կկազմի ավելի քան 540 մլն տոննա:

Աշխարհի աղբի 10 %-ը բաժին է ընկնում պլաստմասին: Մակայն պլաստմասից պատրաստված պարագաների վերամշակումը բարդ խնդիր է, իսկ միջավայրում հայտնված պլաստմասը տասնամյակների ընթացքում դանդաղորեն քայքայվում է ու հայտնվում համաշխարհային օվկիանոսում, մեր շնչած օդում, ըմպած հեղուկներում ու օգտագործած սննդում:

Յույց է տրվել, որ շրջակա միջավայր արտանետված պլաստմասե պարագաները ժամանակի ընթացքում կարող են տրոհվել ավելի փոքր մասնիկների ՈւՄ ճառագայթների ազդեցությամբ, ջրի ալիքների ազդեցությամբ, օքսիդացմամբ, հիդրոլիզով, որոշ բակտերիաների, միջատների ու նույնիսկ կրծողների ազդեցությամբ: Ըստ չափի պլաստմասի այս կտորները բաժանում են երկու խմբի՝ նանոպլաստիկներ (1 նմ մինչև 1 մկմ, ՆՊ) ու միկրոպլաստիկներ (<5 մմ, ՄՊ):

Մարդու օրգանիզմ ՆՊ ու ՄՊ ներթափանցում են գլխավորապես ստամոքսաղիքային ու շնչառական ուղիներով, սակայն որոշ հետազոտություններ ցույց են տվել նաև մաշկով ներթափանցելու հնարավորությունը: Հյուսվածքներում ՆՊ-ի ու ՄՊ-ի կուտակումները կարող են դառնալ ախտաբանական տարբեր վիճակների պոտենցիալ պատճառ, ներառյալ շնչառական խնդիրները, բորբոքային վիճակը, նյարդաբանական ախտանիշները, նույնիսկ աղիքային միկրոբիոմի խաթարումները: Մի շարք հետազոտություններում բացահայտվել են ՆՊ ու ՄՊ բջջաթունային ու գենաթունային էֆեկտները: Հետազոտվել են նաև ՄՊ-ի կլաստոգեն ու անէուգեն էֆեկտները քրոմոսոմային մակարդակում: Մակայն մոլեկուլային մեխանիզմները դեռևս պարզ չեն:

Ենթադրվում է, որ մարդու օրգանիզմում ՄՊ ներթափանցման գլխավոր ճանապարհը ստամոքսաղիքային ուղին է: Աշխարհի 14 երկրներից նմուշառված խմելու ջրերի 81 % նմուշներում բացահայտվել է ՄՊ-ի առկայություն, գլխավորապես <5 մմ չափ ունեցող ֆիբրիլների (թելանման կառուցվածք) տեսքով: Տարբեր չափ (5-1350 մկմ) ունեցող ՄՊ-ներ բացահայտվել են նաև հանքային ջրերում, ընդ որում, ինչպես ապակուց շշերի նմուշներում, այնպես էլ պոլիէթիլեն տերեֆտալատից պատրաստված շշերի նմուշներում՝ մինչև 6292 ՄՊ/լ կոնցենտրացիայով: Շաբաթական հաշվարկով միջինում յուրաքանչյուր մարդ կլանում է 0.1-5 գ ՄՊ, որը համարժեք է վճարային պլաստիկ քարտի զանգվածին: Ուստի զարմանալի չէ, որ ՄՊ (20-500 մկմ) հայտնաբերվում է նաև մարդու կղանքում:

ՆՊ-ները գլխավորապես հայտնաբերվում են թոքային հյուսվածքում: Օդում տարածվող ՆՊ-ների ու ՄՊ-ների աղբյուրները կարող են լինել հագուստը, գյուղատնտեսական մնացորդները, ինչպես նաև ավտոմեքենաների անվադողերի ռետինը, որը տարածվում է օդում մեխանիկական մաշվածության հետևանքով: Թոքերի ավելույսը մտավորապես 150 մ² է և մոտ 1 մկմ հաստությամբ հյուսվածքային պատնեշ է: Այս բարակ պատնեշը հնարավորություն է տալիս ՆՊ-ներին ներթափանցելու մազանոթներ և տարածվելու ամբողջ օրգանիզմում: Օրինակ՝ մահացած մարդկանց 20 թոքային հյուսվածքի աուտոպսիայի 13 նմուշներում հայտնաբերվել են պոլիստիրենից կազմված ՄՊ-ների ֆիբրիլներ: Իսկ ստիրենի (IARC 2A) արտադրության ոլորտում առանց շնչառական ուղիները պաշտպանող միջոցներով աշխատող մարդկանց մեզում հայտնաբերվել են դրա մետաբոլիտները՝ մանդելաթթու ու ֆենիլգլիօքսիլաթթու: Կրծողների մոտ կատարված հետազոտություններում ցույց է տրվել թոքի քաղցկեղի առաջացումը ստիրենի ազդեցությանը ենթարկված կենդանիների խմբում: Սակայն մարդկանց մոտ ստիրենի կանցերոգենու-

թյունը դեռևս պետք է գնահատել համաճարակաբանական տվյալների ու կենսաբանական էֆեկտների մոլեկուլային մեխանիզմների համադրությամբ:

Ստիրենային ՆՊ-ներ հայտնաբերվել են նաև այս ՆՊ-ներով մշակված առնետների սաղմերի հյուսվածքներում: Հետևաբար ՆՊ-ները կարող են հաղթահարել պլացենտայի պատնեշն ու անցնել պտղին մոր օրգանիզմից: ՄՊ-ներով մշակված էգ առնետների ձվարաններում դիտվել է ապոպտոզ, իսկ արու առնետների մոտ՝ սպերմատոզոիդների կենսունակության նվազում: ՄՊ-ներ հայտնաբերվում են նաև մարդու պլացենտայի նմուշներում ու արյան մեջ:

Վերջին տարիներին կատարված հետազոտությունները բացահայտել են ՄՊ-ների առկայությունը տարբեր երկրներում հետազոտված տղամարդկանց սպերմայի նմուշներում: Օրինակ՝ Իտալիայում կատարված հետազոտության համաձայն՝ ՄՊ-ներ (2-6 մկմ) հայտնաբերվել են հետազոտված առողջ տղամարդկանց սպերմայի նմուշների 60 %-ում, որտեղ ՄՊ-ները կազմված են եղել պոլիպրոպիլենից, պոլիէթիլենից, պոլիէթիլեն տերեֆտալատից, պոլիստիրենից, պոլիվինիլբլորիդից, պոլիկարբոնատից, պոլիօքսիմեթիլենից ու ակրիլից, ինչը խոսում է սննդի և/կամ օդի միջով ներթափանցման մասին: Չինաստանում հետազոտված 113 տղամարդկանց սպերմաների բոլոր նմուշներում հայտնաբերվել են 3-5 տարբեր ՄՊ-ներ (1.2-20 մկմ): Ընդ որում՝ պոլիտետրաֆտորէթիլենի ազդեցությանը ենթարկված անձանց խմբում հայտնաբերվել են նաև սպերմատոզոիդների կոնցենտրացիայի ու պրոգրեսիվ շարժունակությամբ սպերմատոզոիդների ցածր մակարդակներ: ՄՊ-ներ հայտնաբերվել են նաև մարդու ու կենդանիների սերմնարաններում, սակայն դրա կապը սպերմայի որակի կամ ֆերտիլության հետ դեռևս պարզ չէ:

Ինչպե՞ս կարող է պլաստմասը մակաձել ԴՆԹ ու քրոմոսոմների վնասվածքներ:

Փորձարարական պայմաններում *Cyprinus carpio* ձկների մշակումը դրանց շրջակա միջավայրում հայտնաբերվող ՄՊ-ների կոնցենտրացիաներով (0.75 և 8.25 մկգ/լ) բարձրացրել էր միկրոկորիզների մակարդակն արյան բջիջներում: Մեկ այլ աշխատանքում ուսումնասիրվել էին գենաթունային էֆեկտները ձկների սննդային շղթայի տարբեր օղակներում: *Poecilia reticulata* ձկները մշակվել էին 60 մգ/լ կոնցենտրացիայով պոլիէթիլենային ՄՊ-ով, այնուհետև՝ առաջարկվել որպես սննունդ մեկ այլ ձկնատեսակին՝ *Danio rerio*: Ցույց է տրվել, որ ՄՊ-ները ոչ միայն կուտակվել և փոխանցվել են *D. rerio* ձկներին, այլև մակածել են կորիզայի անոմալիաներ ու էրիթրոցիտների ձևի փոփոխություններ երկու տեսակի ձկների մոտ: Ուսումնասիրվել են նաև 3 մմ չափ ունեցող տարբեր ՄՊ-ների՝ պոլիստիրենի, պոլիէթիլեն տերեֆտալատի ու պոլիէթիլենի գենաթունային էֆեկտները ծովային կարմրախայտի ձվադրման պայմանների փորձարարական մոդելում: Բացահայտվել է, որ պոլիստիրենի գենաթունայնությունն ավելի բարձր է՝ պոլիէթիլեն տերեֆտալատի ու պոլիէթիլենի համեմատությամբ: Ուստի քիմիական տարբեր կազմությամբ ՄՊ-ները ձկների մոտ կարող են տարբերվել գենաթունային պոտենցիալով: Միկրոկորիզների, ԴՆԹ կոմետների ու ROS մակարդակների բարձրացում նկատվել է նաև այլ ձկների խմբերում, որոնք մշակվել են պոլիէթիլենային ՄՊ-ների տարբեր կոնցենտրացիաներով: Մի շարք հետազոտություններում ցույց է տրվել նաև ՄՊ-ների ազդեցությունը ջրային տարբեր օրգանիզմների գենների էքսպրեսիայի ու էպիգենետիկական փոփոխությունների վրա:

Մարդու THP-1 մոնոցիտային քաղցկեղի բջջային գծում ցույց են տվել ՈւՄ ազդեցությանը ենթարկված ՄՊ-ների (1 և 5 մկմ) մուտագեն էֆեկտները՝ կախված մասնիկների չափից ու դրանց վրա ՈւՄ ազդեցությունից: Ենթադրվում է, որ օքսիդացած ՄՊ-ները դրսևորում են գենաթունային ավելի բարձր ակտիվություն

իրենց մակերեսի բացասական լիցքի ավելացմամբ: Այդպիսի ՄՊ մասնիկներն ավելի ակտիվ են փոխազդում շիճուկի սպիտակուցների հետ և դառնում հասանելի կենսաբանական համակարգերի համար: Առողջ մարդու ծայրամասային արյան մշակումը 10 ու 45 մկմ չափ ունեցող պոլիէթիլենային ՄՊ-ով մակածել էր միկրոկորիզներ ու կորիզային կամրջակներ լիմֆոցիտներում: Ընդ որում՝ որոշ միկրոկորիզներ պարունակում էին ամբողջական քրոմոսոմներ կամ քրոմատիդներ: Այս արդյունքները ցույց են տալիս ՄՊ-ների անէուգեն ակտիվությունը, որն առաջանում է բաժանման իլիկի համակարգի վնասման արդյունքում: Անէուգեն էֆեկտները կարող են առաջանալ նաև ցենտրոմերների հիպոմեթիլացման արդյունքում և կինետոխորային համալիրի ձևավորման խաթարմամբ, մինչդեռ կորիզային կամրջակներն առաջանում են դիցենտրիկ քրոմոսոմների առկայության ժամանակ: ՆՊ-ներով ու ՄՊ-ներով մակածված ԴՆԹ-ի ու քրոմոսոմների տարբեր տիպի վնասվածքներ են դիտվել նաև մարդու այլ բջջային կուլտուրաներում, ներառյալ թոքի քաղցկեղի, կրծքագեղձի քաղցկեղի, կոլոռեկտալ քաղցկեղի, լյարդի քաղցկեղի, մաշկի ու արյան նորմալ բջիջներում: Ցույց են տրվել նաև բջջաթունային էֆեկտներ, որոնք գլխավորապես պայմանավորված էին լիզոսոմային թաղանթի վնասման, օքսիդային սթրեսի մակածման, ինտերլեյկինների (6 և 8) ու հիստամինների ձեռքբազատման և գեների էքսպրեսիայի փոփոխությամբ: Առնետների մոտ ցույց է տրվել տարբեր չափ ունեցող պոլիստիրենային ՄՊ-ների գենաթունային էֆեկտները 8-OHdG ու γH2AX մակարդակների վերլուծությամբ: Բացահայտվել է, որ չափերով ավելի փոքր ՄՊ-ներն օժտված են ավելի բարձր գենաթունայնությամբ: Սակայն այս բոլոր էֆեկտների մոլեկուլային մեխանիզմները դեռևս չեն բացահայտվել: Ենթադրվում է, որ դրանց հիմքում ընկած են ՆՊ-ների ու ՄՊ-ների շուրջ կուտակվող պլազմայի կամ շիճուկի սպիտակուցների համալիրները, որոնք կենսաբանորեն չեզոք պլաստմասսի մասնիկ-

ներին հաղորդում են կենսաբանական ակտիվություն: Սակայն վերջերս շվեդական գիտահետազոտական խումբը բացահայտել է, որ 1-5 մկմ չափ ունեցող պոլիամիդ-12 ՄՊ-ներն ունակ են փոփոխելու p53-ի ու AHR ակտիվությունը *per se*: Հավանական բացատրություններից մեկը կարող է լինել այն, որ այս պոլիմերների կազմության մեջ մտնող որոշ մոնոմերներ կամ հավելանյութեր բջջային ծանր պայմաններում (օրինակ՝ խիստ թթվային պայմանները լիզոսոմներում) անջատվում են պոլիմերից՝ դրսևորելով կենսաբանական ակտիվություն: Մեկ այլ մոդելին համաձայն՝ ՄՊ-ները փոխազդում են (ինչպես՝ a) բջջաթաղանթի հետ: Իսկ ROS առաջացումը խաթարում է բջջի ռեպարացիոն համակարգերն ու մակածում ԴՆԹ ու քրոմոսոմների վնասվածքներ: Այս վարկածներին առնչվող հետագա ուսումնասիրությունները թողնում ենք ընթերցողին:

Գրականության ցանկ

1. Chartres N, Cooper CB, Bland G, et al. Effects of Microplastic Exposure on Human Digestive, Reproductive, and Respiratory Health: A Rapid Systematic Review. *Environ Sci Technol*. 2024;58(52):22843-22864. doi:10.1021/acs.est.3c09524.
2. Roursgaard M, Hezareh Rothmann M, Schulte J, Karadimou I, Marinelli E, Møller P. Genotoxicity of Particles From Grinded Plastic Items in Caco-2 and HepG2 Cells. *Front Public Health*. 2022;10:906430. doi:10.3389/fpubh.2022.906430.
3. Winiarska E, Jutel M, Zemelka-Wiacek M. The potential impact of nano- and microplastics on human health: Understanding human health risks. *Environ Res*. 2024;251(Pt 2):118535. doi:10.1016/j.envres.2024.118535.
4. Zhang C, Zhang G, Sun K, et al. Association of mixed exposure to microplastics with sperm dysfunction: a multi-site study in China. *EBioMedicine*. 2024;108:105369. doi:10.1016/j.ebiom.2024.105369.

5. Գենաթունային ազդեցության կենսամարկերները

Մոլեկուլային համաճարակաբանությունը հիմնված է մոլեկուլային կենսամարկերների վերլուծության վրա, որոնք թույլ են տալիս քանակապես գնահատել մարդու առողջության համար միջավայրի գործոնների բացասական ազդեցության ռիսկը: Նման հետազոտություններում առողջապահական տվյալներին զուգահեռ կենսաբանական վերջնարդյունքների կիրառումը հնարավորություն է տալիս բացահայտելու շրջակա միջավայրի աղտոտիչների ու մարդու օրգանիզմում առաջացրած ախտաբանական տարբեր վիճակների միջև կապը: Այս ճանապարհով բացահայտվում են ախտաբանական վիճակի կամ վնասակար գործոնների ազդեցության կենսամարկերները: Հազարավոր գենաթունաբանական հետազոտությունների հիման վրա ցույց է տրվել ԴՆԹ տարբեր տիպի վնասվածքների կիրառական նշանակությունը որպես կենսամարկերներ ու դրանց կապն օրգանիզմի կենսագործունեության տարբեր խաթարումների հետ:

Կենդանի օրգանիզմները կենսագործունեության ընթացքում ենթարկվում են ԴՆԹ տարբեր տեսակի վնասվածքներ առաջացնող գործոնների ազդեցությանը: Հայտնի է, որ մարդու յուրաքանչյուր բջջում մեկ օրվա ընթացքում առաջանում են ԴՆԹ ~70.000 տարբեր տեսակի վնասվածքներ, որոնց մեծ մասը (>75 %) ԴՆԹ միաշղթա վնասվածքներն են: Այսպիսի վնասվածքներ կարող են առաջանալ բջջի նորմալ կենսագործունեության ընթացքում (էնդոգեն), օրինակ՝ ԴՆԹ նուկլեոտիդային հիմքերի սպոնտան հիդրոլիզի կամ ակտիվ ռադիկալներով օքսիդացման արդյունքում: ԴՆԹ միաշղթա վնասվածքները կարող են փոխակերպվել ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքների, որոնց սպոնտան հաճախականությունը զգալիորեն ավելի ցածր է, սակայն առավել վտանգավորն են: ԴՆԹ սպոնտան վնասվածքները շրջակա միջավայրի գենաթունային գործոնների ճնշման հետ միասին կարող են դառնալ քրո-

մոտոմային խաթարումների պատճառ, ինչն արձանագրվում է տարբեր ախտաբանական վիճակների, այդ թվում՝ քաղցկեղի ժամանակ: Ներկայումս հայտնի են մոլեկուլային մի շարք կենսամարկերներ, որոնք թույլ են տալիս բացահայտել գենաթունային ազդեցության էֆեկտները մարդու ու կենդանիների բջիջներում: Այդ կենսամարկերները ներառում են ԴՆԹ օքսիդացման վնասվածքները, ԴՆԹ-աղուկոտները, ԴՆԹ կոմետոտները, γ H2AX լոկուսները, քրոմոսոմային վնասվածքներն ու միկրոկոռիզները, միսի-սատելիտային մուտացիաները: Վերջին տարիներիս բացահայտվել են նոր մարկերներ՝ CNV ու մտԴՆԹ ինսերցիաները կորիզային գենոմում:

Նոր կենսամարկերների շարքում առանձնահատուկ դիրք ունի նաև արտաբջջային ԴՆԹ-ն (ու դրա տարբեր տիպերը), որը ոչ ինվազիվ հեղուկ բիոփսիայի թիրախ է և միաժամանակ կարող է դիտարկվել որպես գենաթունային ազդեցության հնարավոր կենսամարկեր: Մի շարք հետազոտություններում (այդ թվում մեր ամբիոնի կողմից տասնամյակներ կիրառվող) կիրառում են նաև բուսական թեստ-օբյեկտներ՝ որպես հողի, ջրի ու օդի գենաթունային աղտոտվածության գնահատման համակարգեր: Դրանցից են Տրադեսկանցիա բույսի կլոնները (գնահատում են քրոմոսոմային ու գենային մուտացիաները), *Allium cepa* թեստը (սոխի բջիջներում գնահատում են բջիջների կիսման ու քրոմոսոմների խաթարումները), *Vicia faba* (լոբու բջիջներում գնահատում են ԴՆԹ ու քրոմոսոմների խաթարումները) թեստը, *Arabidopsis thaliana* (գնահատում են գենային մուտացիաները) թեստն ու *Crepis capillaris* (գնահատում են քրոմոսոմների խաթարումները): Սակայն բուսական թեստ-օբյեկտներից ստացված արդյունքների էքստրապոլյացիան կենդանու ու մարդու բջիջներ դեռևս բարդ խնդիր է: Նաև պարզ չէ, թե հայտնաբերվող մուտացիաներն ինչպես կարելի է մեկնաբանել մարդու գենոմի համատեքստում, ուստի այս գրքում բուսական կենսամարկերները չեն ներառվել:

5.1. ԴՆԹ օքսիդացման վնասվածքներ

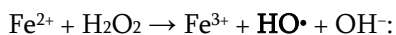
ԴՆԹ օքսիդացումը տեղի է ունենում էնդոգեն ու էքզոգեն գեներացվող թթվածնի ակտիվ ռադիկալներով: Բացահայտվել է, որ յուրաքանչյուր բջջում մեկ օրվա ընթացքում առաջանում են գրեթե $1.5 \cdot 10^5$ օքսիդացման վնասվածքներ: Թթվածնի ակտիվ ռադիկալները (անգլերեն՝ reactive oxygen species, ROS) աերոբ օրգանիզմների բջջային շնչառության ընթացքում էլեկտրոնի փոխադրման շղթայի գործունեության կողմնակի արդյունք են, ինչպես նաև էնդոգեն գեներացվում են պերօքսիտմալ մետաբոլիզմի (օրինակ՝ երկարաշղթա ճարպաթթուների (>22 C ատոմներով) β -օքսիդացում), NADPH օքսիդազների (անգլերեն՝ NOX), ցիտոքրոմ P450, լիզոսոմների, էնդոպլազմային ցանցի (սպիտակուցների օքսիդացում) և այլ աղբյուրների միջոցով: Ցածր քանակներում ROS ռադիկալները (օրինակ՝ սուպերօքսիդ անիոն ($\cdot O_2^-$), սինգլետ թթվածին (1O_2), ջրածնի գերօքսիդ (H_2O_2), հիդրօքսիլ ռադիկալ ($\cdot OH$), հիդրօքսիլ իոն (OH^-), ազոտի մոնօքսիդ ($\cdot NO$)) կատարում են կարևոր ֆունկցիաներ բջջի նորմալ կենսագործունեության ընթացքում (ռեոքս բջջային ազդանշանների փոխանցում, տրանսկրիպցիայի գործոնների, կինազների ու ֆոսֆատազների ակտիվացում և այլն): Օրինակ՝ PI3K/Akt ազդանշանի փոխանցման մոլեկուլային ուղին կարգավորում է բջիջների աճն ու գոյատևումը: Աճի գործոնների փոխազդեցությունը թիրոզինկինազային ընկալիչի (RTK) հետ ակտիվացնում է PI3K (անգլերեն՝ phosphoinositide 3-kinase) կինազը (կարող է ակտիվանալ ինսուլինի, ցիտոկինների (օրինակ՝ ինտերլեյկիններ, ինտերֆերոններ), հորմոնների, նեյրոտրանսմիտերների (օրինակ՝ դոպամին, էպինեֆրին) ու պեպտիդային աճի գործոնների ազդեցությամբ), որն ուղեկցվում է ROS մակարդակի բարձրացմամբ: PI3K կինազները կատալիզում են ֆոսֆատիդիլինոզիտոլ (4,5)-դիֆոսֆատի (PIP2) ֆոսֆորիլացումը ֆոսֆատիդիլինոզիտոլ (3,4,5)-տրիֆոսֆատի

(PIP3), որն էլ ակտիվացնում է Akt մոլեկուլային ուղին՝ խթանելով բջիջների բազմացումը: PTEN (անգլերեն՝ phosphatase and tensin homolog) ֆոսֆատազը (օնկոսուպրեսոր) դեֆոսֆորիլացնում է PIP3-ը D3 (ասպարագինաթթու) դիրքում, որի արդյունքում ճնշվում է Akt կինազը, ու արգելակվում է բջջային ցիկլը G1 կամ G2 փուլերում: H₂O₂ կարող է ինակտիվացնել PTEN ֆոսֆատազը՝ օքսիդացնելով դրա ցիստեինային մնացորդների թիոլային խմբերը: PTEN ֆոսֆատազի ինակտիվացման արդյունքում Akt միտոզեն ուղին ակտիվանալով ստիպում է բջջին անկառավարելի կերպով բազմանալ: PTEN սպիտակուցի ինակտիվացում դիտվում է կրծքագեղձի, հնդոմետրիոմի, շագանակագեղձի և քաղցկեղի այլ տեսակների ժամանակ: Էքզոզեն ճանապարհով ROS ռադիկալները գեներացվում են ուլտրամանուշակագույն լույսի, իոնացնող ճառագայթման, քսենոբիոտիկների ու կենսաբանական գործոնների (օրինակ՝ բակտերիաներ կամ վիրուսներ) ազդեցությամբ:

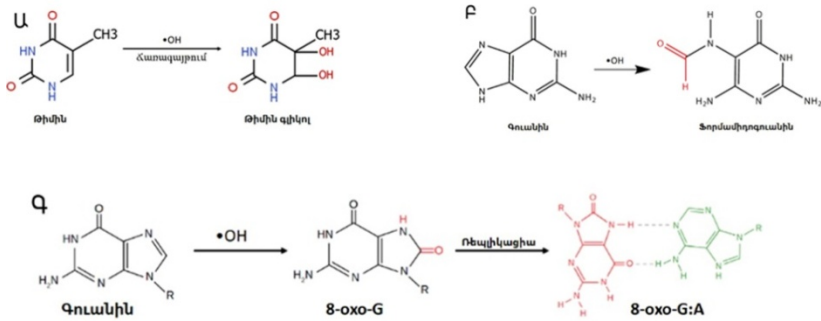
Բջջում ROS ռադիկալների մակարդակը կարգավորվում է ոչ ֆերմենտային (α -տոկոֆերոլ, գլյուտաթիոն, մելանին, կոէնզիմ Q10 և այլն) ու ֆերմենտային (սուպերօքսիդ դիսմուտազ, գլյուտաթիոն պերօքսիդազ, կատալազ և այլն) հակաօքսիդանտային համակարգերով: Օքսիդային սթրեսն առաջանում է, երբ բջջում ROS ռադիկալների մակարդակը գերազանցում է հակաօքսիդանտային համակարգերի ակտիվությունը:

Ակտիվ ռադիկալներն առաջանում են ներբջջային տարբեր կոմպարտմենտներում: Միտոքոնդրիումներում, որտեղ առաջանում են ROS ռադիկալների 90 %-ը, քսանտին օքսիդազի կամ NADH-ուրիքինոն օքսիդոռեդուկտազի (կոմպլեքս I) ու ուրիքինոլ-ցիտոքրոմ c օքսիդոռեդուկտազի (կոմպլեքս III) միջոցով միջթաղանթային և մատրիքսի հատվածներում թթվածինը փոխակերպվում է սուպերօքսիդ անիոնի ($\cdot\text{O}_2^-$): Այնուհետև սուպերօքսիդ դիսմուտազի մասնակցությամբ սուպերօքսիդ անիոնը փո-

խակերպվում է ջրածնի գերօքսիդի (H_2O_2), որն էլ կարող է չեզոքացվել մինչև H_2O ՝ գլյուտաթիոն պերօքսիդազի, կատալազի կամ թիոռեդոքսին պերօքսիդազի միջոցով: H_2O_2 -ից կարող են առաջանալ նաև հիդրօքսիլ ռադիկալ ($\cdot OH$) և հիդրօքսիլ իոն (OH^-) Ֆենտոնի ռեակցիայի միջոցով:



ԴՆԹ նուկլեոտիդային հիմքերի հետ փոխազդեցության արդյունքում $\cdot OH$ ռադիկալներն օքսիդացնում են թիմինը՝ առաջացնելով թիմին գլիկոլ ([Նկ. 70Ա](#)), որը խոչնդոտում է ԴՆԹ-պոլիմերազի և ռեպարացիայի սպիտակուցների փոխազդեցությանը ԴՆԹ-ի հետ: $\cdot OH$ ռադիկալները վնասում են նաև գուանինի ու ադենինի իմիդազոլային օղակը՝ առաջացնելով ֆորամիդոպիրիմիդին ([Նկ. 70Բ](#)), որն ունակ է ձևավորելու ադուկսոներ տարբեր գենաթույների, այդ թվում՝ ԱՖԲ1-ի հետ: Առավել հաճախ հանդիպող ու բարձր մուտագենությամբ վնասվածքներից են 8-օքսոգուանինն (8-oxo-G) ու 8-օքսո-2'-դեօքսիգուանոզինը (8-oxo-dG) ([Նկ. 70Գ](#)), որոնք առաջանում են գուանինի C-8 դիրքում հիդրօքսիլացման հետևանքով: ROS ռադիկալները գլխավորապես վնասում են գուանինը, քանի որ ԴՆԹ նուկլեոտիդների շարքում այն ունի նվազագույն օքսիդացման պոտենցիալը: Ընդ որում՝ 5'-GG-3' հաջորդականության գուանինի օքսիդացումն առավել հաճախ է դիտվում: ԴՆԹ ռեպլիկացիայի ժամանակ 8-oxo-G կարող է ցիտոզինի փոխարեն կապվել ադենինի հետ, ինչը ռեպլիկացիայի հաջորդ փուլում մակաձում է տրանսվերսիա (գուանինը փոխարինվում է թիմինով՝ $G \rightarrow T$): Նման էֆեկտ դիտվում է նաև 8-հիդրօքսիդեօքսիգուանոզինի (8-OHdG) մակարդակի բարձրացման ժամանակ:



Նկար 70. Թթվածնի ակտիվ ռադիկալներով ԴՆԹ օքսիդացման վնասվածքներ: **Ա.** Թիմինի օքսիդացումից առաջանում է թիմին գլիկոլ, **Բ.** գուանինի օքսիդացումից վնասվում է իմիդազոլային օղակը, ու առաջանում է ֆորամիդոգուանին, **Գ.** գուանինի օքսիդացումից առաջանում է 8-oxo-G, որը ռեպիկացիայի ժամանակ կրկնակի կապով միանում է ադենինին (8-oxo-G:A): Ռեպիկացիայի հաջորդ փուլում 8-oxo-G փոխարինվում է թիմինով (Farooq et al., 1997; D'Augustin et al., 2020):

8-oxo-G, 8-OHdG և 8-oxo-dG ԴՆԹ-ի օքսիդացման կենսամարկերներ են, որոնց առկայությունը ԴՆԹ-ում կարելի է բացահայտել hOGG1 (անգլերեն՝ 8-oxoguanine DNA glycosylase) ԴՆԹ-գլիկոզիլազի միջոցով (կամ ֆորամիդոպիրիմիդին գլիկոզիլազի (Fpg) ու էնդոնուկլեազ III (EndoIII) կիրառմամբ), որոնք ճանաչում և կտրում են այս հիմքերը: Ցույց է տրվել, որ յուրաքանչյուր օր մեկ բջջում կարող են առաջանալ մոտ 100.000 8-oxo-G վնասվածքներ: ROS ռադիկալները կարող են վնասել նաև ԴՆԹ-ի ֆոսֆատային հենքը՝ կաթնասունների յուրաքանչյուր բջջում առաջացնելով գրեթե 2.300 ԴՆԹ-ի միաշղթա վնասվածքներ մեկ ժամվա ընթացքում:

Գենոմում ԴՆԹ օքսիդացման մարկերներն ունեն անհամաչափ բաշխում: Ցույց է տրվել, որ 8-oxo-G առավել հաճախ հանդիպում է քրոմոսոմների պերիսուկլեար տարածությանը մոտ հետերոքրոմատինային տեղամասերում, որոնք ավելի աղքատ են GC հաջորդականություններով, քան տրանսկրիպցիոն ակտիվ

էութեամբ: Ուստի հետերոքրոմատինում 8-oxo-G կուտակումը պայմանավորված չէ նուկլեոտիդային հաջորդականությամբ, այլ հավանաբար կապված է ռեպարացիայի վաղ փուլերի ֆերմենտների համար քրոմատինային լոկուսների հասանելիությամբ: Ցույց է տրվել նաև, որ բաց քրոմատինային լոկուսներում hOGG1-ով միջնորդավորված ռեպարացիայի կինետիկան զգալիորեն արագ է ընթանում՝ համեմատած հետերոքրոմատինի ու գեներով աղքատ լոկուսների հետ: Հետևաբար քրոմատինի փաթեթավորման մակարդակը ԴՆԹ օքսիդացման վնասվածքների անհամաչափ բաշխման հնարավոր պատճառներից մեկն է:

Գենոմիկայում վերջին տարիների ձեռքբերումները թույլ տվեցին բացահայտել ԴՆԹ օքսիդացման վնասվածքները տարբեր կրկնություններում՝ թելոմերներում, միկրոսատելիտներում ու մոբիլ էլեմենտներում: Հետաքրքիր է, որ (TTAGGG) թելոմերային հաջորդականությունում, որը հարուստ է գուանինային կրկնություններով, դիտվում է 8-oxo-G կուտակում, ինչն ունենում է անկայունացնող ազդեցություն G-քվադրուպլեքսների համար, մինչդեռ միկրոսատելիտներում (օրինակ՝ TG)n և (TGGA)n 8-oxo-G առաջացման համար գուանինային կրկնությունների բարձր հաճախականության կարիք չի դիտվում: Ենթադրվում է, որ G-քվադրուպլեքսներում ու միկրոսատելիտներում 8-oxo-G կուտակումը պայմանավորված է ԴՆԹ երկրորդային կառուցվածքով, որը խոչընդոտում է OGG1-ի համար օքսիդացված նուկլեոտիդների հասանելիությանը: Այդ պատճառով G-քվադրուպլեքսներում գործում են այլ գլիկոզիլազներ՝ NEIL1 ու NEIL3: Ցույց է տրվել օքսիդային սթրեսի ու հակաօքսիդանտային համակարգի թերֆունկցիայի ու թելոմերների կարճացման միջև կորելյացիան մարդու բջիջներում:

ԴՆԹ օքսիդացման մարկերների նույնականացումը ծանր մետաղների ազդեցության ժամանակ

Մարդու հյուսվածքներում ԴՆԹ օքսիդացման կենսամարկերների բարձր մակարդակը կապված է գենաթունային ազդեցության ու ախտաբանական վիճակներին: Նման էֆեկտներ դիտվում են տարբեր հյուսվածքներում ծանր մետաղների (նաև մետաղանմանների) կուտակման ժամանակ, որոնք ներթափանցում են օրգանիզմ ջրի, սննդի ու օդի (հազվադեպ մաշկի) միջոցով: Ծանր մետաղների թունաբանական էֆեկտները խիստ բազմազան են, սակայն բոլորի դեպքում առանցքային նշանակություն ունի օքսիդային սթրեսի մակաձումը: Առավել բարձր թունայնությամբ օժտված ու ֆիզիոլոգիական նշանակություն չունեցող ծանր մետաղներից են կադմիումը (Cd), քրոմը (Cr), արսենը (As), կապարն (Pb) ու սնդիկը (Hg): Ընդ որում՝ Cd, Cr ու As մարդու հաստատված, իսկ Pb ու Hg՝ հնարավոր կանցերոգեններ են:

Մարդիկ ենթարկվում են Cd-ի ազդեցությանը գլխավորապես ծխախոտի միջոցով, աղտոտված սննդի օգտագործմամբ, մետաղների հանքարդյունաբերության ու ձուլման գործարաններում, մարտկոցների ու գունանյութերի արտադրության ու վերամշակման կենտրոններում աշխատելիս: Cd ազդեցությունը սովորաբար որոշվում է արյան կամ մեզի մեջ դրա մակարդակի չափման միջոցով: Արյան մեջ (կապվում է ալբումինին ու մետալոթիոնեինին) Cd-ի քանակի բարձրացումը վկայում է վաղ ազդեցության մասին (օրինակ՝ ծխախոտի օգտագործումից): Իսկ մեզի մեջ Cd-ի բարձր մակարդակը վկայում է օրգանիզմում դրա կուտակման կամ երիկամների վրա դրա բացասական ազդեցության մասին (քրոնիկ ազդեցություն): Ցույց է տրվել Cd-ի բարձր ու ցածր մակարդակները համապատասխանաբար ծխողների ու չծխողների մոտ: Դրա պատճառը *Nicotiana tabacum* բույսի տերևներում Cd-ի գերկուտակումն է, ինչի արդյունքում տերևների չոր

զանգվածում Cd-ի քանակը կազմում է 1-2 մկգ/գ (Cd-ի քանակը կախված է նաև ծխախոտի տեսակից):

Այսպիսով՝ օրական 20 գլանակ ծխող անձնավորությունը հազարավոր քիմիական միացությունների հետ միասին կլանում է նաև գրեթե 1 մկգ Cd: Ավելին, ծխելու ընթացքում օրգանիզմ ներթափանցած Cd-ը կուտակվում է թոքային հյուսվածքում կամ անցնում արյան հոսքի մեջ (օրգանիզմում Cd-ը պահպանվում է 25-30 տարի): Դրա հետևանքով ծխողների արյան մեջ ու երիկամներում Cd-ի մակարդակը 2-5 անգամ ավելի բարձր է համեմատած չծխողների հետ: Ցույց է տրվել ներշնչված կադմիումի քանակի ու ծխելու հետ կապված հիվանդությունների (օրինակ՝ թոքային օբստրուկտիվ հիվանդություն, թոքերի քաղցկեղ) միջև կապը:

Cd-ի սուր թունավորման ժամանակ առաջանում են ստամոքսաղիքային ուղու, թոքերի, լյարդի ու երիկամների հյուսվածքների վնասում, որոնց հաճախ հաջորդում են կոման ու մահը, մինչդեռ քրոնիկ ազդեցությունը կապված է ստամոքսի, լյարդի, շագանակագեղձի ու արյան քաղցկեղի հետ: Զոդման, կարպետագործման ու ներկանյութերի արտադրամասերի աշխատակիցների մոտ ցույց է տրվել 8-OHdG մակարդակի բարձրացում, որը կոռելացվում էր արյան մեջ Cd-ի մակարդակի հետ: Cd-ի քրոնիկ թունավորմամբ առաջացող հիվանդություններից է նաև, այսպես կոչված, «իտայ-իտայ» (ճապոներեն՝ «ցավում է, ցավում է») ոսկրային հիվանդությունը, որն առաջին անգամ նկարագրվել է ճապոնիայում: Հիվանդությունն առաջացել է Cd-ի հանքարդյունաբերական թափոններով աղտոտված Ջինգու գետի ջրերով մշակված բրնձի օգտագործման արդյունքում: Իտայ-իտայ հիվանդների մոտ հանդիպում են բազմաթիվ ախտանիշներ, ինչպիսիք են ոսկրերի դեկալցիֆիկացիան, երկար ոսկրերի բազմակի կոտրվածքներ ու դեֆորմացիաներ, օստեոպորոզ, անեմիա, երիկամային անբավարարություն, ինչն էլ հանգեցնում է մահվան: Այս հիվանդների մեզի նմուշներում զգալիորեն բարձր է Cd-ի մա-

կարդակը, ինչպես նաև քաղցկեղի, սրտի իշեմիկ հիվանդության ու ընդհանուր մահացության հաճախականությունը:

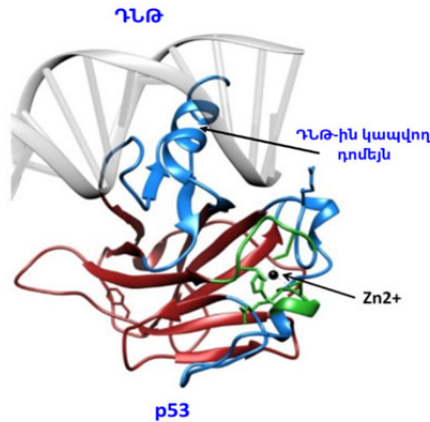
Cd-ի թունաբանական էֆեկտների մոլեկուլային մեխանիզմները դեռևս լիովին բացահայտված չեն, սակայն ցույց է տրվել ROS ու ԴՆԹ-ի միաշղթա վնասվածքների կենսամարկերների մակարդակի զգալի բարձրացում Cd-ի ազդեցությանը ենթարկված մարդկանց արյան ու մեզի նմուշներում: Ցույց է տրվել նաև Cd-ի թույլ աֆինությունը ԴՆԹ-ի մոլեկուլի նկատմամբ: Ուստի ենթադրվում է, որ Cd-ի (և ծանր մետաղների գերակշռող մասի) գենաթունային էֆեկտները պայմանավորված են անուղղակի ազդեցությամբ, որոնք դրսևորվում են մի քանի մեխանիզմներով՝

- հակաօքսիդանտային համակարգերի ճնշում,
- ռեպարացիայի ֆերմենտների արգելակում մինչտրանսկրիպցիոն ու հետտրանսլյացիոն մեխանիզմներով,
- միտոքոնդրիումային թաղանթի թափանցելիության ու ապոպտոզային ուղիների խաթարում,
- ակտիվ ռադիկալների առաջացում,
- էպիգենետիկական էֆեկտներ:

Cd-ը **կապվում է** սպիտակուցների ցիստեինային մնացորդների **թիոլային (-SH) խմբերին** և ընկճում է **հակաօքսիդանտների**՝ կատալազի, սուպերօքսիդ դիսմուտազի, պերօքսիդազի ու այլ ֆերմենտների ակտիվությունը՝ փոփոխելով սպիտակուցների կոնֆորմացիան: Այսպես՝ ակտիվ ռադիկալները չեզոքացնող մետալոթիոնեինային սպիտակուցները պարունակում են մինչև 33 % ցիստեին, ինչի հետևանքով Cd-ն ակտիվորեն փոխազդում է դրանց թիոլային խմբերի հետ՝ ընկճելով սպիտակուցների ակտիվությունը:

Cd-ի գենաթունայնության մեկ այլ մեխանիզմ ներառում է ԴՆԹ **ռեպարացիային** մասնակցող **սպիտակուցների ինակտիվացում** կամ դրանց **էքսպրեսիայի ընկճում**: Ցույց է տրվել, որ ցին-

կային մատների դոմեյններ պարունակող սպիտակուցները Cd-ի թիրախներ են, որոնցից ցինկի դուրս մղումն առաջացնում է սպիտակուցի կոնֆորմացիոն փոփոխություններ ու ֆունկցիայի խաթարում: Օրինակ՝ Cd-ի ազդեցությամբ ընկճվում է օնկոսուպրեսոր p53-ի ակտիվությունը, որը մի շարք գեների, այդ թվում՝ նուկլեոտիդների էքսցիզիոն ռեպարացիայի XPC գենի տրանսկրիպցիայի գործոն է և պարունակում է Cys3His1 տիպի ցինկային մատների դոմեյն (Նկ. 71): Բացահայտվել է, որ Cd-ը դուրս է մղում Zn-ի ատոմը՝ առաջացնելով p53-ի ցինկային դոմեյնի կոնֆորմացիոն խաթարում, ինչի հետևանքով այն չի կարողանում կապվել ԴՆԹ-ին:



Նկար 71. p53-ը փոխազդում է ԴՆԹ-ի հետ ԴՆԹ-ին կապվող դոմեյնով: Zn²⁺ կորդինացվում է C176, H179, C238 ու C242 ամինաթթուներով (Blanden et al., 2015):

Cd-ն արգելակում է նաև Sp1 ցինկային դոմեյն պարունակող տրանսկրիպցիայի գործոնը, որի արդյունքում ընկճվում է հիմքերի հեռացման ռեպարացիայի hOGG1 ֆերմենտի էքսպրեսիան, իսկ ԴՆԹ-ում բարձրանում է 8-oxoG-ի մակարդակը:

Cd²⁺-ը ներթափանցում է միտոքոնդրիումներ Ca²⁺ կախյալ անցուղիներով և ներքին թաղանթում կապվում ադենին նուկլեո-

տիդ տրանսլուկատորի թիռլային խմբերին՝ խաթարելով էլեկտրոնի փոխադրման շղթայի կոմպլեքս III (CIII)՝ ցիտոքրոմ c օքսիդոնեդուկտազի ֆունկցիան: Դրա հետևանքով նվազում են թաղանթային պոտենցիալը, թափանցելիությունը, ու ցիտոքրոմ c-ն դուրս է գալիս ցիտոպլազմա: Դրա հետևանքով մակաձվում են ապոպտոզ և ԴՆԹ մասնատում:

Բացահայտվել է, որ Cd-ի ROS գեներացնող ակտիվությունը նույնպես կապված է միտոքոնդրիումների ցիտոքրոմ c օքսիդոնեդուկտազային կոմպլեքսի ֆունկցիոնալ խաթարման հետ: CIII-ում Cd-ը կապվում է Qo (անգլերեն՝ quinol oxidation) ենթամիավորի հետ, որի արդյունքում խաթարվում է կիսաուբիքինոնից էլեկտրոնի փոխանցումը հեմ b₅₆₆-ին: Ներթաղանթային մասում կուտակվում է կիսաուբիքինոնը, որն էլեկտրոնը փոխանցում է թթվածնի մոլեկուլին, և ձևավորվում է •O₂⁻ ակտիվ ռադիկալը: Վերջինս փոխազդում է H₂O-ի հետ, և առաջանում է H₂O₂: Cd-ի ազդեցությամբ միտոքոնդրիումային թաղանթում առաջացած անցուղիներով ակտիվ ռադիկալները դուրս են մղվում դեպի ցիտոպլազմա ու կորիզ, որտեղ օքսիդացնում են մակրոմոլեկուլները: Հետաքրքիր է, որ Qo-ի արգելակիչ ստիգմատելինը կանխում է Cd-ի օքսիդային վնասվածքների առաջացումը բջջում, ինչը ցույց է տալիս CIII-ի մասնակցությունը Cd-ով մակաձված ROS ակտիվությանը:

Cd-ը մակաձում է նաև էպիգենետիկական փոփոխություններ: Հետաքրքիր է, որ Cd-ով մակաձված ԴՆԹ հիպոմեթիլացումն ու հիպերմեթիլացումը պայմանավորված են էքսպոզիցիայի տևողությամբ: Առնետների լյարդի բջիջների 1-7 օր մշակումը մակաձում է ԴՆԹ հիպոմեթիլացում՝ DNMT3B-ի արգելակման պատճառով: Մինչդեռ 10 շաբաթ մշակումը հանգեցնում է հիպերմեթիլացման ու DNMT3B-ի գերէքսպրեսիային: Ներկայումս այս երևույթի մոլեկուլային պատճառները դեռևս հայտնի չեն: Մարդու էպիթելային բջիջներում ցույց է տրվել DNMT3B-ի արգելա-

կումը 24 ժամ օքսիդային սթրեսի պայմաններում: Մինչդեռ մկներին էմբրիոններում մի քանի օր տևողությամբ օքսիդային սթրեսը բարձրացնում է DNMT3B-ի ակտիվությունը: Ուստի Cd-ով մակածված կարճատև օքսիդային սթրեսը կարող է ճնշել DNMT3B-ի ակտիվությունը, մինչդեռ երկարատև ազդեցության ժամանակ կարող է ակտիվացնել այն:

ԴՆԹ օքսիդացման մարկերների նույնականացումը քաղցկեղի ժամանակ

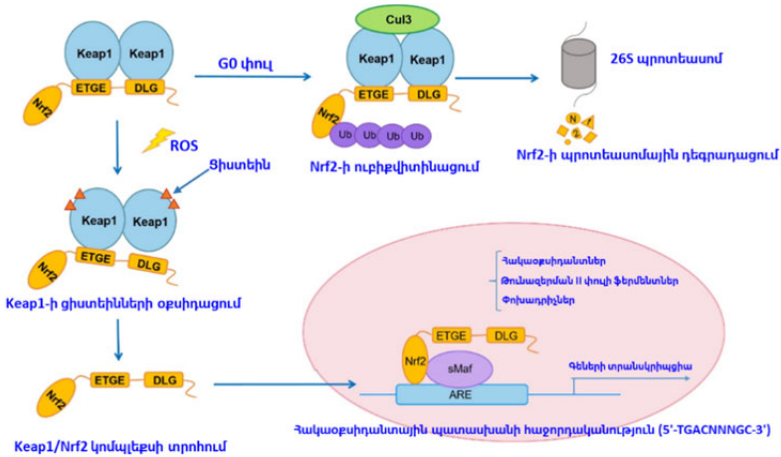
Քաղցկեղի ավելի քան 65 %-ն առաջանում են կենսակերպի գործոնների (ծխախոտ, սնունդ, ճառագայթում, ալկոհոլ և այլն) ազդեցությամբ, մինչդեռ մնացած մասը բաժին է ընկնում մուտացիաներին, ինֆեկցիաներին ու միջավայրի գործոններին: Ցույց է տրվել ROS ռադիկալների բարձր մակարդակի կապն օնկոգենների, բջջային տրանսֆորմացիայի ու կանցերոգենեզի հետ:

Բջջում ROS մակարդակի բարձրացման պատճառներից են օնկոգենների (օրինակ՝ RAS, c-myc) ակտիվացման և միտոքոնդրիումային մետաբոլիզմի ու թաղանթային պոտենցիալի խաթարումները: Քաղցկեղային բջիջների կենսաքիմիական առանձնահատկություններից մեկը գլյուկոզի մետաբոլիզացման համակարգերի վերածրագրավորումն է կամ Վարբուրգի էֆեկտը: Նորմալ բջիջներում գլյուկոզային փոխադրիչների (GLUT) միջոցով գլյուկոզը ներթափանցում է ցիտոպլազմ և գլիկոլիզի ճանապարհով տրոհվում մինչև պիրուվատի (առաջանում են ԱԵՖ-ի 2 մոլեկուլ): Այնուհետև առաջացած պիրուվատը փոխադրվում է միտոքոնդրիումային մատրիքս, որտեղ պիրուվատ դեհիդրոգենազի միջոցով օքսիդացվում է մինչև ացետիլ կոէնզիմ A (CoA): CoA-ն անցնելով Կրեբսի ցիկլով նպաստում է NADH-ի սինթեզին, որն էլ անցնում է օքսիդային ֆոսֆորիլացման ռեակցիաների ցիկլով, և արդյունքում առաջանում 32 մոլեկուլ ԱԵՖ: Մինչդեռ քաղցկեղային բջիջներում, որոնք ավելի ակտիվ են կլանում գլյուկոզը (40

անգամ), պիրուվատը գլխավորապես փոխակերպվում է կաթնաթթվի (ցիտոպլազմում), որն առաջացած H^+ իոնների հետ միասին դուրս է բերվում բջջից (ոչ թե օքսիդացվում միտոքոնդրիումներում)՝ նպաստելով հյուսվածքում թթվային միջավայրի (ացիդոզի), հիպօքսիայի ու օքսիդային սթրեսի առաջացմանը (Վարբուրգի էֆեկտ կամ աերոբ գլիկոլիզ): Այս ռեակցիաների արդյունքում առաջանում են ավելի մեծ թվով կողմնակի միացություններ, որոնք հիմք են ծառայում նոր բջիջների առաջացման համար: Դրան նպաստում է նաև հիպօքսիայով մակածվող HIF-1 α տրանսկրիպցիայի գործոնը, որը խթանում է GLUT փոխադրիչների գերեքսպրեսիան և գլյուկոզի ակտիվ կլանումը: Դեռևս լիովին հասկանալի չէ, թե որն է Վարբուրգի էֆեկտի դրական նշանակությունը քաղցկեղային բջիջների համար, քանի որ աերոբ գլիկոլիզի արդյունքում առաջանում են ավելի քիչ քանակով ԱԵՖ մոլեկուլներ: Հետաքրքիր է նաև այն, որ քաղցկեղային բջիջներում աերոբ գլիկոլիզն ընթանում է, որպես կանոն, ֆունկցիոնալ միտոքոնդրիումների առկայության պայմաններում (սակայն օքսիդային ֆոսֆորիլացումն ընկճված է): Ենթադրվում է, որ Վարբուրգի էֆեկտն անհրաժեշտ է արագ բազմացող քաղցկեղային բջիջներում մեծ քանակով նոր նյութերի կենսասինթեզի համար, ինչն էլ նպաստում է ուռուցքի արագ աճին: Հարկավոր է հիշել, որ պիրուվատն ու Կրեբսի ցիկլում առաջացող ցիտրատը, մալատն ու օքսալուացետատն օժտված են հակաօքսիդանտային ակտիվությամբ: Ուստի դրանց ընկճումը կարող է նպաստել ROS մակարդակի բարձրացմանը: Ցույց է տրվել, որ օքսիդային սթրեսի ու ԴՆԹ օքսիդային վնասվածքների մակարդակները զգալիորեն բարձր են քաղցկեղային բջիջներում: Օրինակ՝ 8-OHdG մակարդակը կոռելացվում է կրկծքագեղձի, հաստ աղիքի, ձվարանների ու լյարդի քաղցկեղի զարգացման հետ: Այսպիսով՝ ROS մակարդակի բարձրացումն ու Վարբուրգի էֆեկտը (դիտվում են քաղցկեղի >80 %) ուռուցքների կենսամարկերներ են:

ROS ռադիկալները խթանում են քաղցկեղային բջիջների պրոլիֆերացիան միտոզեն ուղիների ակտիվացման ու բջջի ծրագրավորված մահվան ուղիների արգելակման շնորհիվ: Միևնույն ժամանակ ROS ռադիկալների բարձր մակարդակն ունակ է մակաձելու սենեսենս (բջջային ծերացում՝ պրոլիֆերացիայի ձերբակալում) ու բջջի ծրագրավորված մահ (օրինակ՝ ապոպտոզ, ֆերոպտոզ): Հետևաբար ROS ռադիկալներն ունեն բիմոդալ ազդեցություն կանցերոզների համար: Ուստի քաղցկեղային բջիջներում հակաօքսիդանտային համակարգերի գերէքսպրեսիան, որը գլխավորապես կարգավորվում է NRF2-ի (անգլերեն՝ nuclear factor-erythroid 2-related factor 2) կողմից, ունի կարևոր նշանակություն քաղցկեղի պրոգրեսիայի ու մետաստազավորման համար: NRF2-ը տրանսկրիպցիայի գործոն է, որը խթանում է հակաօքսիդանտներ ու թունազերծող ֆերմենտներ կողավորող գենների (>200 գեն) էքսպրեսիան օքսիդային սթրեսի պայմաններում: Քվիեսենտ (G0 փուլ) բջիջներում Cul3-KEAP1 (անգլերեն՝ Kelch-like ECH-associated protein 1) կոմպլեքսի (E3 ուբիքվիտին լիգազ ադապտոր) երկու հետերոդիմեր Kelch դոմեյնով կապվում են NRF2-ի Glu-Thr-Gly-Glu (ETGE) և Asp-Leu-Gly (DLG) մոտիվների հետ, ինչի արդյունքում NRF2-ն ուբիքվիտինացվում է և ենթարկվում պրոտեասոմային դեգրադացման: ROS ռադիկալների մակարդակի բարձրացման պատճառով KEAP1-ի ցիստեինային մնացորդներն օքսիդանում են, ինչի արդյունքում NRF2-ն անջատվում է KEAP1-ից և տեղափոխվում կորիզ, որտեղ հետերոդիմերիկացվում է sMaf սպիտակուցների հետ ու կապվում թիրախ գենների պրոմոտորային տեղամասերի հակաօքսիդանտային պատասխանի հաջորդականությանը (5'-TGACNNNGC-3') (Նկ. 72): Բացահայտվել է, որ քաղցկեղի որոշ տեսակներում (թոքերի, շագանակագեղձի, հաստ աղիքի և գլխմանների ժամանակ) KEAP1 գենը լուեցված է հիպերմեթիլացման պատճառով: Իսկ

NRF2-ի գերէքսպրեսիան կոռելացվում է հիվանդության բացասական էլքի հետ:



Նկար 72. NRF2-ի լռեցում Keap1 գործոնով և ակտիվացում օքսիդային սթրեսի ժամանակ: Ակտիվացած NRF2-ը կործանվում է թիրախ գեների հակաօքսիդանտային պատասխանի հաջորդականություններին (ARE) (Wu et al, 2019):

Բջջային տրանսֆորացիայի նախնական փուլերում ROS մակարդակի բարձրացումը խթանում է բջջային պրոլիֆերացիան ու ապոպտոզից խուսափումը, իսկ ավելի ուշ փուլերում՝ քաղցկեղային բջիջների ինվազիան, մետաստազավորումն ու անգիոգենեզը: Վերջին տարիներին բացահայտվել է, որ բջջային տրանսֆորացիան ու կանցերոգենեզը կարող են խթանվել RAS օնկոգեներով մակաձվող ROS ռադիկալների մակարդակի բարձրացմամբ: Բացահայտվել է նաև RAS օնկոգենների (HRAS, KRAS և NRAS) ազդեցությունը միտոքոնդրիումային մետաբոլիզմի կարգավորման վրա:

RAS-ը ԳԵՖ-ազ է, որը բջջաթաղանթի ընկալիչներից մոլեկուլային ազդակները փոխանցում է դեպի ցիտոպլազմա ու կորիզ: Առավել լավ նկարագրված են RAS-RAF–MEK–ERK ու PI3K-Akt

ազդանշանի փոխանցման ուղիները, որոնք բջջային ցիկլի ու պրոլիֆերացիայի հիմնական կարգավորիչներն են: ԳԵՖ-ի հետ փոխազդելով՝ RAS սպիտակուցն ակտիվանում է և կապվում RAF կինազի հետ: Վերջինս դիմերիզացվում և ֆոսֆորիլացնում է MEK կինազը, որն էլ ֆոսֆորիլացնում է ERK կինազին: ERK կինազն ակտիվացնում է բջջային պրոլիֆերացիան, կենսունակությունը, հակաապոպտոզային սպիտակուցներն ու տրանսկրիպցիայի գործոնները, այդ թվում՝ c-Jun/c-Fos հետերոդիմերային գործոնը (AP-1): AP-1 տրանսկրիպցիայի գործոնը տեղափոխվում է կորիզ, որտեղ կապվում է ցիկլին D1-ի պրոմոտորային հատվածում TRE կամ AP-1 հաջորդականությանը (5'-TGA(C/G)TCA-3'), ինչի արդյունքում բջիջները G0-ից մտնում են G1 ու S փուլերը: RAS սպիտակուցն արգելակվում է ԳԵՖ-ի հիդրոլիզի արդյունքում (RAS-ԳԴՖ): RAS գեոնում եզակի նուկլեոտիդային մուտացիաների հետևանքով առաջացող սպիտակուցը ստանում է ԳԵՖ-ի հետ կապված կոնֆորմացիան և մնում կոնստիտուտիվ ակտիվ կոնֆորմացիայում, ինչը հանդիպում է մարդու քաղցկեղի ավելի քան 30 %-ի դեպքում: Ցույց է տրվել, որ HRAS-ի էքսպրեսիայի ակտիվացումը NIH3T3 մկների ֆիբրոբլաստներում հանգեցնում է սուպերօքսիդ իոնի ($\cdot O_2^-$) գերարտադրմանը՝ NADPH օքսիդազի (NOX1) էքսպրեսիան խթանելու պատճառով և առաջացնում բջիջների օնկոգենային տրանսֆորմացիա: Նման արդյունքներ ստացվել են նաև KRAS-ի մուտացիայի արդյունքում, որի ժամանակ ROS մակարդակը բարձրանում է միտոքոնդրիումների CIII կոմպլեքսի Qo ենթամիավորում, ինչն անհրաժեշտ է ERK կասկադային ուղով բջջային պրոլիֆերացիայի ու ադիպոցիտների անկախ աճի համար: Միևնույն ժամանակ դիտվում է բջիջների անցումը օքսիդային ֆոսֆորիլացումից դեպի ակտիվ ակտիվացում:

Այսպիսով՝ կարելի է ենթադրել, որ բջջային տրանսֆորմացիայի նախնական փուլերում օնկոգենների ակտիվացումը բարձրացնում է ROS ռադիկալների մակարդակը, ինչը խթանում է օն-

կոզենային տրանսֆորմացիան: Մինչդեռ մետաստազավորման ու ինվազիայի փուլերում հակաօքսիդանտների գերեքսպրեսիան թույլ է տալիս խուսափել ROS ռադիկալների բջջաթունային ազդեցություններից: Ցույց է տրվել RAS գենի էքսպրեսիայի և 8-OHdG մակարդակների միջև կորելյացիան մարդու ու կրծողների բջիջներում:

ԴՆԹ օքսիդացման մարկերների նույնականացումն արական անպտոդության ժամանակ

Արական անպտոդությունը հանդիպում է 15 % գույգերի մոտ, որտեղ յուրաքանչյուր սեռի գործոնը կազմում է 30-40 %: Բացահայտվել է, որ 30-80 % սուբֆերտիլ/ստերիլ տղամարդկանց սպերմատոզոիդներում ROS ռադիկալներով մակաձված վնասվածքներն անպտոդության հիմնական պատճառներից են: Սպերմատոզոիդներում ԴՆԹ օքսիդացման վնասվածքները ներառում են միաշղթա ու երկշղթա վնասվածքներ, ԴՆԹ ֆրագմենտացիա, AP-սայթերի առաջացում, հիմքերի մոդիֆիկացիաներ ու ԴՆԹ կարաններ: Պատահական չէ, որ անպտոդությամբ տղամարդկանց մոտ սպերմայի չափանիշները զգալիորեն բարելավվում են հակաօքսիդանտային թերապիայից հետո: Ուստի սպերմատոզոիդներում ԴՆԹ օքսիդացման մարկերները լայնորեն հետազոտվում են ֆերտիլության ներուժի գնահատման համար:

Սպերմատոզոիդիալ բնային բջջից հասուն սպերմատոզոիդի ձևավորման գործընթացում հիստոնային սպիտակուցների հիմնական մասը փոխարինվում է արգինին-ցիստեին ամինաթթուներով հարուստ պրոտամիններով, և ԴՆԹ-ն անցնում է գերփաթեթավորման վիճակի, իսկ սպերմատոզոիդը կորցնում է ցիտոպլազմի հիմնական մասը: Ուստի սպերմատոզոիդների կորիզն ու ԴՆԹ-ն դառնում են խոցելի ROS ռադիկալների համար: Առողջ ու անպտոդությամբ տղամարդկանց սպերմատոզոիդները H₂O₂-ով մշակելուց և սեքվենավորելուց հետո բացահայտվել են գրեթե

9.000 գենոմային լոկուսներ, որոնք խիստ զգայուն են օքսիդային սթրեսի նկատմամբ: ԴՆԹ օքսիդացման վնասվածքների ամենաբարձր մակարդակը դիտվել է 15-րդ քրոմոսոմում, իսկ ամենացածրը՝ սեռական քրոմոսոմներում: Ցույց է տրվել, որ ԴՆԹ օքսիդացման վնասվածքները համընկնում են կորիզային մատրիքսի հետ կապված չփաթեթավորված ԴՆԹ տեղամասերին (միջլինքերային ԴՆԹ), որտեղ H_2O_2 -ով օքսիդացման մարկեր 8-OHdG-ն 2-15 անգամ ավելի հաճախ է հանդիպում անպտոդությամբ հիվանդների մոտ՝ համեմատած ֆերտիլ տղամարդկանց հետ: Հետևաբար սպերմատոգոնի կորիզում պերիֆերիկ դիրք ունեցող ԴՆԹ-ն առավել խոցելի է ROS ռադիկալների համար, սակայն այս վնասվածքների կենսաբանական էֆեկտները դեռևս չեն պարզվել:

Հարկ է նշել, որ սպերմատոգոններում գործում է հիմքերի հեռացման ռեպարացիայի միայն առաջին ֆերմենտը՝ hOGG1 գլիկոզիլազը, որն առաջացնում է AP-սայթեր ([տե՛ս Գլուխ 4.4 Էպիգենաթոյներ](#)): Մինչդեռ ԴՆԹ-լիզազի և պոլիմերազների հետ փոխազդող APE1 ու XRCC1, որոնք անհրաժեշտ են ռեպարացիան ավարտելու համար, գործում են միայն ձվաբջջում: Հետևաբար սպերմատոգոնների ԴՆԹ օքսիդացման վնասվածքների ռեպարացիան ավարտվում է բեղմնավորումից հետո: Ռեպարացիան կարող է խաթարվել սպերմատոգոնում ԴՆԹ վնասվածքների բարձր մակարդակի, օնցիտի տարիքի, կենսակերպի, ճարպակալման, ձվաբջջի սառեցման ու մի շարք այլ պատճառներով: Հիմքերի հեռացման ռեպարացիայի խաթարումների ժամանակ ԴՆԹ-ում բարձրանում է $G \rightarrow T$ տրանսվերսիաների հաճախականությունը: Հետաքրքիր է, որ երեխաների մոտ հայտնաբերվող *de novo* մուտացիաների (բացակայում են ծնողների մոտ) գրեթե 80 %-ն ունի հայրական ծագում, որոնց մեծ մասը տրանսվերսիաներ են: Ընդ որում՝ հայրական գամետներում կետային և ինդել մուտացիաների թիվը յուրաքանչյուր տարի միջինում ավելանում

է 1.51-ով, մինչդեռ մայրական գամետներում՝ 0.37-ով: Սա նշանակում է, որ 30 տարեկան ծնողներից ծնված երեխան միջինում կժառանգի 11 նոր մուտացիա մորից, 45 նոր մուտացիա՝ հորից:

Սպերմատոզոիդներում օքսիդային սթրեսի պատճառներից է ծխախոտի օգտագործումը, ինչը նվազեցնում է հակաօքսիդանտների մակարդակը, խաթարում օքսիդային վնասվածքների դեմ բջջային պատասխանը և մակածում ԴՆԹ վնասվածքներ: Ցույց է տրվել, որ ծխախոտի օգտագործումը 1.2-5.2 անգամ բարձրացնում է սպերմատոզոիդների ԴՆԹ-ում 8-օքս-dG մակարդակը, իսկ անպտղությանը տղամարդկանց մոտ 8-OHdG մակարդակը հակադարձ կոռելացվում է սպերմատոզոիդների կոնցենտրացիայի, շարժունության ու նորմալ մորֆոլոգիայով սպերմատոզոիդների ընդհանուր քանակի հետ:

ԴՆԹ օքսիդացման վնասվածքների զգալի բարձրացում դիտվել է նաև ասթենոզոոսպերմիայով, տեռատոզոոսպերմիայով ու լեյկոզոոսպերմիայով հիվանդների սպերմատոզոիդներում:

Գրականության ցանկ

1. Beal MA, Yauk CL, Marchetti F. From sperm to offspring: Assessing the heritable genetic consequences of paternal smoking and potential public health impacts. *Mutat Res.* 2017;773:26-50.
2. Bejjani F, Evanno E, Zibara K, Piechaczyk M, Jariel-Encontre I. The AP-1 transcriptional complex: Local switch or remote command?. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2019;1872(1):11-23.
3. Blanden AR, Yu X, Loh SN, Levine AJ, Carpizo DR. Reactivating mutant p53 using small molecules as zinc metallochaperones: awakening a sleeping giant in cancer. *Drug Discov Today.* 2015; 20(11):1391-1397.
4. Chatterjee N, Walker GC. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environ Mol Mutagen.* 2017; 58(5):235-263.
5. D'Augustin O, Huet S, Campalans A, Radicella JP. Lost in the Crowd: How Does Human 8-Oxoguanine DNA Glycosylase 1 (OGG1) Find 8-Oxoguanine in the Genome?. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(21):8360.

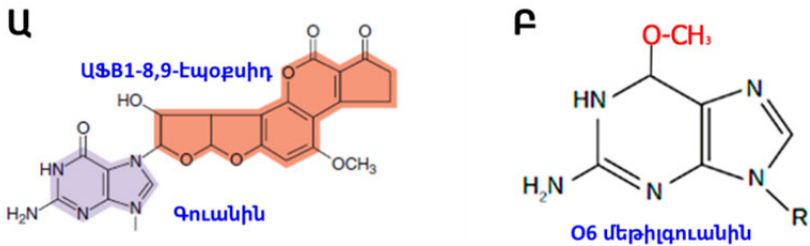
6. Farooq S, Bailey E, Farmer PB, et al. Determination of cis-thymine glycol in DNA by gas chromatography-mass spectrometry with selected ion recording and multiple reaction monitoring. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1997; 702(1-2):49-60.
7. Filipič M. Mechanisms of cadmium induced genomic instability. *Mutat Res.* 2012;733(1-2):69-77.
8. Genchi G, Sinicropi MS, Lauria G, Carocci A, Catalano A. The Effects of Cadmium Toxicity. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(11):3782.
9. Jónsson H, Sulem P, Kehr B, et al. Parental influence on human germline *de novo* mutations in 1,548 trios from Iceland. *Nature.* 2017;549(7673):519-522.
10. Klaunig JE. Oxidative Stress and Cancer. *Curr Pharm Des.* 2018;24(40):4771-4778.
11. Kudryavtseva AV, Krasnov GS, Dmitriev AA, et al. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in aging and cancer. *Oncotarget.* 2016;7(29):44879-44905.
12. Kumagai Y, Hirahashi M, Takizawa K, et al. Overexpression of MTH1 and OGG1 proteins in ulcerative colitis-associated carcinogenesis. *Oncol Lett.* 2018; 16(2):1765-1776.
13. Lim JKM, Leprivier G. The impact of oncogenic RAS on redox balance and implications for cancer development. *Cell Death Dis.* 2019;10(12):955.
14. Mao WP, Zhang NN, Zhou FY, et al. Cadmium directly induced mitochondrial dysfunction of human embryonic kidney cells. *Hum Exp Toxicol.* 2011;30(8):920-929.
15. Menezo YJ, Silvestris E, Dale B, Elder K. Oxidative stress and alterations in DNA methylation: two sides of the same coin in reproduction. *Reprod Biomed Online.* 2016;33(6):668-683.
16. Milkovic L, Cipak Gasparovic A, Cindric M, Mouthuy PA, Zarkovic N. Short Overview of ROS as Cell Function Regulators and Their Implications in Therapy Concepts. *Cells.* 2019;8(8):793.
17. Pallem PVSP, Bodiga S, Bodiga VL. Dietary phytate lowers K-ras mutational frequency, decreases DNA-adduct and hydroxyl radical formation in azoxymethane-induced colon cancer. *Iran J Basic Med Sci.* 2020; 23(1):20-29.

18. Poetsch AR. The genomics of oxidative DNA damage, repair, and resulting mutagenesis. *Comput Struct Biotechnol J*. 2020;18:207-219.
19. Rafati Rahimzadeh M, Rafati Rahimzadeh M, Kazemi S, Moghadamnia AA. Cadmium toxicity and treatment: An update. *Caspian J Intern Med*. 2017;8(3):135-145.
20. Rashki Ghaleno L, Alizadeh A, Drevet JR, Shahverdi A, Valojerdi MR. Oxidation of Sperm DNA and Male Infertility. *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(1):97.
21. Samatar AA, Poulikakos PI. Targeting RAS-ERK signalling in cancer: promises and challenges. *Nat Rev Drug Discov*. 2014;13(12):928-942.
22. Shen HM, Chia SE, Ong CN. Evaluation of oxidative DNA damage in human sperm and its association with male infertility. *J Androl*. 1999;20(6):718-723.
23. Tonelli C, Chio IIC, Tuveson DA. Transcriptional Regulation by Nrf2. *Antioxid Redox Signal*. 2018;29(17):1727-1745.
24. Vaupel P, Multhoff G. Revisiting the Warburg effect: historical dogma versus current understanding. *J Physiol*. 2021;599(6):1745-1757.
25. Wu S, Lu H, Bai Y. Nrf2 in cancers: A double-edged sword. *Cancer Med*. 2019;8(5):2252-2267.
26. Xavier MJ, Nixon B, Roman SD, Scott RJ, Drevet JR, Aitken RJ. Paternal impacts on development: identification of genomic regions vulnerable to oxidative DNA damage in human spermatozoa. *Hum Reprod*. 2019;34(10):1876-1890.
27. Youn CK, Kim SH, Lee DY, et al. Cadmium down-regulates human OGG1 through suppression of Sp1 activity. *J Biol Chem*. 2005;280(26):25185-25195.

5.2. ԴՆԹ աղուկաներ

ԴՆԹ աղուկաներն առաջանում են ԴՆԹ-ի ու մուտագենի կամ կանցերոգենի միջև կովալենտ կապի առաջացման պատճառով, ուստի նորմալ բջիջներում դրանք զենաթույների ազդեցության կենսամարկերներ են: ԴՆԹ աղուկաները բաժանվում են երկու հիմնական խմբի՝ ծավալուն (օրինակ՝ ԱՖՅ1-N7G) ([Նկ. 73Ա](#))

ու փոքր (օր.՝ O6 մեթիլգուանինը) (Նկ. 73Բ): Տարբեր տիպի ադուկտների առաջացումը կախված է մի շարք գործոններից: Որպես կանոն, բջջում ուժեղ էլեկտրոֆիլներն ունեն ավելի մեծ թվով թիրախներ, քանի որ փոխազդում են ն՝ թույլ, ն՝ ուժեղ նուկլեոֆիլների հետ, մինչդեռ թույլ էլեկտրոֆիլները կարող են ակտիվացնել միայն ուժեղ նուկլեոֆիլներին:



Նկար 73. ԴՆԹ ադուկտների տեսակները: **Ա.** ԱՖՅ1-N7G առաջացնում է ծավալուն ադուկտ գուանինի հետ, իսկ **Բ.** գուանինի ակտիվացման արդյունքում ձևավորվում է O6 մեթիլգուանին՝ փոքր տիպի ադուկտ (Wyss et al., 2016):

ԴՆԹ-ում նուկլեոտիդների կառուցվածքում էլեկտրոֆիլների գլխավոր թիրախները N ու O ատոմներն են: Տեսականորեն ադուկտներ կարող են առաջանալ այս ատոմները պարունակող ԴՆԹ բոլոր հատվածներում, սակայն ակտիվացման հիմնական թիրախներն են՝ գուանինի N7, ադենինի N3 և N1, գուանինի N3 ու O6 դիրքերը (թվարկված են ըստ հանդիպման հաճախականության նվազման): Բարձր հաճախականությամբ ակտիվացում դիտվում է նաև ֆոսֆոդիէսթերական հենքում: Չոեպարացվելու դեպքում ԴՆԹ ադուկտները կարող են հանգեցնել բջիջների նորմալ աճը կարգավորող գեների մուտացիաների: Առավել հայտնի օրինակներից է TP53 գենի 249 կոդոնում ԱՖՅ1-N7G ադուկտի առաջացման հետևանքով G→T տրանսվերսիան, որը ԱՖՅ1-ով մակածված հեպատոկանցերոգենեզի նախնական մուտացիաներից է: Հետաքրքիր է, որ այս կոդոնի մուտացիաներ գրանցվել են նաև

թոքերի ու կրծքագեղձի քաղցկեղով հիվանդների մոտ: Լյարդի բջիջներում **TP53 գենի 249 կոդոնում G→T տրանսվերսիան** ԱՖՅ1-ի մուտագեն ազդեցության կենսամարկերն է:

ԴՆԹ ադուկտները ծխախոտի օգտագործման պատճառով թոքերի քաղցկեղի զարգացման ռիսկի կենսամարկերներ են: ԱՄՆ-ում 2018 թ. թոքերի քաղցկեղից մահացածների (առաջատարն է քաղցկեղի բոլոր տեսակների մեջ) թիվը կազմել է 154.000 մարդ, որոնցից ~90 %-ի պատճառը ծխախոտի օգտագործումն էր:

Ծխախոտի ծուխը պարունակում է ավելի քան 7.000 քիմիական միացություններ (ներառյալ ծխախոտի սպեցիֆիկ նիտրոզամինները), որոնց շարքում կան ուղղակի (օրինակ՝ ֆորմալդեհիդ, ացետալդեհիդ) ու անուղղակի (օրինակ՝ N'-նիտրոզոնորնիկոտին, բենզապիրեն) ազդեցությամբ մուտագեններ, այդ թվում՝ ավելի քան 70 կանցերոգեններ: Առավել լավ ուսումնասիրված ադուկտներից է բենզապիրենի մետաբոլիզացիայի արդյունքում ձևավորվող N2 գուանին-բենզապիրենդիոլ էպօքսիդը: Ցույց է տրվել, որ այս ադուկտի մակարդակը զգալիորեն բարձր է թոքերի քաղցկեղով ծխող հիվանդների ուռուցքային բջիջներում:

ԴՆԹ ադուկտներ կարող են առաջանալ նաև ROS ռադիկալների ազդեցությամբ լիպիդների օքսիդացման արդյունքում ձևավորվող ալդեհիդների (օրինակ՝ մալոնդիալդեհիդ, 4-հիդրօքսինոնենալ) հետ փոխազդեցության պատճառով: Այսպես՝ 4-հիդրօքսինոնենալն առաջացնում է 2N դեզօքսիգուանոզին-հիդրօքսինոնենալ ծավալուն էքզոցիկլիկ ադուկտ, որը հաճախ մակաձվում է TP53 գենի 249 կոդոնում (*): Մարդու TK6 լիմֆոբլաստոիդ բջիջների մշակումը 4-հիդրօքսինոնենալով մակաձում է G→T տրանսվերսիան TP53 գենի 249 կոդոնում: Հետևաբար 2N դեզօքսիգուանոզին-հիդրօքսինոնենալ ադուկտը կարող է լինել TP53 գենի մուտացիայի ու գենոմային անկայունության պատճառ: Օքսիդային սթրեսով մակաձված ԴՆԹ ադուկտներ բացահայտվել են նաև կլինիկայի աշխատակիցների խմբում: Այսպես, ցույց է տրվել դե-

օքսիգուանոզին-մալոնդիալդեհիդ ադուկտների բարձր հաճախականությունը ախտաբանության լաբորատորիայի աշխատակիցների արյան բջիջների ԴՆԹ-ում, որը կոռելացվում էր օդում ֆորմալդեհիդի բարձր կոնցենտրացիայի հետ:

Հարկ է նշել, որ ԴՆԹ ադուկտների կանցերոգենությունը կախված է նաև դրանց կառուցվածքից: Օրինակ՝ առնետների լյարդի բջիջներում ԱՖՅ1 առաջացնում է 53 ադուկտ/10⁸ նուկլեոտիդ, իսկ դիմեթիլնիտրոզամինը՝ 2082 ադուկտ/10⁸ նուկլեոտիդ հաճախականությամբ: Ընդ որում՝ երկուսն էլ մակաձում են կենդանիների 50 %-ի մոտ լյարդի քաղցկեղ: Ուստի կարելի է ենթադրել, որ ԱՖՅ1-N7G ադուկտներն օժտված են 40 անգամ ավելի բարձր կանցերոգենությամբ:

***Հետաքրքիր է:** Վիլսոնի հիվանդությամբ (աուտոսոմ ռեցեսիվ հիվանդություն, որն առաջանում է ATP7B գենի մուտացիայի պատճառով) տառապող մարդկանց լյարդում, գլխուղեղում ու աչքերում դիտվում են Cu-ի կուտակումներ: Բացահայտվել է, որ հիվանդների հեպատոցիտներում բարձր են նաև լիպիդների օքսիդացման արգասիքների մակարդակն ու TP53 գենի 249 կոդոնում G→T տրանսվերսիայի հաճախականությունը: Սակայն Վիլսոնի հիվանդության ու ԴՆԹ ադուկտների միջև կապը դեռևս չի ուսումնասիրվել:

Գրականության ցանկ

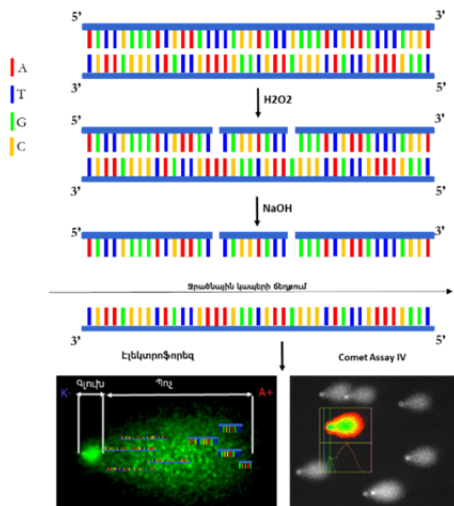
1. Chatterjee N, Walker GC. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. Environ Mol Mutagen. 2017; 58(5):235-263.
2. Wyss LA, Nilforoushan A, Williams DM, Marx A, Sturla SJ. The use of an artificial nucleotide for polymerase-based recognition of carcinogenic O6-alkylguanine DNA adducts. Nucleic Acids Res. 2016;44(14):6564-6573.

5.3. ԴՆԹ կոմետներ

Գենաթունային ազդեցության վաղ կենսամարկերներից են ԴՆԹ կոմետները, որոնք ձևավորվում են ԴՆԹ միաշղթա n /կամ երկշղթա կտրվածքներ ունեցող առանձին բջիջների ժել-էլեկտրոֆորեզի արդյունքում: Այս մոտեցումը մշակվել է դեռևս 1984 թ. (Օյստլինգի և Յոհանսոնի կողմից) ճառագայթամաք մակածված ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքների բացահայտման նպատակով: Հետագայում մշակվել են ԴՆԹ-կոմետ մեթոդի տարբեր մոդիֆիկացիաներ, որոնցից առավել լայն կիրառում է ստացել հիմնային pH -ի պայմաններում ($pH > 13.0$) ԴՆԹ դենատուրացիան ու ժել-էլեկտրոֆորեզը (մշակվել է Սինիսի կողմից 1988 թ.): ԴՆԹ կոմետների նշանակությունը՝ որպես գենաթունային ազդեցության ունիվերսալ կենսամարկերներ, ցույց է տրված ջրային ու ցամաքային անողնաշարավորների ու ողնաշարավորների բջիջներում: OECD (TG 489) ուղեցույցում վալիդացվել է *in vivo* ԴՆԹ-կոմետ մեթոդի հիմնային տարբերակն առնետների լյարդի բջիջներում ԴՆԹ առաջնային վնասվածքների թեստավորման համար: Այս կենսամարկերի կիրառմամբ վերջին տասը տարիների ընթացքում տպագրվել է ավելի քան 7.000 գիտական աշխատանք՝ ինչպես գենաթունաբանական թեստավորումների, այնպես էլ մարդու ու տարբեր կենդանիների կենսամշտադիտարկման վերաբերյալ: Ներկայումս ԴՆԹ-կոմետ մեթոդը միակն է, որը թույլ է տալիս ուղղակիորեն գնահատել ԴՆԹ ֆրագմենտացիայի տոկոսը մեկ բջջի մակարդակում:

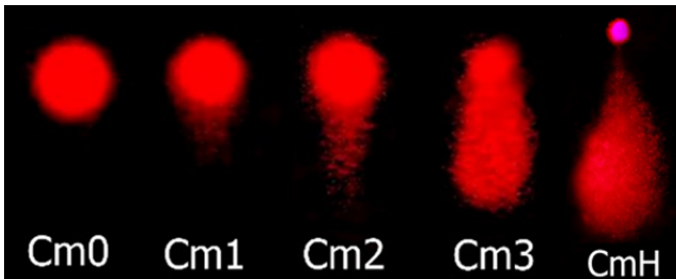
ԴՆԹ-կոմետը գիսաստղ հիշեցնող պատկեր է, որը ձևավորվում է ազարոզային ժելում լիզիսից հետո բջջի ԴՆԹ էլեկտրոֆորեզի արդյունքում: Չեզոք pH -ի պայմաններում բացահայտվում են ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքները, որոնք առաջանում են ԴՆԹ կոմպլեմենտար շղթաների միևնույն հատվածներում միջնուկլեոտիդային ֆոսֆոդիէսթերային (կովալենտ) կապերի խզման պատ-

ճառով: ԴՆԹ միաշղթա կտրվածքների դեպքում ԴՆԹ վնասված հատվածները մնում են միացած կոմպլեմենտար շղթային ջրածնային կապերի շնորհիվ: Ուստի չեզոք pH-ում էլեկտրոֆորեզի ժամանակ դրանք չեն շարժվում դեպի կոմետի պոչը: Այդ դեպքում անհրաժեշտ է կիրառել հիմնային ԴՆԹ-կոմետ մեթոդը: Հիմնային pH-ի պայմաններում գերակշռում են OH^- խմբերը, որոնք գուանինից ու թիմինից պոկում են ջարժանային կապերի առաջացմանը մասնակցող պրոտոնները (H^+), ինչի արդյունքում խզվում են ԴՆԹ կոմպլեմենտար շղթաների միջև ջրածնային կապերը: Ուստի էլեկտրոֆորեզի ընթացքում ԴՆԹ բացասական լիցք կրող (շնորհիվ ֆոսֆատային մնացորդների) միաշղթա ու երկշղթա հատվածները շարժվում են դեպի դրական լիցք ունեցող անոդը և ձևավորում կոմետի պոչը, իսկ չմասնատված ԴՆԹ-ն մնում է կոմետի գլխում (Նկ. 74):



Նկար 74. ԴՆԹ վնասվածքների վերլուծություն ԴՆԹ-կոմետ մեթոդով: Ժել-էլեկտրոֆորեզի ընթացքում տարբեր չափեր ունեցող ԴՆԹ վնասված հատվածները շարժվում են դեպի անոդը (A+) և ձևավորում կոմետի պոչը, որտեղ ԴՆԹ տոկոսային պարունակությունը չափվում է «Comet Assay IV» ծրագրով:

Ըստ կոմետի պոչում ԴՆԹ տոկոսային պարունակության ԴՆԹ կոմետները կարելի է վիզուալ դասակարգել Cm0-Cm3 խմբերում (Նկ. 75): Cm0 խմբի կոմետներում ԴՆԹ զգալի վնասվածքներ չեն դիտվում և առավել հաճախ հանդիպում են ստուգիչ խմբերի բջիջներում: Cm1-Cm2 խմբերում ($\geq 20-45\%$ ԴՆԹ կոմետի պոչում) աստիճանաբար երևում է ԴՆԹ վնասված հատվածներից կոմետի պոչի ձևավորումը, իսկ Cm3 խմբում տեսնում ենք ($\geq 50\%$ ԴՆԹ կոմետի պոչում) ջախջախված ԴՆԹ-ով բջջի կոմետ: Երբ ԴՆԹ տոկոսային պարունակությունը կոմետի պոչում $\geq 80\%$ է, ապա գրանցում են «հեջհոգ» (անգլերեն՝ hedgehog – ոզնի) տիպի կոմետ (CmH խումբ), որն ունի փոքր գլուխ և հստակ երևացող կոմետի պոչ: Ենթադրվում է, որ այդպիսի կոմետներն առաջանում են ապոպտոզային (ծրագրավորված բջջային մահվան ուղի) բջիջներից և երբեմն կոչվում են «ոզնիներ»:



Նկար 75. ԴՆԹ կոմետների տարբեր խմբերը: Cm0 խմբի կոմետներում ԴՆԹ-ն ֆրագմենտավորված չէ, իսկ CmH խմբում (հեջհոգ) բջջի ԴՆԹ հիմնական մասն էլեկտրոֆորեզի արդյունքում տեղափոխվել է կոմետի պոչ (Cortés-Gutiérrez et al., 2012):

Կոմետների վերլուծության համար առավել հաճախ կիրառվում է «Comet Assay IV» ծրագիրը, որը գնենրացնում է կոմետների տարբեր չափանիշներ (օրինակ՝ կոմետի պոչի երկարությունը, պոչի մոմենտը, պոչում ԴՆԹ տոկոսային պարունակությունը): Գենաթունայնության թեստավորման ժամանակ առավել խոստուն ու վալիդացված չափանիշը կոմետի պոչում ԴՆԹ տոկոսային

պարունակությունն է: Կոմետների վերլուծության ժամանակ ՇՄԻ խմբի կոմետների չափումները չեն ներառվում վիճակագրական վերլուծության մեջ, սակայն հաշվում են այս բջիջների մասնաբաժինը վերլուծված բջջային պոպուլյացիայում:

Չեզոք ու հիմնային տարբերակներից բացի՝ մշակվել է նաև ԴՆԹ-կոմետ մեթոդի ոչ բջջային տարբերակը, որի դեպքում մուտագենի ազդեցությունը տեղի է ունենում բջիջների լիզիսից հետո: Հետևաբար կարելի է ուսումնասիրել ԴՆԹ-ի հետ ուղղակիորեն փոխազդող մուտագենների էֆեկտները՝ կանխելով ԴՆԹ ռեպարացիան: ԴՆԹ-կոմետ մեթոդի կարևոր առանձնահատկություններից մեկն այն է, որ ԴՆԹ վնասվածքների ուսումնասիրմանը զուգահեռ կարելի է գնահատել նաև ԴՆԹ-ի ռեպարացիայի դինամիկան (օրինակ՝ ճառագայթումից 1 ու 24 ժամ անց):

ԴՆԹ օքսիդացման վնասվածքները կարելի է բացահայտել ռեստրիկցիայի ֆերմենտների կիրառմամբ, որոնք կտրում են ԴՆԹ-ն օքսիդացած նուկլեոտիդների հատվածներում (օրինակ՝ hOGG1 կտրում է 8-OHdG), ինչի շնորհիվ էլեկտրոֆորեզից հետո կոմետի պոչում բարձրանում է ԴՆԹ տոկոսային պարունակությունը (Աղ. 6):

Աղյուսակ 6. ԴՆԹ-կոմետ մեթոդում առավել հաճախ կիրառվող ռեստրիկցիայի ֆերմենտները (Muruzabal et al., 2021)

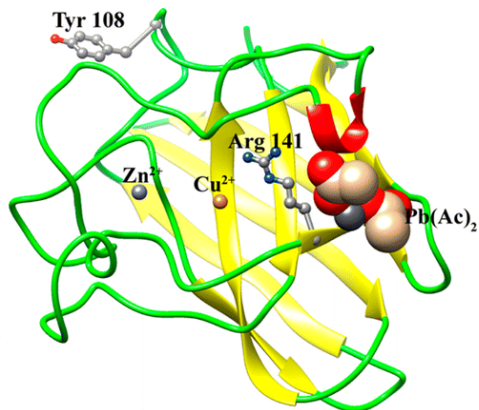
Ֆերմենտներ	Fpg	EndoIII	hOGG1	T4EndoV
Հոդվածներ, #	554	231	75	20
Հոդվածներ և օբյեկտներ, #	մարդ: 116 <i>in vitro</i> : 335 <i>in vivo</i> : 67	մարդ: 60 <i>in vitro</i> : 131 <i>in vivo</i> : 31	մարդ: 18 <i>in vitro</i> : 38 <i>in vivo</i> : 14	մարդ: 3 <i>in vitro</i> : 15 <i>in vivo</i> : 0
ԴՆԹ-ի վնասվածքներ	8-oxo-G, FapyG	Թիմին գլիկոլ, դիհիդրօքսի թիմին	8-oxo-G	ՑՊԴ
Ֆերմենտի ֆունկցիան	ԴՆԹ N-գլիկոզիլազ և AP լիազ			

FapyG՝ 2,6-դիամինո-4-հիդրօքսի-5-ֆորմամիդոպիրիմիդին, ՑՊԴ՝ ցիկլոբութանային պիրիմիդինային դիմերներ

ԴՆԹ կոմետոները լայնորեն կիրառվում են կենդանիների էկոգենաթունաբանաբանական մշտադիտարկման համար: Օրինակ՝ ցույց է տրվել, որ *Darevskia* ցեղի մողեսների էրիթրոցիտների կոմետոների պոչում ԴՆԹ բարձր պարունակությունը կոռելացվում է հողում ծանր մետաղների (օրինակ՝ Cr, Cu, Pb, As և այլն) կոնցենտրացիայի հետ: Հարկավոր է հիշել, որ ծանր մետաղները կարող են կուտակվել բույսերի ու կենդանիների հյուսվածքներում, ինչը բարձրացնում է սննդային շղթաների միջոցով մարդու օրգանիզմ դրանց ներթափանցման ու բացասական ազդեցությունների ռիսկը:

Ծանր մետաղները մակաձուլում են ԴՆԹ վնասվածքներ դրանց ազդեցությանը ենթարկված մարդկանց բջիջներում, ինչը կարելի է բացահայտել ԴՆԹ կոմետոների մակարդակի բարձրացմամբ: Օրինակ՝ ցույց է տրվել, որ ներկանյութերի միջոցով Pb-ի անօրգանական աղերի (IARC 2A) ազդեցությանը ենթարկված անձանց արյան լիմֆոցիտներում ԴՆԹ կոմետոների մակարդակն ավելի բարձր է՝ համեմատած ստուգիչ խմբի հետ: Նման արդյունքներ դիտվել են նաև խեցեգործությամբ զբաղվողների ու մարտկոցների արտադրության գործարանի աշխատողների մոտ, որոնց արյան պլազմայում Pb-ի բարձր կոնցենտրացիան կոռելացվում էր մալոնդիալդեհիդի (օքսիդային սթրեսի մարկեր) կոնցենտրացիայի հետ: Pb-ն օրգանիզմ է ներթափանցում շնչառական ու մարսողական համակարգերով: Օրգանիզմում Pb-ի >95 %-ը հայտնաբերվում է էրիթրոցիտներում, որտեղ կապվում է ծամփնոլուլինաթթու դեհիդրատազին և արգելակում պորֆոբիլինոգենի (հեմոգլոբինի կենսասինթեզի հիմք) սինթեզը: Նաև կապվում է հեմոգլոբինի հետ, արգելակում է հեմոգլոբինի ու Fe-ի փոխազդեցությունը, և կուտակվում է ցինկ-պրոտոպորֆիրինը: Pb-ը ճնշում է հակաօքսիդանտային ֆերմենտների (սուպերօքսիդ դիսմուտազ, կատալազ, գլյուտաթիոն պերօքսիդազ) ակտիվությունը՝ ուղղակիորեն կապվելով ֆերմենտներին և/կամ դուրս մղելով

համապատասխան մետաղները (Cu^{2+} , Zn^{2+}) կատալիտիկ կենտրոններից (Նկ. 76): Միևնույն ժամանակ բջիջներում զգալիորեն բարձրանում է ակտիվ ռադիկալների կոնցենտրացիան, ինչը հանգեցնում է ԴՆԹ վնասվածքների առաջացմանը:



Նկար 76. Սուպերօքսիդ դիսմուտազի փոխազդեցությունը կապարի ացետատի ($\text{Pb}(\text{Ac})_2$) հետ: $\text{Pb}(\text{Ac})_2$ էլեկտրոստատիկ ճանապարհով փոխազդում է ֆերմենտի կատալիտիկ տեղամասի Arg141-ի թթվածնի ատոմի հետ, որի արդյունքում դուրս է մղվում Cu^{2+} և արգելակվում է սպիտակուցի ֆունկցիան: Սպիտակուցում երկրորդային կառուցվածքները նշված են գույներով. α -պարույր՝ կարմիր, β -ձալքեր՝ դեղին, β -պտույտներ՝ կանաչ (Zhang et al., 2014):

ԴՆԹ կոմետները կիրառվել են ծխողների մոտ արյան լիմֆոցիտներում ԴՆԹ վնասվածքների մակարդակի գնահատման նպատակով: Սակայն արդյունքները հակասական են, ինչը կարող է պայմանավորված լինել ծխախոտի օգտագործման հաճախականությամբ, ծխախոտի տեսակով, արտադրման տեխնոլոգիայով, քիմիական կազմով և մի շարք այլ գործոններով: Միևնույն ժամանակ պետք է հիշել, որ ծխախոտի օգտագործումը պատկանում է մարդու համար կանցերոգեն գործոնների խմբին:

ԴՆԹ կոմետների կիրառումը արական անպտղության ժամանակ

ԴՆԹ կոմետները կիրառվում են նաև մարդու սպերմատոզոիդներում ԴՆԹ վնասվածքների մակարդակն ու դրանց կապը շրջակա միջավայրի գործոնների, կենսակերպի ու սննդակարգի հետ պարզելու համար: Վերջին տարիներին բացահայտվել է, որ բոլոր սպերմատոզոիդներին բնորոշ է ԴՆԹ տարբեր աստիճանի ֆրագմենտացիայի առկայությունը, որի բարձր մակարդակը կարող է բացասաբար անդրադառնալ ֆերտիլության ու սաղմի որակի վրա: Օրինակ՝ բացահայտվել է, որ սպերմատոզոիդներում 25 %-ից բարձր ԴՆԹ վնասվածքների առկայությունը 8.75 անգամ բարձրացնում է արական անպտղության ռիսկը: Արական անպտղության դեպքում բուժման առավել արդյունավետ մոտեցումներից է արտամարմնային բեղմնավորումը: Սակայն սպերմատոզոիդներում 42 %-ից բարձր ԴՆԹ-ի վնասվածքների դեպքում կլինիկական հղիության հավանականությունը կրկնակի նվազում է: Բացահայտվել է, որ ալկոհոլի ու ծխախոտի չարաշահումը կոռեկցվում է սպերմատոզոիդների ցածր կոնցենտրացիայի, ROS ռադիկալների ու ԴՆԹ վնասվածքների մակարդակի հետ: Ցույց է տրվել նաև սպերմատոզոիդներում ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքների ու սպոնտան վիժումների միջև կապը: Այսպիսով՝ մարդու կենսակերպը զգալիորեն կարող է ազդել նրա սերունդ ունենալու հավանականության վրա: Այս խնդիրը հատկապես մտահոգիչ է պոպուլյացիայի առավել խոցելի խմբերում, մասնավորապես դեռահասների ու երիտասարդների շրջանում, որոնք հաճախ տրվում են այս կամ այն բացասական սովորույթին թերինֆորմացված լինելու պատճառով, ուստի գենաթունաբանական մշտադիտարկումների արդյունքները պետք է դարձնել առավելագույնս հասանելի հասարակության լայն շրջանակի համար:

ԴՆԹ կոմետոնների կիրառումը ԴՆԹ մեթիլացման գնահատման համար

Վերջին տարիներին մշակվել են ԴՆԹ կոմետոնների նոր մոդիֆիկացիաներ, որոնցից է «ԴՆԹ-մեթիլ կոմետ» մեթոդը: Այն թույլ է տալիս գնահատել ԴՆԹ գլոբալ մեթիլացման մակարդակը MspI ու HpaII իզոշիզոմերային ռեստրիկցիայի ֆերմենտների կիրառմամբ մեկ բջջի մակարդակում: Երկու ֆերմենտներն էլ ճանաչում են միևնույն տետրանուկլեոտիդային հաջորդականությունը (5'-CCGG-3'), սակայն օժտված են մեթիլացված ԴՆԹ-ի նկատմամբ տարբեր զգայնությամբ: HpaII չի կարողանում կտրել ԴՆԹ-ն, երբ ցիտոզիններից մեկը մեթիլացված է (5'-mCCGG-3' կամ 5'-CmCCGG-3'), մինչդեռ MspI կտրում է 5'-CmCCGG-3', բայց ոչ 5'-mCCGG-3': CpG դիմուկլեոտիդների մեթիլացման մակարդակը գնահատվում է յուրաքանչյուր ֆերմենտներով մշակված կոմետոնների պոչում ԴՆԹ միջին տոկոսային պարունակության հարաբերակցությամբ՝ կիրառելով հետևյալ բանաձևը.

$$\text{ԴՆԹ-ի մեթիլացում (\%)} = \left(100 - \frac{\text{HpaII}}{\text{MspI}} * 100 \right) - \text{ստուգիչ:}$$

Ֆերմենտների համակցությամբ ցանկացած ԴՆԹ-կոմետ մեթոդի կիրառման դեպքում հետազոտվող ԴՆԹ քիմիական փոփոխությունները բացահայտվում են ֆերմենտներով մակաձված և ստուգիչում սպոնտան ԴՆԹ վնասվածքների տարբերությամբ: Հետևաբար անհարժեշտ է կիրառել ԴՆԹ սպոնտան վնասվածքների ցածր մակարդակով բջիջներ՝ ֆերմենտներով մակաձված ԴՆԹ վնասվածքների հետ չվերածածկվելու նպատակով: Մեթոդի սահմանափակումներից մեկն էլ այն է, որ 5'-CCGG-3' հաջորդականություններն անհավասարաչափ են բաշխված գենոմում և ներկայացնում են CpG դիմուկլեոտիդների գրեթե 8 %-ը: Այս մեթոդի կիրառմամբ մարդու HepG2 լյարդի քաղցկեղի բջջային կուլտուրայում ցույց է տրվել սուկցինատի ու ֆոմարատի հիպերմեթիլացնող ազդեցությունը: Կրեբսի ցիկլում սուկցինատն օքսի-

դացվում է մինչև ֆումարատ, որն էլ փոխարկվում է մալատի՝ ֆումարատ հիդրատագի միջոցով: Քաղցկեղային բջիջներում այս գործընթացը հաճախ խաթարվում է և դիտվում սուկցինատի ու ֆումարատի կուտակում բջջում: Դրա հետևանքով ակտիվանում է հիպօքսիայի գործոնի (HIF1A) հիդրօքսիլացն ու բջջում մակա-ծում փսևդոհիպօքսիա ու ԴՆԹ մեթիլացման խաթարում:

ԴՆԹ կոմետների կիրառումը պոստմորտեմ նմուշներում

ԴՆԹ կոմետները կիրառվել են նաև մի շարք դատագենետիկական հետազոտություններում պոստմորտեմ ժամանակահատվածի (մահվան պահից անցած ժամանակ) գնահատման համար: Ներկայումս պոստմորտեմ ժամանակահատվածը գնահատում են տարբեր մեթոդներով, որոնք առավել արդյունավետ են մահվանից 8 ժամվա ընթացքում: Մինչդեռ մահվան ելքով հանցագործությունների դեպքերում մահացածի մարմինը հայտնաբերվում է մինչև առաջին 48 ժ ընթացքում: Ուստի անհրաժեշտ է մշակել այնպիսի կենսամարկերներ, որոնք թույլ կտան քանակապես գնահատել պոստմորտեմ ժամանակահատվածը՝ առավելագույն ճշգրտությամբ: Քանի որ մահանալուց հետո բջջային նուկլեագները սկսում են կտրատել քրոմոսոմներն ու ԴՆԹ-ն, ապա ԴՆԹ ֆրագմենտացիայի գնահատումը խոստումնալից մոտեցում է դատագենետիկական փորձաքննության համար պոստմորտեմ ժամանակահատվածի գնահատման նպատակով: Օրինակ՝ մարդու արյան բջիջներում մահանալուց 2 և 22 ժ անց դիտվել է կոմետի պոչի երկարության ու պոչի մոմենտի կորելյացիա պոստմորտեմ ժամանակահատվածի հետ: Բացահայտվել է նաև արյան լեյկոցիտների կոմետների կորելյացիան մինչև 56 ժ պոստմորտեմ ժամանակահատվածի հետ: Նման արդյունքներ ստացվել են նաև կենդանիների մոդելներում: Պարզվել է, որ նմուշների պահման ջերմասիճանն ու միջավայրի խոնավությունը զգալիորեն կարող են ազդել կոմետների մակարդակի վրա: Ներկայումս իրակա-

նացվում են դատագենետիկական փորձաքննության համար ԴՆԹ կոմետների ստանդարտացման աշխատանքներ, որոնք զգալիորեն կնպաստեն պոստմորտեմ ժամանակահատվածի ավելի ճշգրիտ որոշմանը:

Գրականության ցանկ

1. Azqueta A, Ladeira C, Giovannelli L, et al. Application of the comet assay in human biomonitoring: An hCOMET perspective. *Mutat Res.* 2020; 783:108288.
2. Bhojar L, Mehar P, Chavali K. Assessing the forensic implications of DNA degradation for PMI estimation using comet assay: A systematic review. *J Forensic Leg Med.* 2025;109:102801. doi:10.1016/j.jflm.2025.102801.
3. Collins AR. Measuring oxidative damage to DNA and its repair with the comet assay. *Biochim Biophys Acta.* 2014; 1840(2):794-800.
4. Cortés-Gutiérrez EI, Hernández-Garza F, García-Pérez JO, Dávila-Rodríguez MI, Aguado-Barrera ME, Cerda-Flores RM. Evaluation of DNA single and double strand breaks in women with cervical neoplasia based on alkaline and neutral comet assay techniques. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:385245.
5. Johnson LA, Ferris JA. Analysis of postmortem DNA degradation by single-cell gel electrophoresis. *Forensic Sci Int.* 2002;126(1):43-47. doi:10.1016/s0379-0738(02)00027-0.
6. Muruzabal D, Collins A, Azqueta A. The enzyme-modified comet assay: Past, present and future. *Food Chem Toxicol.* 2021; 147:111865.
7. Patil AJ, Bhagwat VR, Patil JA, et al. Effect of lead (Pb) exposure on the activity of superoxide dismutase and catalase in battery manufacturing workers (BMW) of Western Maharashtra (India) with reference to heme biosynthesis. *Int J Environ Res Public Health.* 2006; 3(4):329-337.
8. Sargsyan A, Simonyan A, Hovhannisyan G, Arakelyan M, Aroutiounian R. Application of the comet assay, micronucleus test and global DNA methylation analysis in *Darevskia* lizards as a sentinel organism for genotoxic monitoring of soil pollution. *Mutat Res.* 2019; 842:117-124.
9. Shukla RK. Forensic application of comet assay: an emerging technique. *Forensic Sci Res.* 2017;2(4):180-184. doi:10.1080/20961790.2017.1379893

10. Simon L, Emery B, Carrell DT. Sperm DNA Fragmentation: Consequences for Reproduction. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1166:87-105.
11. Wu X, Cobbina SJ, Mao G, Xu H, Zhang Z, Yang L. A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2016; 23(9):8244-8259.
12. Zhang H, Liu Y, Liu R, Liu C, Chen Y. Molecular Mechanism of Lead-Induced Superoxide Dismutase Inactivation in Zebrafish Livers. *J Phys Chem B.* 2014; 118(51):14820-6.

5.4. γ H2AX լոկուսներ

Գենոմի կայունությունը խիստ կարևոր է բջջի նորմալ կենսագործունեության համար, մինչդեռ տարբեր էնդոգեն ու էքզոգեն գործոններ մակաձուլ են ԴՆԹ միաշղթա ու երկշղթա վնասվածքներ: Վերջիններիս բնորոշ է բարձր բջջաթունայնությունը, առաջացնում են ինսերցիաներ, դելեցիաներ, քրոմոսոմների կառուցվածքային խաթարումներ, որոնք տարբեր հիվանդությունների, այդ թվում՝ քաղցկեղի առաջացման պատճառ են: Հետևաբար էվոլյուցիայի ընթացքում բջջում զարգացել են այս վնասվածքները շտկելու կամ ռեպարացնելու համակարգեր: ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքների ռեպարացիան իրականանում է երկու հիմնական ուղիներով՝ հոմոլոգիական ռեպարացիայի (անզլերեն՝ homology directed repair, **HDR**) և **NHEJ** մեխանիզմներով: Երկու մեխանիզմներն էլ իրականանում են հետևյալ հիմնական փուլերով՝

- ԴՆԹ կտրված ծայրերի կայունացում,
- նուկլեազներով ծայրային հատվածների մշակում,
- ԴՆԹ-պոլիմերազներով կոմպլեմենտար հատվածների վերականգնում,
- լիգացիայի իրականացում:

Հարկավոր է հիշել, որ «ոչ հոմոլոգիական» տերմինը չի նշանակում հոմոլոգիայի լրիվ բացակայություն, ու NHEJ ռեպարացիայի ժամանակ մինչև 4 նուկլեոտիդային զույգ (նգ) միկրոհոմոլոգիան կարող է օգտագործվել ռեպարացիայի համար: Մինչդեռ HDR ռեպարացիայի ժամանակ մինչև մի քանի հարյուր նուկլեոտիդ հոմոլոգ հատված կարող է օգտագործվել որպես մատրիցա՝ բարձր ճշգրտությամբ ռեպարացիայի նպատակով:

NHEJ ռեպարացիայի ժամանակ հաճախ առաջանում են ինդելներ (ինսերցիաներ/դելեցիաներ), սակայն այս մեխանիզմը երկշղթա վնասվածքների վերականգնման հիմնական ուղին է, քանի որ ակտիվ է բջջային ցիկլի բոլոր փուլերում:

Հետաքրքիր է նաև բջջի կողմից ռեպարացիայի ուղու ընտրությունը: NHEJ ընթանում է ավելի արագ (~30 րոպե) և կազմում է երկշղթա վնասվածքների ռեպարացիոն իրադարձությունների ~75%, մինչդեռ HDR տևում է մի քանի ժամ և ավելի ակտիվ է S/G2 փուլերում:

Ցույց է տրվել, որ երկշղթա կտրվածքների կառուցվածքը նույնպես ունի կարևոր ազդեցություն ռեպարացիայի ուղու ընտրության համար: Ճառագայթմամբ մակաձված կլաստերային վնասվածքներն ունեն ավելի բարդ բնույթ, և NHEJ ռեպարացիան չի կարողանում լիովին վերականգնել այս հատվածները: Այդ դեպքում միանում են նաև HDR ռեպարացիայի գործոնները, նաև NHEJ ավելի հաճախ գործում է բույթ ծայրերով կամ միկրոհոմոլոգիայով կտրվածքների վերականգնման ժամանակ, մինչդեռ HDR ռեպարացիայի համար պահանջվում են >25 նգ հատվածների առկայություն:

Ռեպարացիայի կինետիկան և կտրված ծայրային հատվածների կառուցվածքն ունի կարևոր նշանակություն երկշղթա վնասվածքների ռեպարացիայի ուղու ընտրության համար, սակայն արդի տվյալները բացահայտել են նաև բջջային տարբերակման գործոնը: Օրինակ՝ բարձր ճշգրտությամբ գործող HDR ռե-

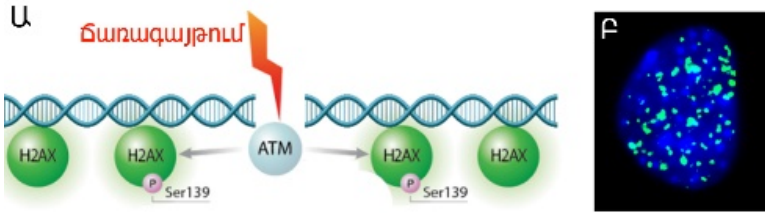
պարացիան առավել ակտիվ է բնային բջիջներում, մինչդեռ NHEJ առավել հաճախ դիտվում է տարբերակման ավելի բարձր մակարդակում գտնվող բջիջներում: Ներկայումս հայտնի է, որ ռեպարացիայի ուղու ընտրության համար որոշիչ գործոն է բջջային ցիկլի փուլը: Այսպես, NHEJ առավել ակտիվ է G1 ու G2 փուլերում, մինչդեռ միտոզի ընթացքում զգալիորեն ճնշվում է CDK1 ցիկլին կախյալ կինազի կողմից NHEJ ռեպարացիային մասնակցող գործոնների ֆոսֆորիլացման շնորհիվ:

ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքների առկայության առավել վաղ իրադարձություններից մեկը քրոմատինի մոդիֆիկացիան է, որը մակածում է ռեպարացիայի կասկադային ռեակցիաները: ԴՆԹ կտրված հատվածները մի քանի վայրկյանում ճանաչվում և կայունացվում են Ku70/Ku80 սպիտակուցների հետերոդիմերով: Այս կոմպլեքսը հենք է կամ ճանաչման տեղամաս ռեպարացիայի այլ գործոնների համար: DNA-PKcs (անգլերեն՝ DNA-dependent protein kinase catalytic subunit) սպիտակուցներն ունեն բարձր աֆինություն Ku70/Ku80 ԴՆԹ-ին միացած հետերոդիմերի նկատմամբ, ինչի շնորհիվ ԴՆԹ երկու կտրված ծայրերի շուրջ ձևավորվում է Ku-DNA-PK կոմպլեքսը, որը ֆոսֆորիլացնում և ակտիվացնում է ռեպարացիայի տարբեր սպիտակուցներ: Երկրորդ փուլում տեղի է ունենում ԴՆԹ կտրված ծայրերի մշակում Artemis էքզոնուկլեազի կողմից: Վերջին փուլում XRCC4 ու XLF սպիտակուցները փոխազդում են միմյանց հետ՝ առաջացնելով երկար գերպարուրված ֆիլամենտներ, որոնք կապվում են ԴՆԹ կտրված երկու ծայրային հատվածներին գտնվող Ku-DNA-PK կոմպլեքսների հետ՝ մոտեցնելով միմյանց: Այնուհետև LIG4 լիգազը (ԱԵՖ կախյալ) միացնում է հարևան նուկլեոտիդները միմյանց՝ վերականգնելով շղթայի ամբողջականությունը: Ավելի բարդ վնասվածքների ռեպարացիային մասնակցում են նաև PNKP (անգլերեն՝ polynucleotide kinase 3'-phosphatase), ԴՆԹ-պոլիմերազներ μ և λ , WRN (անգլերեն՝ Werner syndrome RecQ-like

helicase), APLF (անգլերեն՝ Aprataxin and PNK-like factor) սպիտակուցները:

Երկշղթա կտրվածքները ճանաչվում են նաև երկու այլ DNA-PK կինազների՝ ATM (անգլերեն՝ ataxia telangiectasia mutated) ու ATR (անգլերեն՝ ataxia telangiectasia and Rad3-related) կողմից: Այս կինազները թիրախավորում են սպիտակուցներում գլյուտամինին հաջորդող սերինային կամ թրեոնինային ամինաթթվային մնացորդները, այդ թվում՝ միջուկային հիստոն H2AX (յուրաքանչյուր հինգերորդ նուկլեոսոմում), որի կարբօքսիտերմինալ հատվածի սերին 139-ի ֆոսֆորիլացման արդյունքում ձևավորվում են **γH2AX լոկուսները** (Նկ. 77): Ֆոսֆորիլացման ռեակցիաները տեղի են ունենում երկշղթա վնասվածքների առաջացումից վայրկյաններ անց և 15-30 րոպեի ընթացքում կարող են ընդգրկել երկշղթա կտրվածքի երկու ծայրերին կից մինչև մեկ մեգանուկլեոտիդ երկարությամբ հատվածներ: NBS1 (անգլերեն՝ Nijmegen breakage syndrome 1) ու MDC1 (անգլերեն՝ mediator of DNA damage checkpoint protein 1) սպիտակուցները կապվում են γH2AX հետ և հենք են ռեպարացիայի այլ գործոնների՝ MRN կոմպլեքսի, E3 ուրիքվիտին լիգազի (RNF8), BRCA1 (անգլերեն՝ breast cancer 1), 53BP1 (անգլերեն՝ p53-binding protein 1) համար:

Այսպիսով՝ γH2AX-ը ԴՆԹ-ի վնասվածքների վաղ բջջային պատասխանի ու գենոմային անկայունության կենսամարկեր է: Ներկայումս մշակվել են սպեցիֆիկ հակամարմիններ ֆոսֆորիլացված սերին 139-ի նույնականացման նպատակով: Հայաստանում այս մեթոդն առաջին անգամ կիրառվել է ԵՊՀ գենետիկայի և բջջաբանության ամբիոնի, ՀՀ ԳԱԱ մոլեկուլային կենսաբանության ինստիտուտի ու Ռուսաստանի գիտությունների ակադեմիայի Սեմյոնովի անվան քիմիական ֆիզիկայի ինստիտուտի միջև համագործակցության շնորհիվ:



Նկար 77. (Ա) Ճառագայթմամբ մակաձված ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքների հատվածում ATM-ն ֆոսֆորիլացնում է H2AX հիստոնները: **(Բ)** Յուրաքանչյուր երկշղթա կտրվածքի γ H2AX լոկուսները (կանաչ) ֆլյուորեսցենտ նիշերով ներկելիս բջջակորիզում (կապույտ) երևում են առանձին կետերի՝ լոկուսների տեսքով:

γ H2AX լոկուսներ կարող են առաջանալ էնդոգեն (ոետրովիրուսների ինտեգրում, օքսիդային սթրես, ԴՆԹ ռեպլիկացիա, թելոմերների կարճացում, ռեկոմբինացիա և այլն) ու էքզոգեն (իոնացնող ճառագայթում, դեղանյութեր, քիմիոթերապիա և այլն) գործոնների ազդեցությամբ: γ H2AX լոկուսների թվի փոփոխությունը ԴՆԹ երկշղթա կտրվածքների կենսամարկեր է, որը կոռելյացվում է ճառագայթման դոզայի ու մուտագենների կոնցենտրացիաների հետ: Բացահայտվել է, որ γ H2AX լոկուսների քանակը զգալիորեն բարձրանում է կրծքագեղձի, թոքերի, հաստ աղիքի, շագանակագեղձի քաղցկեղի և մի շարք այլ հիվանդությունների ժամանակ ու կարող է ունենալ պրեդիկտիվ նշանակություն: Այսպես, հաստ աղիքի քաղցկեղով հիվանդների մոտ ցույց է տրվել, որ ուռուցքային հյուսվածքում γ H2AX լոկուսների բարձր մակարդակը կապված է քաղցկեղի չարորակության ու հիվանդների ցածր կենսունակության հետ: γ H2AX լոկուսների քանակը զգալիորեն բարձր է նաև ծխող մարդկանց արյան լիմֆոցիտներում՝ համեմատած չծխող անձանց հետ:

2018 թ. մարդու համար նանոմասնիկների գենաթունաբանական ռիսկի գնահատման նպատակով OECD-ը ներառել է նաև γ H2AX թեստավորման տվյալները գենաթունաբանական ստանդարտ թեստերի հետ համատեղ: Ներկայումս քննարկվում է

γH2AX թեստավորումը՝ որպես մարդու համար գենաթունային ռիսկի գնահատման նոր չափանիշ՝ թեստ-մարտկոցներում ներառելու նպատակով: Այսպիսով՝ հիմնարար գիտական հետազոտության արդյունքներն ընկած են կիրառական գիտության զարգացման հիմքում:

Գրականության ցանկ

1. Palla VV, Karaolanis G, Katafigiotis I, et al. gamma-H2AX: Can it be established as a classical cancer prognostic factor? *Tumour Biol.* 2017;39(3):1010428317695931. doi:10.1177/1010428317695931.
2. Rahmanian N, Shokrzadeh M, Eskandani M. Recent advances in γH2AX biomarker-based genotoxicity assays: A marker of DNA damage and repair. *DNA Repair (Amst).* 2021;108:103243. doi:10.1016/j.dnarep.2021.103243.

5.5. Քրոմոսոմային արեռացիաներ

Քրոմոսոմների քանակական ու կառուցվածքային արեռացիաները տարբեր հիվանդությունների առաջացման (օրինակ՝ Դաունի, Էդվարդսի, Շերեշևսկի-Տերների, Նայմեգենի, Cri-du-chat համախտանիշները, քաղցկեղը և այլն) կամ սպոնտան վիժումների ռիսկի առանցքային գործոն են: Քրոմոսոմային արեռացիաները կարող են դառնալ նաև որոշ քաղցկեղի կենսամարկեր ու առաջացման պատճառ (օրինակ՝ Ֆիլադելֆյան քրոմոսոմը՝ t(9;22)(q34;q11.2)): Բացահայտվել է, որ մարդու էքսպոզումի մի շարք գործոններ (օրինակ՝ ծանր մետաղներ, ծխախոտ, ալկոհոլ, պոլիցիկլիկ արոմատիկ ածխաջրածիններ, իոնացնող ճառագայթում և այլն) ունակ են մակաձելու քրոմոսոմների տարբեր տիպի վնասվածքներ, ինչը ռիսկային գործոն է մի շարք հիվանդությունների զարգացման համար: Ուստի գենաթունաբանական ռիսկի գնահատման նպատակով OECD-ի կողմից մշակվել են *in vitro*

(TG 473) ու *in vivo* (TG 475) թեստավորումների ստանդարտ ուղեցույցներ, որոնք նախատեսված են քրոմոսոմների կառուցվածքային խաթարումների (քրոմոսոմային և քրոմատիդային տիպի) գնահատման համար: Որոշ մուտագեններ *in vitro* ու *in vivo* պայմաններում կարող են առաջացնել անէուգեն էֆեկտներ, ինչը կարող է լինել բջջային ցիկլի խաթարման կամ բջջաթունայնության արդյունք: Ուստի անէուպլոիդիայի գնահատման համար կիրառվում են *in vitro* միկրոկորիզային թեստը (TG 487) ու *in vivo* էրիթրոցիտային միկրոկորիզային թեստը (TG 474):

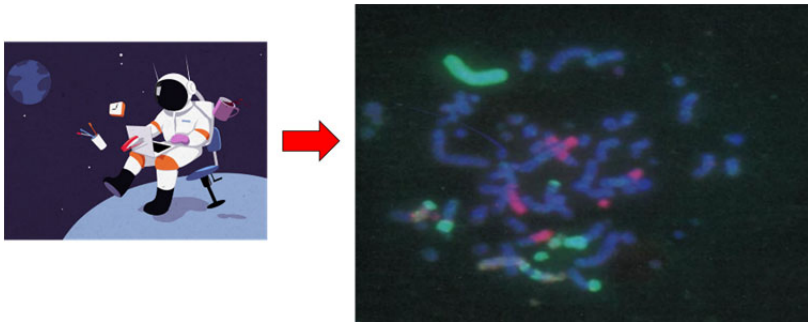
In vitro քրոմոսոմային արեռացիաների թեստում կարող են օգտագործվել համստերի ձվարանների (անզլերեն՝ Chinese hamster ovary, CHO) կամ թոքերի (անզլերեն՝ Chinese hamster lung, CHL ու V79) քաղցկեղային բջջային գծերը, մարդու TK6 (հետերոզիգոտ ըստ թիմիդին կինազ (tk) լոկուսի) լիմֆոբլաստոիդ բջջային գիծը կամ առաջնային բջջային կուլտուրաներ (օրինակ՝ մարդու կամ այլ կաթնասունի ծայրամասային արյունը): Թեստավորման համար օգտագործվող բջիջների ընտրությունը պետք է լինի գիտականորեն հիմնավորված: Մարդու ծայրամասային արյան նմուշները հարկավոր է ստանալ էրիտասարդ (18-35 տարեկան), չծխող անձանցից, որոնք չունեն հայտնի հիվանդություն և չեն ենթարկվել քրոմոսոմային խաթարումների ֆոնային մակարդակը բարձրացնող գենաթունային գործոնների (օրինակ՝ քիմիական միացություններ, իոնացնող ճառագայթում) ազդեցությանը: Քրոմոսոմային խաթարումների ֆոնային մակարդակը բարձրանում է՝ տարիքից կախված, որն առավել դրսևորվում է իգական սեռի մոտ: Հետևաբար ստացված արդյունքների վերլուծության ժամանակ անհրաժեշտ է նկատի ունենալ տարիքի ու սեռի գործոնները:

Քրոմոսոմային արեռացիաների վերլուծության ժամանակ անհրաժեշտ է հիշել, որ գոյություն ունեն կայուն (օրինակ՝ տրանսլոկացիաներ, ինսերցիաներ) ու անկայուն (դիցենտրիկ-

ներ, ացենտրիկ հատվածներ) խաթարումներ: Կայուն քրոմոսոմային աբեռացիաները բջջի բաժանումից հետո ունեն հայտնաբերման ավելի բարձր հավանականություն՝ համեմատած ացենտրիկ հատվածների հետ, ուստի ռետրոսպեկտիվ հետազոտության համար դրանց վերլուծությունն առավել նպատակահարմար է: Ավելին, փոխանակային տիպի աբեռացիաների գծային կախվածությունը ճառագայթման դոզայից թույլ է տալիս կիրառել այս թեստը կենսաբանական դոզիմետրիայի համար: Այս թեստը «ոսկե ստանդարտ է» բժշկական կամ արտադրական միջավայրերում, ատոմակայանների վթարների կամ ռազմական գործողությունների արդյունքում իոնացնող ճառագայթման կլանված դոզայի ու ճառագայթման կենսաբանական ռիսկի գնահատման ժամանակ:

Տրանսլոկացիաների հաճախականությունը գնահատելիս քրոմոսոմային աբեռացիաների թեստը զուգակցվում է ֆյուորեսցենտ *in situ* հիբրիդիզացիայի (FISH) մեթոդի հետ: Այս դեպքում քրոմոսոմները ներկվում են ամբողջական ֆյուորեսցենտ ԴՆԹ-զոնդերով (անգլերեն՝ whole chromosome paints): Քրոմոսոմների մակաձված տրանսլոկացիաները, որպես կանոն, ունեն պատահական բաշխում և գծային կերպով կախված են քրոմոսոմում ԴՆԹ պարունակությունից: Ուստի իոնացնող ճառագայթմամբ մակաձված տրանսլոկացիաների հաճախականությունը գնահատելիս վերլուծվում են առավել խոշոր՝ #1, #2 և #4 (կամ #5) քրոմոսոմները ներառող տրանսլոկացիաները: Այս քրոմոսոմները միասին կազմում են գենոմի ավելի քան 22 %-ը: Այդ նպատակով հետազոտվող քրոմոսոմները ներկվում են ամբողջական ԴՆԹ-զոնդերով և վերլուծվում ֆյուորեսցենտային մանրադիտակի կիրառմամբ: Օրինակ՝ ԱՄՆ-ի NASA (անգլերեն՝ National Aeronautics and Space Administration) գործակալության կողմից տիեզերք ուղարկված տիեզերագնացների մոտ FISH մեթոդով բացահայտվել է, որ քրոմոսոմային տրանսլոկացիաների հաճախա-

կանությունը հավաստիորեն բարձրանում է տիեզերքում երկարատև (>200 օր) աշխատանքներ կատարելիս (Նկ. 78): Հետաքրքիր է, որ Երկիր վերադառնալուց անմիջապես հետո նմուշառված արյան լիմֆոցիտների միտոտիկ ինդեքսը զգալիորեն ցածր է՝ համեմատած մինչթռիչքային նմուշների հետ: Ուստի խորհուրդ է տրվում տիեզերագնացների դոզիմետրիայի համար արյան նմուշառումն իրականացնելու վերադարձից 7-14 օր անց:



Նկար 78. Տիեզերագնացների լիմֆոցիտներում քրոմոսոմային աբեռացիաների գնահատում FISH մեթոդով: Թռիչքից հետո բարդ փոխանակային տիպի աբեռացիաները նկարագրվել են #1 (կարմիր), #2 (կանաչ) և #4 (դեղին) քրոմոսոմներում (George et al., 2001):

Վերջին տարիներին բջջային կուլտուրաներում կատարված աշխատանքները ցույց են տվել, որ քրոմոսոմային աբեռացիաների հաճախականությունն ավելի բարձր է միկրոձգողականության ու ճառագայթման համակցման ժամանակ՝ համեմատած միայն ճառագայթման տվյալների հետ: Ուստի դեպի Մարս 3 տարի տևողությամբ (1 Ձվ ճառագայթում) տիեզերագնացության նախագծում հարկավոր է նկատի ունենալ ճանապարհորդող մարդկանց մոտ քրոմոսոմային վնասվածքների մակարդակի բարձրացման ռիսկը:

Առողջ մարդկանց պոպուլյացիայի արյան լիմֆոցիտներում քրոմոսոմային աբեռացիաների հաճախականությունը գենաթունային գործոնների ազդեցության ու ռիսկի գնահատման կենսա-

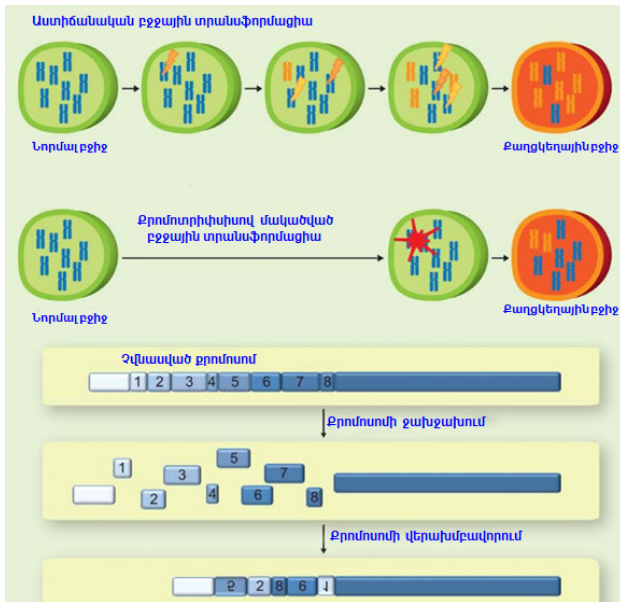
մարկեր է: Այն կիրառվում է նաև մասնագիտական գործունեությանը (ռադիոլոգիայի աշխատակիցներ, հակաքաղցկեղային դեղանյութերի հետ աշխատողներ, ատոմակայանի, հանքարդյունաբերության աշխատակիցներ և այլն)՝ պայմանավորված գենաթունային ռիսկի գնահատմաննպատակով: Յուրյց է տրվել, որ հակաքաղցկեղային դեղանյութերի (նուկլեոզիդներ, անտրացիկլիններ) հետ աշխատող բուժքույրերի մոտ քրոմոսոմային արեռացիաների մակարդակն ավելի բարձր է՝ համեմատած նման դեղանյութերին չառնչվող անձանց հետ: Ուստի այս խմբի աշխատողներին խորհուրդ է տրվում ձեռնարկելու անվտանգության հավելյալ միջոցներ (օրինակ՝ կրկնակի ձեռնոցների կրում, միանգամյա օգտագործման արտահագուստ և այլն): Քրոմոսոմային արեռացիաները՝ որպես կենսամարկեր, կիրառվել են նաև ճառագայթման ցածր դոզաների ազդեցությանը ենթարկված ատոմակայանի աշխատակիցների ռիսկի գնահատման նպատակով: Բացահայտվել է քրոմոսոմային արեռացիաների հաճախականության բարձրացումը, որը կապված էր նաև LINE-1 ռետրոտրանսպոզոնների հիպոմեթիլացման հետ: Հետևաբար դիտվել են ոչ միայն գենաթունային, այլև էպիգենետիկական էֆեկտներ:

Քրոմոսոմային արեռացիաների վերլուծությունը հիմք է հանդիսացել նաև քաղցկեղի բջջագենոմիկայի զարգացման համար, որի շնորհիվ զգալիորեն բարձրացել են բուժման արդյունավետությունն (թիրախային բուժում) ու հիվանդության ելքի կանխատեսման ճշգրտությունը: Այսպես, 2008 թ. ԱՀԿ-ի կողմից դասակարգվել են սուր միելոիդ լեյկոզի յուրատիպ ենթատեսակներ՝ հիմնվելով սպեցիֆիկ բջջագենետիկական խաթարումների, բջջաբանական մորֆոլոգիայի ու կլինիկական առանձնահատկությունների վրա: Օրինակ՝ t(8;21) (q22;q22) [RUNX1/RUNX1T1], inv(16)(p13q22) [CBFB/MYH11] և t(15;17)(q24;q21) [PML/RARA] արեռացիաներով հիվանդների մոտ բուժման նկատմամբ դիտվում է դրական պատասխան ու լրիվ ռեմիսիա, մինչդեռ

t(6;9)(p23;q34) [DEK/NUP214], inv(3)(q21q26) [RPN1/EVI1] ու t(1;22)(p13;q13) [RBM15/MKL1] խաթարումները կապված են քաղցկեղի ագրեսիվ զարգացման ու բացասական ելքի հետ: Ուստի արագ զարգացող քաղցկեղի դեպքում բուժումն անմիջապես սկսվում է հակաքաղցկեղային դեղամիջոցների բարձր չափաբաժիններով:

5.5.1. Քրոմոսոմիփսիս

Քրոմոսոմիփսիսը (հունարեն՝ *thripsis* – ջախջախում) քրոմոսոմի կառուցվածքային խաթարում է, որի ժամանակ տվյալ քրոմոսոմի հազարավոր հատվածներ մասնատվում են և վերախմբավորվում պատահական հերթականությամբ ու դիրքով մեկանգամյա ջախջախիչ իրադարձության արդյունքում (Նկ. 79):



Նկար 79. Աստիճանական ու քրոմոսոմիփսիսով մակաձված բջջային տրանսֆորմացիա (Rode et al., 2016):

Առաջին անգամ բացահայտվել է 2011 թ. քրոնիկ լիմֆոբլաստային լեյկոզով հիվանդի 4-րդ քրոմոսոմում՝ սեքվենավորման միջոցով: 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 քրոմոտրիփսիսի և աստիճանաբար կուտակվող ԴՆԹ վերախմբավորումները տարբերելու վեց չափանիշ:

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 ու պահպանման միմյանց հաջորդող հատվածների պատկեր:

4. Քրոմոտրիփսիսն առաջանում է գլխավորապես ծնողական քրոմոսոմներից միայն մեկում:

5. Քրոմոսոմային հատվածները միանում են պատահական հաջորդականությամբ ու դիրքով:

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

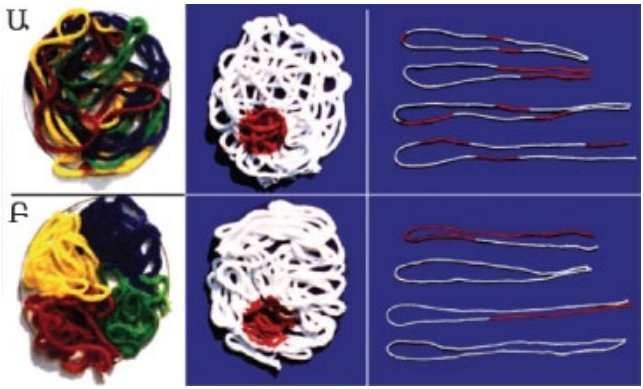
Քրոմոտրիփսիսային ԴՆԹ կտրվածքները սահմանակցում են նաև կետային մուտացիաների կլաստերներին, որոնք կոչվում են կատեգիս (հունարեն՝ kataegis – ամպրոպ): Ենթադրվում է, որ գենոմում այս կլաստերներն առաջանում են կառուցվածքային վերախմբավորում կրող լոկուսներում ցիտոզինի դեամինացման պատճառով: Քրոմոտրիփսիսի արդյունքում 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 քաղցկեղի տարբեր տեսակների գենոմների ուսումնասիրության արդյունքում բացահայտվել է, որ առավել հաճախ քրոմոտրիփսիսն առաջանում է #8, #11, #12 ու #17 քրոմոսոմներում: Քրոմոտրիփսիս կարող է առաջանալ թելոմերների կարճացման արդյունքում կորիզի հետ ՄԿ միաձուլման պատճառով: Ներկայումս ակտիվորեն ուսումնասիրվում են քաղցկեղի բազմաթիվ տեսակներ քրոմոտրիփսիսի մոլեկուլային պատճառների բացահայտման նպատակով ([Լիր և այլք, 2020](#)):

5.5.2. Քրոմոսոմային տարածքներ

«Քրոմոսոմային տարածքներ» տերմինն առաջին անգամ կիրառել է Թ. Բովերին 1909 թ.՝ ուսումնասիրելով ասկարիդի բլաստոմերներում քրոմոսոմների դասավորությունը: Սակայն քրոմոսոմային տարածքների մասին առաջին մոդելն առաջարկվել էր

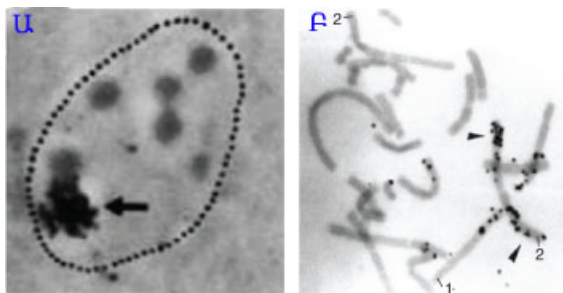
դեռ Կ. Ռաբլի կողմից 1885 թ., որի համաձայն՝ յուրաքանչյուր քրոմոսոմի ԴՆԹ-ն կորիզում զբաղեցնում է որոշակի ծավալ և վերածածկվում է միայն իր անմիջական հարևան քրոմոսոմների հետ («քրոմոսոմային համբույր»): Երկրորդ մոդելը ենթադրում էր, որ տարբեր քրոմոսոմների ԴՆԹ շղթաները կորիզում ունեն պատահական դասավորվածություն, հետևաբար ունեն խառը կծիկի տեսք («սպագետիի» մոդել):

1980-ական թթ. գերմանացի գիտնականներ Թոմաս Կրեմերն ու Քրիստոֆ 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 (Նկ. 80):



Նկար 80. Կորիզում քրոմոսոմների տարածական դասավորվածության մոդելները: (Ս) Խառը կծիկի տեսքով դասավորված քրոմոսոմների նիշավորումն ազդում է տարբեր քրոմոսոմների վրա, (Բ) մինչդեռ սահմանափակ ծավալ զբաղեցնելու դեպքում նիշավորումն ազդում է սակավաթիվ քրոմոսոմային հատվածների վրա (Cremer and Cremer, 2010):

Փորձնական ապացույցներ ստանալու համար մշակվեց լազեր, որը կարող էր ճառագայթել ուլտրամանուշակագույն ճառագայթներով ($\lambda = 257 \text{ nm}$) G1 փուլում գտնվող բջիջների կորիզի փոքր հատված: Ճառագայթման արդյունքում առաջանում էին ԴՆԹ վնասվածքներ, որոնց ռեպարացիայի ժամանակ ռադիոակտիվ նիշ կրող նուկլեոտիդները ներկառուցվում էին ԴՆԹ շղթաներում: Այնուհետև միտոզի փուլում գտնվող քրոմոսոմներն ուսումնասիրում էին ավտոռադիոգրաֆիայի միջոցով (Նկ. 81): Այսպես բացահայտվեց, որ միկրոճառագայթումը վնասում է քրոմոսոմների սակավաթիվ մասը, հետևաբար Թ. Բովերիի ենթադրությունը կորիզում հստակ քրոմոսոմային տարածքների գոյության մասին ճիշտ էր:



Նկար 81. Միկրոճառագայթահարված CHO բջջի կորիզն ու քրոմոսոմները: (Ա) Սլաքով ցույց է տրված կորիզի միկրոճառագայթման հատվածը, (Բ) քրոմոսոմներ 1 ու 2 ճառագայթումից 40 ժամ անց քրոմոսոմների վնասված հատվածները ռեպարացիայի արդյունքում ներկվում են մուգ գույնով (Cremer and Cremer, 2010):

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 ու տարբեր հիվանդությունների (օրինակ՝ 2q37-դելեցիոն համախտանիշ) միջև կապը: Ուս-

տի 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: Հեղինակները կիրառել են բազմազան 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:

Բացահայտվել է, որ քրոմատինի փաթեթավորման մակարդակը, դինամիկան և ԴՆԹ-ի նուկլեոտիդային հաջորդականությունները կարող են կանխորոշել ԴՆԹ երկշղթա կտրվածքների հաճախականությունն ու ռեպարացիայի արդյունավետությունը: Սակայն թե ինչպես է ԴՆԹ-ի վնասվածքների պատասխանն ազդում քրոմոսոմային տարածքների վրա, դեռ պարզ չէ: Օրինակ՝

ցույց է տրվել, որ ԴՆԹ վնասվածքները մակաձուլ են գեներով խիտ քրոմոսոմների լայնամաշտաբ վերադասավորում կորիզում: Ընդ որում՝ այդպիսի պատասխանը չափաբաժնից կախված է և դիտվում է քրոմոսոմների տարածքների փոփոխություն ինչպես կորիզի կենտրոնից դեպի ծայրամասը, այնպես էլ հակառակ ուղղությամբ: Հետաքրքիր է, որ վնասվածքների ռեպարացիայից հետո քրոմոսոմները կրկին զբաղեցնում են չվնասված ԴՆԹ-ով բջիջներին բնորոշ տեղամասերը:

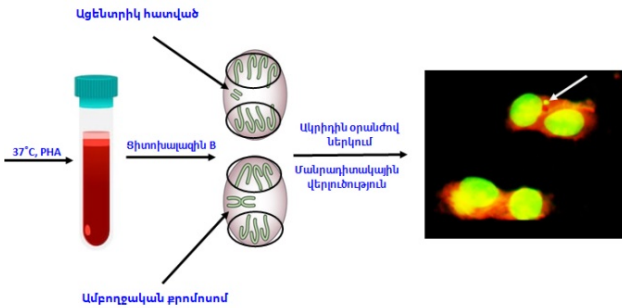
Գրականության ցանկ

1. Cremer T, Cremer M. Chromosome territories. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2010;2(3):a003889. doi:10.1101/cshperspect.a003889.
2. George K, Durante M., Wu H, Willingham V, Badhwar G, Cucinotta FA. Chromosome aberrations in the blood lymphocytes of astronauts after space flight. Radiat Res. 2001;156(6):731-738. doi:10.1667/0033-7587(2001)156[0731:caitbl]2.0.co;2.
3. George K, Rhone J, Beitman A, Cucinotta FA. Cytogenetic damage in the blood lymphocytes of astronauts: effects of repeat long-duration space missions. Mutat Res. 2013;756(1-2):165-169. doi:10.1016/j.mrgentox.2013.04.007.
4. Lagunas-Rangel FA, Chávez-Valencia V, Gómez-Guijosa MÁ, Cortes-Penagos C. Acute Myeloid Leukemia-Genetic Alterations and Their Clinical Prognosis. Int J Hematol Oncol Stem Cell Res. 2017;11(4):328-339.
5. Maass PG, Weise A, Rittscher K, et al. Reorganization of inter-chromosomal interactions in the 2q37-deletion syndrome. EMBO J. 2018;37(15):e96257. doi:10.15252/embj.201696257.
6. Manvelyan M, Hunstig F, Bhatt S, et al. Chromosome distribution in human sperm - a 3D multicolor banding-study. Mol Cytogenet. 2008;1:25. Published 2008 Nov 14. doi:10.1186/1755-8166-1-25.
7. Mehta IS, Kulashreshtha M, Chakraborty S, Kolthur-Seetharam U, Rao BJ. Chromosome territories reposition during DNA damage-repair response. Genome Biol. 2013;14(12):R135. Published 2013 Dec 13. doi:10.1186/gb-2013-14-12-r135.

8. Ramsey MJ, Moore DH 2nd, Briner JF, et al. The effects of age and lifestyle factors on the accumulation of cytogenetic damage as measured by chromosome painting. *Mutat Res.* 1995;338(1-6):95-106. doi:10.1016/0921-8734(95)00015-x.
9. Rode A, Maass KK, Willmund KV, Lichter P, Ernst A. Chromothripsis in cancer cells: An update. *Int J Cancer.* 2016;138(10):2322-2333.
10. Solovei I, Joffe B. Inverted nuclear architecture and its development during differentiation of mouse rod photoreceptor cells: a new model to study nuclear architecture. *Genetika.* 2010;46(9):1159-1163.

5.6. Միկրոկորիզներ

Միկրոկորիզներն (նաև՝ Հաուել-Ջոլիի մարմնիկներ, ՄԿ) արտակորիզային կառուցվածքներ են, որոնք պարունակում են բջջի բաժանման ժամանակ կորիզից դուրս մնացած ագենտրիկ քրոմոսոմային հատվածներ և/կամ բաժանման իլիկի տուբուլինային միկրոխողովակներին չամրացած ամբողջական քրոմոսոմներ (Նկ. 82):



Նկար 82. ՄԿ թեստ *in vitro*: Ճառագայթահարված արյան լիմֆոցիտների կիսումները խթանվում են ֆիտոհեմագլյուտինինով (PHA), իսկ ցիտոկինեզն արգելակվում է ցիտոսպագին B-ով: ՄԿ պարունակող բինուկլեար բջիջները (ցույց է տրված սպիտակ սլաքով) նույնականացվում են մանրադիտակի միջոցով:

ՄԿ-ներ առաջին անգամ հայտնաբերվել են էրիթրոցիտների պրեկուրսոր բջիջներում (ռետիկուլոցիտներ), որոնց բնույթն անհայտ էր, իսկ դրանց առկայությունը տարբեր օրգաններում պայմանավորում էին ախտաբանական երևույթներով, այդ թվում՝ արյան մեջ ֆոլիաթթվի ու B վիտամինի ցածր կոնցենտրացիաներով:

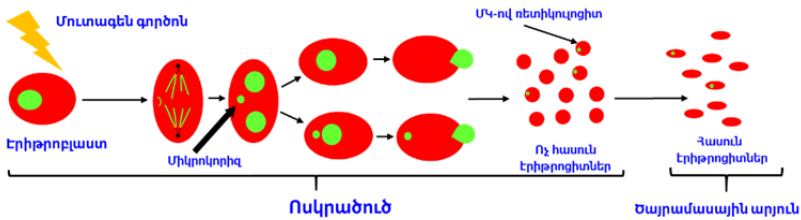
1985 թ. Ֆենեքն ու Սորլին ցույց տվեցին, որ մարդու արյան լիմֆոցիտների *in vitro* ճառագայթահարմամբ մակաձված ՄԿ առաջանում են քրոմոսոմային վնասվածքների արդյունքում, իսկ դրանց հաճախականությունը գծային կախվածության մեջ է ճառագայթման դոզաներից: Հետագայում մշակվեց *in vitro* ցիտոկինների արգելակմամբ միկրոկորիզային թեստը (անգլերեն՝ cytokinesis-block micronucleus assay, CBMN): *In vivo* գենաթունաբանական թեստավորման նպատակով կիրառվում է կրծողների ոսկրածուծի կամ ծայրամասային արյան (միայն այն տեսակների մոտ, որոնց փայծաղը չի հեռացնում միկրոկորիզավոր էրիթրոցիտները) պոլիքրոմատային էրիթրոցիտների ՄԿ թեստը (Նկ. 83): *In vivo* ու *in vitro* ՄԿ թեստերը մուտագենության գնահատման ստանդարտ թեստ-մարտկոցի վալիդացված մեթոդներ են:



Նկար 83. ՄԿ թեստ *in vivo*: Կրծողների թեստավորվող միացությամբ մշակելուց հետո հեռացվում են ազդրոսկրերը, իսկ ոսկրածուծն անջատվում է ներարկիչի միջոցով: Միկրոկորիզներով պոլիքրոմատային էրիթրոցիտները (ցույց է տրված ապիտակ պաքով) նույնականացվում են մանրադիտակի միջոցով:

Ոսկրածուծում էրիթրոբլաստից պոլիքրոմատային էրիթրոցիտների (ռետիկուլոցիտներ) զարգացման ընթացքում հիմնական կորիզը դուրս է մղվում բջջից, ինչի արդյունքում մինչ այս

փուլն առաջացած ՄԿ-ները մնում են ցիտոպլազմայում: Արդյունքում ձևավորվում են բջջային ցիկլն ավարտած ՄԿ-ով ռետիկուլոցիտներ, որոնք կարելի է նույնականացնել լուսային կամ ֆլյուորեսցենտային մանրադիտակների միջոցով: Թեստավորվող միացությամբ մշակված կրծողների մոտ ՄԿ-ով ռետիկուլոցիտների մակարդակի բարձրացումը գենաթունայնության ցուցանիշ է (Նկ. 84):



Նկար 84. Ուսկրածուծում կլաստոգենով մակաձված միկրոկորիզի առաջացման ուղին *in vivo*:

Այսպիսով՝ ՄԿ վնասված կորիզաթաղանթով պատված քրոմատինային նյութ է, որի առաջացման բնույթը խիստ բազմազան է: ՄԿ-ներ կարող են առաջանալ ներքոհիշյալ ուղիներով:

- **Ացենտրիկ քրոմոսոմային հատվածներ**

Ացենտրիկ քրոմոսոմային հատվածներն առաջանում են չռեպարացված կամ սխալ ռեպարացված ԴՆԹ միաշղթա ու երկշղթա վնասվածքներից: ԴՆԹ շղթայում կարաններն ու ադուկտները կարող են հանգեցնել քրոմատիդային տիպի աբեռացիաների, որոնք հաճախ ուղեկցվում են պոլիցենտրիկ քրոմոսոմների (մեկից ավել ցենտրոմերով) ու ացենտրիկ հատվածների (դելեցիաներ) առաջացմամբ:

- **Քրոմոսոմների տարամիտման սխալներ**

Միտոզի ընթացքում կարող են լինել ամբողջական քրոմոսոմների չտարամիտում կամ քանակական աբեռացիաներ ցենտ-

րումերի (կամ կինետոխորի, կամ բաժանման իլիկի) ֆունկցիայի խաթարման պատճառով: Օրինակ՝ 48 տարեկանից բարձր կանանց կուլտիվացված արյան լիմֆոցիտներում X քրոմոսոմ պարունակող ՄԿ մակարդակը զգալիորեն բարձրանում է տարիքին զուգընթաց:

- ***Պիցենտրիկ քրոմոսոմների վնասվածքներ***

Պոլիցենտրիկ քրոմոսոմները կարիոկինեզի ընթացքում կարող են մասնատվել մի քանի հատվածքների, ինչի պատճառով առաջանում են ՄԿ և/կամ կտրված քրոմատիդային ծայրեր: Վերջիններս ենթակա են տարբեր վերախմբավորումների և կարող են սկիզբ տալ կտրման-միաձուլման-կամրջակման ցիկլերի, որոնց արդյունքում առաջանում են ՄԿ-ներ: Սա քաղցկեղային բջիջների քրոմոսոմային անկայունության մեխանիզմներից մեկն է:

- ***Քրոմոսոմային անկայունություն***

Քրոմոսոմային անկայունությունը բջջի այն վիճակն է, որի ժամանակ գենոմային փոփոխությունների հաճախականությունը զգալիորեն բարձրանում է: Քրոմոսոմային անկայունությունն առավել հաճախ դիտվում է նախաքաղցկեղային ու քաղցկեղային բջիջներում, որտեղ, որպես կանոն, բարձր է ՄԿ մակարդակը: ՄԿ մակարդակը բարձրանում է նաև քրոմոսոմային անկայունության համախտանիշների (ատաքսիա տելանգիէկտազիա, Բլումի, Նայմեգենի համախտանիշներ, Ֆանկոնիի անեմիա և այլն) ժամանակ, որոնք առաջանում են ԴՆԹ ռեպարացիայի համակարգերի խաթարման հետևանքով (բացառությամբ Ռոբերթսի համախտանիշի ու բնածին դիսկերատոզի): Այս հիվանդությունները մանրամասն ներկայացված են «Մարդու գենետիկայի հիմունքները» (Լիր և ուրիշներ, 2020) գրքում: Ներկայումս հաստատվել է, որ ՄԿ-ները քրոմոսոմային անկայունության կարևոր մարկերներ են: Հարկ է նշել, որ քրոմոսոմային անկայունությունը հաճախ ուղեկցվում է նաև անէուպլոիդիայով:

• **Արտաքրոմոսոմային ամպլիֆիկացված ԴՆԹ**

Կորիզում արտաքրոմոսոմային ամպլիֆիկացված ԴՆԹ-ն (անգլերեն՝ double minutes, DM) առաջացնում է ազնուորիկ ու թելոմերներից զուրկ օղակաձև կառույցներ: Դիտվում են տարբեր ուսուցքների՝ կրծքագեղձի, թոքերի, ձվարանների քաղցկեղի ու նեյրոբլաստոմաների բջիջներում: DM կրում են տարբեր (օնկո)-գեների ամպլիֆիկացիաներ և հաճախ պայմանավորում են քաղցկեղային բջիջների կայունությունը թերապիայի նկատմամբ: Կորիզում DM-ները առաջացնում են ազրեզացիաներ, իսկ ցենտրոմերի բացակայության պատճառով բջջի բաժանման ժամանակ հաճախ մտնում են ՄԿ-ի մեջ: DM-ները կապված են նաև քրոմոսոմիֆուսիսի հետ, որի ժամանակ մեկ կամ մի քանի քրոմոսոմներ ջախջախվում են, իսկ առաջացած հարյուրավոր հատվածները վերախմբավորվում են պատահական հերթականությամբ ու դիրքով (Նկ. 79):

Չնայած նրան, որ ՄԿ բոլոր թեստերը հիմնված են միկրոկորիզների հաճախականության վերլուծության վրա, դրանք տարբերվում են օգտագործվող բջիջների տեսակով ու փորձի ընթացակարգով (Աղ. 7):

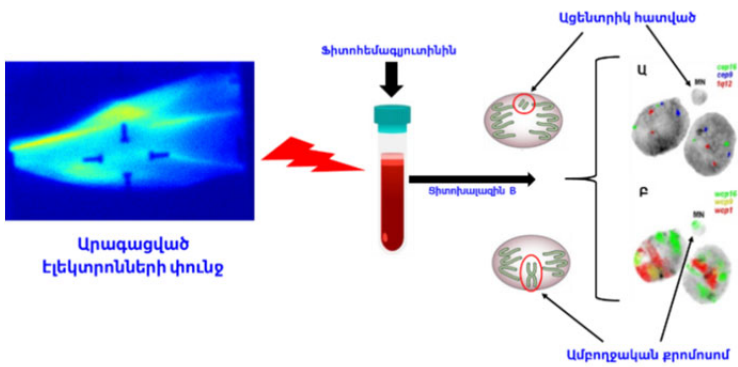
Աղյուսակ 7. ՄԿ թեստերի տեսակներն ու դրանց կիրառումը

Թեստի տեսակը	Բջիջներ	Նպատակ	Նկարագրություն
CBMN	Արյան լիմֆոցիտներ կամ բջջային գծեր:	<ul style="list-style-type: none"> Մշտադիտարկում: Կենսաբանական դոզիմետրիա: Գենաթունաբանություն: 	ՄԿ հաշվում են ցիտոխալագին B-ի միջոցով ստացված բինուկլետաներում:
Էրիթրոցիտային ՄԿ թեստ	Ոչ հասուն կամ կորիզավոր էրիթրոցիտներ:	<ul style="list-style-type: none"> Քիմիական նյութերի, դեղանյութերի կամ ռիսկային գործոնների <i>in vivo</i> գենաթունաբանություն: 	Իրականացվում է էրիտասարդ կրծողների կիրառմամբ, սակայն կիրառվում է նաև մարդկանց

Թեստի տեսակը	Բջիջներ	Նպատակ	Նկարագրություն
		<ul style="list-style-type: none"> • Կենսամշտադիտարկում: 	<p>պոպուլյացիայում մշտադիտարկման համար: Երակային արյան օգտագործման ժամանակ պետք է նկատի ունենալ փայծաղի կողմից ՄԿ պարունակող բջիջների սելեկցիայի գործոնը:</p>
Բերանի խոռոչի ՄԿ թեստ	Մարդու էպիթելային բուկալ բջիջներ:	<ul style="list-style-type: none"> • Սննդակարգի, կենսակերպի՝ ծխախոտի և ալկոհոլի օգտագործման ազդեցություն: • Գենաթունային ազդեցություն: • Բջջաթունային ազդեցություն: • Արագացված ծերացման ռիսկի, որոշ քաղցկեղի և նեյրոդեգեներատիվ հիվանդությունների ժամանակ: 	Քիչ ինվազիվ <i>in vivo</i> թեստ: Կիրառվում է մարդու մշտադիտարկման համար:
ՄԿ թեստ այլ բջիջներում	Քթի լորձաթաղանթի բջիջներ, մեզից անջատված բջիջներ:	<ul style="list-style-type: none"> • Մշտադիտարկում: • Գենաթունայնության գնահատում: • Քաղցկեղի որոշ տեսակի պրոգնոզ: 	Հազվադեպ են կիրառվում:

ՄԿ թեստը կիրառվում է նաև անէուզեն ազդեցությունների բացահայտման նպատակով, որի ժամանակ ՄԿ թեստը զուգակցվում է քրոմոսոմների ցենտրոմերային հատվածների ներկման մեթոդների հետ: Առաջին անգամ այս մոտեցումը մշակվել է,

երբ CREST աուտոիմունային համախտանիշով (անգլերեն՝ calcinosis, Raynaud phenomenon, esophageal dysmotility, sclerodactyly, and telangiectasia) մարդկանց մոտ բացահայտվեց, որ հիվանդության պատճառը ցենտրոմերային/կլինետոխորային սպիտակուցների դեմ հակամարմիններն են: Հետագայում մշակվեց FISH-MN թեստը, որի ժամանակ կիրառվում են ցենտրոմերային (նկար 85Ա) ու ամբողջական քրոմոսոմային (Նկ. 85Բ) ԴՆԹ զոնդեր: FISH-MN թեստը թույլ է տալիս նույնականացնել ՄԿ-ում գտնվող քրոմոսոմային հատվածներն ու բացահայտել ուսումնասիրվող մուտագենի նկատմամբ առավել զգայուն քրոմոսոմային լոկուսները՝ մուտագենների բջջագենետիկական թիրախները: Ներկայումս լայն տարածում է գտել CBMN ցիտոմ թեստը, որը թույլ է տալիս գնահատել նաև բջջաթունային էֆեկտները (ապոպտոզ, նեկրոզ):



Նկար 85. Միկրոկորիզների ուսումնասիրում FISH-MN թեստով: (Ա) Բինուկլեար բջիջներում կիրառվել են #1, #9 և #16 քրոմոսոմների ցենտրոմերային և (Բ) ամբողջական քրոմոսոմային զոնդեր: ՄԿ-ն պարունակում է #16 քրոմոսոմը (կանաչ նիշ), որը դուրս է մնացել կորիզի կազմից:

ՄԿ-ն կարող է ունենալ տարբեր «ճակատագիր», ներառյալ միաձուլումը կորիզի ու քրոմոսոմային հավաքի հետ, ինչը կարող է հանգեցնել քրոմոսոմային անկայունության և քրոմոտրիֆսիսի մակաձման: ՄԿ-ն կարող է նաև դուրս մղվել բջջից, դեգրադացվել կամ զոյատևել բջջում մի քանի բջջային բաժանումներ շարունակ:

5.6.1. ՄԿ կիրառումը մարդկանց պոպուլյացիաներում զենաթունաբանական մշտադիտարկման համար

Մարդկանց պոպուլյացիայում զենաթունաբանական մշտադիտարկման կամ ռիսկի գնահատման համար, որպես կանոն, կիրառում են ծայրամասային արյան ՄԿ (երբեմն՝ բերանի խոռոչի էքսֆոլիատային բջիջների) թեստը: Առավել հաճախ ուսումնասիրվող խմբերն են հիվանդանոցների աշխատակիցները (ցիտոստատիկ դեղերի, անեսթետիկ գազերի, ֆորմալդեհիդի ու ճառագայթման ազդեցության գնահատում), այնուհետև՝ քիմիական արտադրության (ստիրենի, վինիլ քլորիդի մոնոմերների, բութադիենի, էթիլեն օքսիդի ու նանոմասնիկների ազդեցության գնահատում) և գյուղատնտեսության ոլորտների աշխատակիցները (պեստիցիդների ու հերբիցիդների ազդեցության գնահատում): Հանքարդյունաբերության աշխատակիցների մոտ գլխավորապես ուսումնասիրվել են ծանր մետաղների, ռադոնի ու ածխի փոշու ազդեցությունները: Պոպուլյացիոն հետազոտություններում գնահատում են նաև օդի աղտոտվածության (PM-10 և PM-2.5 մասնիկներով փոշին), տարիքի, սննդակարգի, կենսակերպի ու բացասական սովորությունների (ալկոհոլի և ծխախոտի օգտագործում) հետ կապված ՄԿ մակարդակները:

Այսպես, ցույց է տրվել, որ հակաքաղցկեղային դեղանյութերի հետ աշխատող բուժքույրերի մոտ ՄԿ մակարդակի բարձրացումը կոռելացվում է մեզում ցիկլոֆոսֆամիդի (IARC 1) բարձր կոնցենտրացիայի հետ:

ՄԿ թեստը կիրառվել է նաև ստիրենի (կամ ստիրոլի) ազդեցությանը ենթարկված անձանց մոտ զենաթունային ռիսկի գնահատման նպատակով: Ստիրենը (բենզենի ածանցյալ, IARC 2A) մեծ քանակությամբ արտադրության օրգանական քիմիական հումք է սինթետիկ կաուչուկի, պլաստմասի, մեկուսացման և ապակեպլաստե ժապավենների, ավտոմոբիլային բաղադրիչնե-

րի, սննդի տարաների, լոգարանների ու լատեքսային ներկերի արտադրության համար: Մարդիկ ենթարկվում են ստիրենի ազդեցությանը դրա սինթեզման կամ կիրառման արտադրամասերում, ինչպես նաև ծխախոտի ծխի, մեքենաների արտանետումների ու ստիրենային ադիեզիվներ պարունակող կարպետների միջոցով: Ընդ որում՝ առավել ծանր ազդեցության են ենթարկվում ամրացված պլաստմասի, համեմատաբար ավելի թույլ ազդեցության՝ ստիրեն-բութադիեն կաուչուկի արտադրամասերի աշխատակիցները: Մարդու օրգանիզմում ստիրենն օքսիդացվում է ցիտոքրոմ P450 ֆերմենտների կողմից, և ձևավորվում է ստիրեն-7,8-օքսիդը (IARC 2A), որը կապվում է նուկլեինաթթուների հետ՝ առաջացնելով գուանին N7, N2 ու O6 ադուկտներ: Նման ադուկտներ հայտնաբերվել են ստիրեն-7,8-օքսիդի ազդեցությանը ենթարկված լաբորատոր կենդանիների արյան, մեզի, լյարդի, թոքերի և այլ հյուսվածքներում: Սակայն մարդկանց պոպուլյացիայում ստացվել են ՄԿ թեստավորման ոչ միանշանակ տվյալներ: Ուստի պոպուլյացիոն տվյալների մետավերլուծության հիման վրա եզրակացվել է, որ դեռևս չկան բավարար փաստեր, որոնք միանշանակորեն կապում են ՄԿ մակարդակի բարձրացումը ստիրենի ազդեցության հետ:

Պեստիցիդների ազդեցությանը ենթարկված մարդկանց մոտ ՄԿ թեստի արդյունքների մետավերլուծությամբ բացահայտվել է, որ ՄԿ մակարդակը զգալիորեն բարձր է ջերմոցներում աշխատողների մոտ, մինչդեռ բացօդյա տարածքներում աշխատողների մոտ, որոնք կրել են համապատասխան պաշտպանիչ միջոցներ և օգտագործել մեկ տեսակի պեստիցիդ, ՄԿ մակարդակները համեմատաբար ցածր էին:

ՄԿ մակարդակի զգալի բարձրացում դիտվում է նաև ծխախոտ օգտագործողների մոտ, ինչպես նաև տարբեր հիվանդությունների, այդ թվում՝ քաղցկեղի, աուտոիմունային ու մետաբոլիկ հիվանդությունների, հեմոգլոբինոպաթիաների և այլ ախտա-

բանությունների ժամանակ: Ընդհանուր առմամբ, ՄԿ թեստի կիրառման ուղղությունները հետևյալն են՝

- քրոմոսոմային վնասվածքների մակարդակի գնահատում գենոմային անկայունությամբ հիվանդությունների ժամանակ, ինչպիսիք են Ֆանկոնիի անեմիան, ատաքսիա տելանգիեկտազիան ու աուտոիմունային մի շարք հիվանդություններ,
- քաղցկեղի և քրոնիկ հիվանդությունների զարգացման ռիսկի գնահատում,
- հակաքաղցկեղային թերապիայի կողմնակի ազդեցությունների կանխատեսում (նորմալ հյուսվածքներում) հիվանդների մոտ (ներառյալ հետթերապևտիկ ժամանակահատվածը),
- էքզոգեն կամ էնդոգեն գենաթույների (նաև մասնագիտական գործունեությունն ու կենսակերպը, տեխնածին աղետները) նկատմամբ անհատական զգայնության գնահատում,
- քսենոբիոտիկների *in vitro* և *in vivo* թեստավորում:

ՄԿ ախտորոշիչ նշանակության վերաբերյալ ամփոփիչ տվյալներ մանրամասն ներկայացված են [Hovhannisyán et al. \(2018\)](#) ակնարկային հոդվածում:

Գրականության ցանկ

1. Hovhannisyán G, Harutyunyan T, Aroutiounian R. Micronuclei and what they can tell us in cytogenetic diagnostics. *Curr Genet Med Rep.* 2018; 6:1-11.
2. Moore MM, Pottenger LH, House-Knight T. Critical review of styrene genotoxicity focused on the mutagenicity/clastogenicity literature and using current organization of economic cooperation and development guidance. *Environ Mol Mutagen.* 2019;60(7):624-663.
3. Nersesyan A, Fenech M, Bolognesi C, et al. Use of the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus assay in occupational biomonitoring of genome damage caused by *in vivo* exposure to chemical genotoxins: Past, present and future. *Mutat Res.* 2016;770(Pt A):1-11.

4. Oobatake Y, Shimizu N. Double-strand breakage in the extrachromosomal double minutes triggers their aggregation in the nucleus, micronucleation, and morphological transformation. *Genes Chromosomes Cancer*. 2020;59(3):133-143.
5. Russo A, Degrassi F. Molecular cytogenetics of the micronucleus: Still surprising. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2018;836(Pt A):36-40.
6. Sommer S, Buraczewska I, Kruszewski M. Micronucleus Assay: The State of Art, and Future Directions. *Int J Mol Sci*. 2020;21(4):1534.

5.7. Մինիսատելիտային ԴՆԹ-ի մուտացիաներ

Մինիսատելիտները չկոդավորող ԴՆԹ տանդեմային կրկնվող, GC հարուստ հաջորդականություններ են (10-100 նգ), որոնց կրկնությունների թիվը յուրաքանչյուր լոկուսում կարող է հանդիպել մինչև մի քանի հազար անգամ (առավել հաճախ՝ 5-50 անգամ): Մարդու գենոմում մինիսատելիտները հանդիպում են ավելի քան 1000 տարբեր լոկուսներում, որոնք կոչվում են փոփոխական թվով տանդեմային կրկնություններ (անգլերեն՝ variable number of tandem repeat, VNTR): Մինիսատելիտները հաճախ առաջացնում են կլաստերներ սուրթելումերային (90 %) ու ցենոբոմերային լոկուսներում:

Որոշ մինիսատելիտներում հանդիպում է, այսպես կոչված, միջուկային կամ կենտրոնական հաջորդականությունը (GCN(A/T)GGN(A/T)GG), որը նման է *E.coli*-ի ու λ ֆագի Chi (անգլերեն՝ crossover hotspot instigator, ընթերցվում է՝ «խի») հաջորդականությանը: Բակտերիաների բջջում այս հաջորդականությունը ծառայում է որպես RecBCD ռեկոմբինացիայի սպիտակուցային կոմպլեքսի (հելիկազ-էքզոնուկլեազ) ճանաչման տիրույթ (սայթ*):

Յուրաքանչյուր անձ ունի մինիսատելիտային կրկնությունների երկարության սպեցիֆիկ պրոֆիլ, ինչի պատճառով հաճախ այն կոչվում է «ԴՆԹ մատնահետք»: Դա նշանակում է, որ տարբեր անձանց մոտ կարող է հանդիպել միննույն մինիսատելիտային կրկնությունը, սակայն այդ կրկնությունների թիվը (հետևաբար նաև մինիսատելիտային լոկուսի երկարությունը) համապատասխան լոկուսներում սպեցիֆիկ է յուրաքանչյուր մարդու համար: Հիմնվելով գենոմի այս առանձնահատկության վրա՝ Ալեք Ջեֆրիսը 1985 թ. մշակեց մարդկանց անհատական նույնականացման ԴՆԹ մատնահետքերի մեթոդը, որը 1986 թ. առաջին անգամ կիրառվեց դատական փորձաքննության ժամանակ Էնդերբի քաղաքում (Անգլիա) տեղի ունեցած երկու դեռահասների սպանության բացահայտման նպատակով: Փորձաքննության արդյունքում բացահայտվեց իրական հանցագործը, իսկ սխալ մեղադրված ու ձերբակալված անձն արդարացվեց: Ներկայումս դատական փորձաքննության համար կիրառվում է կարճ տանդեմային կրկնությունների (անգլերեն՝ short tandem repeats, STRs) կամ միկրոսատելիտների (2-6 նգ) վերլուծությունը:

Մինիսատելիտային մուտացիաների վերլուծությունը կիրառվում է իոնացնող ճառագայթմանը ենթարկված անձանց սերնդի մոտ գենետիկական ազդեցությունների բացահայտման համար: Այս մոտեցման արդյունավետությունը ցույց է տրվել Չերնոբիլի ատոմակայանի վթարի պատճառով Բելառուսի ու Ուկրաինայի տարածքներում ճառագայթային ախտահարմանը ենթարկված անձանց մոտ: Բացահայտվել է, որ ճառագայթմանը ենթարկված հայրերից (բայց ոչ մայրերից) ծնված երեխաների մոտ մինիսատելիտներում մուտացիաների հաճախականությունը վիճակագրորեն բարձր է, որը կոռելացվում է շրջակա միջավայրի ռադիոնուկլիդներով աղտոտման մակարդակի հետ: Նման արդյունքներ ստացվել են նաև միջուկային զենքի փորձարկման տեղամաս Սեմիպալատինսկի (Ղազախստան) շրջակա տա-

րածքներում բնակվող տղամարդկանց ու նրանց երեխաների հետազոտության ժամանակ: Մակայն 2014 թ. Սելաֆիլդի (Անգլիա) ատոմակայանի աշխատակիցների մոտ կատարված հետազոտությունները հակասում են այս տվյալներին, ըստ որոնց՝ նման մուտացիաներ չեն հայտնաբերվել: Հարկ է հիշել նաև, որ Հիբոշիմայի ու Նագասակիի ռմբակոծությունից հետո կենդանի մնացածների սերունդներում (~8000 մարդ) կատարված հետազոտության արդյունքներում նույնպես չեն հայտնաբերվել գենետիկական խաթարումներ: Ուստի մարդու մոտ մինիսատելիտային մուտացիաների նշանակությունը շրջակա միջավայրի մուտագենների ազդեցության գնահատման համար վիճելի մոտեցում է: Ներկայումս հայտնի չէ՝ արդյոք ծնողների ճառագայթումն ունակ է մակաձեռնու ժառանգական հիվանդություններ սերունդների մոտ:

Վերջին տարիներին բազմաթիվ հետազոտություններ ցույց են տվել իոնացնող ճառագայթամար մակաձված ԴՆԹ կրկնությունների թվի փոփոխություններ, սակայն դրանց փոխանցումը հաջորդ սերունդներին դեռևս չի ուսումնասիրվել մարդու մոտ:

***Հետաքրքիր է:** Ենթադրվում է, որ Chi հաջորդականությունն ունի առանցքային նշանակություն E.coli-ի CRISPR-Cas իմունային համակարգի ձևավորման համար և Cas1-Cas2 ինտեգրազային կոմպլեքսի կողմից պրոտոսփեյտերների ճանաչման հատված է: Ինչպե՞ս են նման հաջորդականությունները հայտնվել էուկարիոտների ու մարդու գենոմում:

Գրականության ցանկ

1. Singh L. Biological significance of minisatellites. Electrophoresis. 1995;16(9):1586-1595. doi:10.1002/elps.11501601262.
2. Vergnaud G, Denoeud F. Minisatellites: mutability and genome architecture. Genome Res. 2000;10(7):899-907. doi:10.1101/gr.10.7.899.

5.8. Թելոմերների վնասվածքներ

1930-ական թթ. Հերման Մալլերը բացահայտեց, որ *Drosophila melanogaster* պտղաճանձի քրոմոսոմների ծայրային հատվածները կայուն են ռենտգենյան ճառագայթման նկատմամբ և հազվադեպ են վնասվում: Մալլերը քրոմոսոմների ծայրային հատվածները կոչեց թելոմերներ (հունարեն՝ τέλος – ծայրային, μέρος – հատված): Նա ենթադրեց, որ քրոմոսոմների տերմինալ հատվածներում գոյություն ունեն կառույցներ (Մալլերի կարծիքով՝ տերմինալ գեն), որոնք պահպանում են քրոմոսոմների ծայրերը վնասվելուց, և քրոմոսոմները չեն կարող անվերջ գոյություն ունենալ առանց այդ հատվածների: Միննույն ժամանակ Բարբարա ՄաքՔլինթոնը եգիպտացորենի բջիջներում բացահայտեց, որ միտոզի ընթացքում դիցենտրիկ քրոմոսոմների ցենտրոմերների տարամիտման ժամանակ առաջանում են ծայրային կտրվածքներ, որոնք անկայուն էին և միաձուլվում էին այլ քրոմոսոմների հետ: Մինչդեռ էմբրիոնալ բջիջներում դիցենտրիկ քրոմոսոմների վնասված ծայրերը վերականգնվում էին: ՄաքՔլինթոնը բացահայտեց, որ թելոմերային վնասվածքներն ազդում են բջիջների կենսունակության վրա, և այդ վնասված ծայրերը միաձուլվում են ԴՆԹ ռեպարացիայի համակարգի միջոցով: Ուստի եզրակացրեց, որ թելոմերները կանխում են քրոմոսոմային միաձուլումների առաջացումը: 1961 թ. ապացուցվեց, որ բջիջներն ունեն սահմանափակ թվով բաժանումների հնարավորություն, և դա կոչվեց «Հեյֆլիկի սահման» կամ սենեսենս (բջջային ծերացում), իսկ 1971 թ. ռուս կենսաբան Ալեքսեյ Օլովնիկովն առաջարկեց սենեսենսի թելոմերային տեսությունը: Համաձայն այս տեսության՝ թելոմերների երկարությունը կարճանում է բջջային յուրաքանչյուր բաժանման արդյունքում թելոմերների թերի ռեպլիկացիայի պատճառով: Հետևաբար Հեյֆլիկի սահմանը պայմանավորված է թելոմերների երկարությամբ, որի ստորին սահմանը մակաձուլ է սե-

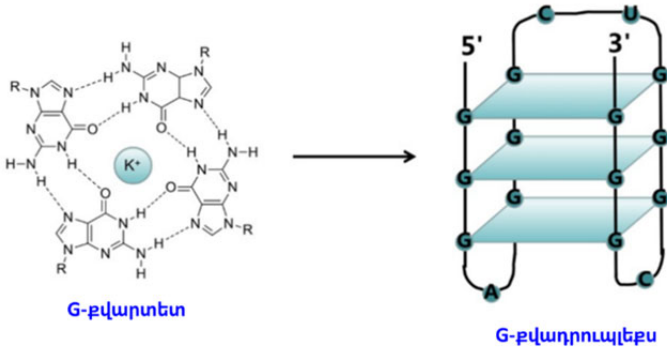
նեսենս: Նա ենթադրում էր, որ պետք է լինի համապատասխան ֆերմենտ (թելոմերազ), որն ունակ է վերականգնելու թելոմերների երկարությունը: Այս ենթադրությունները փորձնականորեն հաստատվեցին Էլիզաբեթ Բլեքբերնի, Քերոլ Գրեյդերի ու Ջեք Շոսթաքի կողմից: Ուսումնասիրությունը բացահայտեց թելոմերների կառուցվածքն ու դրանց երկարությունը վերականգնող թելոմերազ ֆերմենտը, ինչի համար 2009 թ. արժանացան Նոբելյան մրցանակի:

Առաջին անգամ թելոմերները մանրամասն նկարագրվել են *Tetrahymena thermophile* նախակենդանու արտաքրոմոսոմային ռիբոսոմային ԴՆԹ-ում, որտեղ բացահայտվել են 20-70 TTGGGG տանդեմային կրկնություններ: Խմորասնկերի թելոմերները բաղկացած են GGTTACA կրկնություններից, որոնց երկարությունը կազմում է 300 նգ, իսկ բույսերի TTTAGGG թելոմերային կրկնությունները, որպես կանոն ունեն 2-100 կնգ երկարություն: Ողնաշարավորների մոտ առավել երկար թելոմերները հանդիպում են առնետների ու որոշ մկների մոտ (մինչև 150 կնգ):

Կաթնասունների թելոմերային հատվածները բաղկացած են հազարավոր (TTAGGG)ո չկոդավորող կրկնություններից (առկա են նաև սուբթելոմերային հատվածներում), որոնք մարդու թելոմերների երկշղթա (պրոքսիմալ) հատվածում կարող են հասնել 9-15 կնգ երկարության: Էուկարիոտների տարբեր տեսակներ կարող են տարբերվել կրկնությունների երկարությամբ ու նուկլեոտիդային հաջորդականությամբ: Սակայն G-հարուստ կրկնությունները պահպանվել են էվոլյուցիայի ընթացքում (խմորասնկերից մինչև մարդ): Մարդու թելոմերների ծայրային (դիստալ) 3՝ հատվածը G-հարուստ, 50-500 նուկլեոտիդ երկարությամբ միաշղթա ԴՆԹ է, որը պտտվում է հետ՝ դեպի քրոմոսոմը, և առաջացնում T հանգույցը (անգլերեն՝ telomere loop): Այսպիսով՝ թելոմերներում տարբերում են G շղթա ու երկշղթա հատվածում դրան կոմպլեմենտար C շղթան: T հանգույցում G շղթան կոմպլե-

մենտար կերպով փոխազդում է C շղթայի հետ (AATCCC)՝ առաջացնելով D հանգույցը (անգլերեն՝ displacement loop): T ու D հանգույցները պաշտպանում են քրոմոսոմների ծայրային հատվածների կայունությունը:

G-հարուստ միաշղթա հատվածում կարող են առաջանալ նաև երկրորդային կառուցվածքներ՝ G-քվադրուպլեքսների շերտեր (G4), որոնցում յուրաքանչյուր գուանինային քառյակի շերտում գուանինները ջրածնային կապերով (Հյուգստենի տիպի զույգավորում) առաջացնում են ցիկլիկ կառույցներ (Նկ. 86): G4 հատվածներ նկարագրվել են նաև ռիբոսոմային ԴՆԹ-ում, G-C հարուստ միկրոսատելիտային ու մինիսատելիտային ԴՆԹ-ում, քրոմոսոմների ֆրագիլ հատվածներում և այլ լոկուսներում: Ենթադրվում է, որ գեների պրոմոտորներում G4 հատվածները մասնակցում են գեների էքսպրեսիայի կարգավորմանը (որպես պոլիմերազների ֆիզիկական արգելակիչներ): In silico մոդելավորմամբ բացահայտվել է, որ գեների 42.7 %-ը պարունակում է գոնե մեկ G4 հատված՝ տրանսկրիպցիայի սկզբնակետից վերև ու ներքև, համապատասխանաբար 1 ու 0.5 կնգ սահմաններում: Ցույց է տրվել նաև, որ G4 հատվածները կարող են ծառայել որպես տրանսկրիպցիայի գործոնների ճանաչման հատվածներ: Օրինակ՝ SP1 տրանսկրիպցիայի գործոնը դրսևորում է բարձր աֆինություն G4 հատվածների նկատմամբ, որոնք առկա են c-KIT օնկոգենում: Մեկ այլ G4 փոխազդող տրանսկրիպցիայի գործոն MAZ կապվում է KRAS պրոտոօնկոգենի պրոմոտորին: Ցույց է տրվել, որ G4 կոնֆորմացիան խաթարող կետային մուտացիաները զգալիորեն նվազեցնում են KRAS-ի էքսպրեսիան:



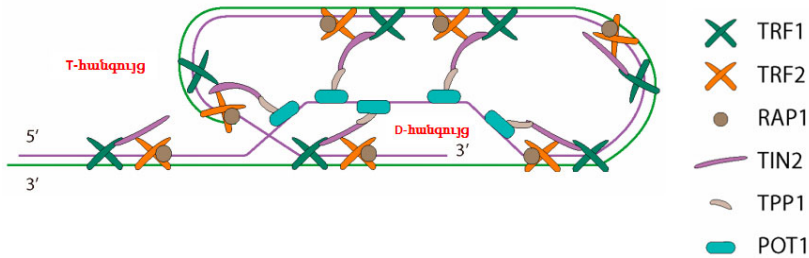
Նկար 86. G-քվարդրուպլեքսի կառուցվածքը: Չորս գուանիններ ձևավորում են G-քվարտետ Հյուսգասենի տիպի ջրածնային կապերով: Երկու կամ երեք G-քվարտետների շերտեր դասավորությամբ առաջացնում են G-քվարդրուպլեքս: Մոնովալենտ մետաղի կատիոնները (Na^+ կամ K^+) տեղակայվում են G-քվարտետի կենտրոնական մասում և կայունացնում կառույցը (Sun et al., 2019):

Ենթադրվում է, որ G4 կոնֆորմացիան կարող է բարձրացնել գենոմային անկայունության մակարդակը: Բացահայտվել է, որ տրանսլոկացիաների ու դելեցիաների առաջացման խզման լուկուսները (500 նուկլեոտիդի սահմաններում) հարուստ են G4 կոնֆորմացիա առաջացնող հաջորդականություններով: Այդպիսի հաջորդականություններ բացահայտվել են նաև BCL2, HOX11 և TCF3 գեներում, որոնց մուտացիաները ցույց են տրված քաղցկեղի տարբեր տեսակների ժամանակ: Ներկայումս մշակվում են քիմիական միացություններ (օրինակ՝ տելոմետաստատին, պոբֆիրիններ, օլիգոպատամերներ և այլն), որոնց հակաքաղցկեղային ակտիվության մեխանիզմի հիմքում ընկած է G4 հատվածների հետ փոխազդեցությունն ու դրանց կայունացումը:

Թելոմերներում T հանգույցի կառուցվածքը պահպանվում է շերտերինային կոմպլեքսի (թելոսոմ) վեց սպիտակուցներով: Երկշղթա ԴՆԹ-ի հետ փոխազդող շերտերիններն ունեն Myb (անզլերեն՝ myeloblastosis) դոմեյն, իսկ միաշղթա ԴՆԹ-ի հետ փո-

խազդողները՝ OB (անգլերեն՝ oligonucleotide/oligosaccharide binding) ծալքեր: Շելտերինների միջև կապերն իրականանում են TRFH (անգլերեն՝ telomere repeat factor homolog), RCT (անգլերեն՝ RAP1 C-terminal) ու BRCT (անգլերեն՝ BRCA1 C-terminal) դոմեյններով:

TRF1 ու TRF2 (անգլերեն՝ telomeric-repeat-binding factor 1 and 2) գործոնների հոմոդիմերիզացումն առաջանում է TRFH հոմոլոգիայի դոմեյնների միջոցով, ինչի շնորհիվ հոմոդիմերները փոխազդում են թելոմերի երկշղթա հատվածների հետ Myb տիպի դոմեյններով: TRF2-ի TRFH դոմեյնը կարգավորում է T հանգույցի առաջացումը ֆոսֆորիլացման ու դեֆոսֆորիլացման ճանապարհով: RAP1-ը (անգլերեն՝ repressor and activator protein 1) բացառապես կապվում է TRF2-ին և կանխում դրա հիմնային դոմեյնի (դրական լիցքով) ոչ սպեցիֆիկ փոխազդեցությունը ԴՆԹ-ի հետ՝ բարձրացնելով TRF2-ի սպեցիֆիկությունը TTAGGG հեքսամերների նկատմամբ: Իսկ TIN2-ը (անգլերեն՝ TRF1-interacting nuclear protein 2) կամրջում է TRF1 ու TRF2 սպիտակուցները և բարձրացնում TRF2 թելոմերային կայունությունը: POT1 (անգլերեն՝ protection of telomeres 1) շելտերինը G-հարուստ միաշղթա հատվածներում կապվում է 5'-TTAGGGTTAG հաջորդականություններին OBI/2 (անգլերեն՝ oligonucleotide/oligosaccharide binding) ծալքերով (Նկ. 87): Ընդ որում՝ մարդու մոտ առկա է միայն մեկ POT1, իսկ կրծողների մոտ՝ երկու՝ POT1a ու POT1b գեն, որոնք առաջացել են գենային դուպլիկացիայի արդյունքում: TPP1-ը (անգլերեն՝ TIN2-interacting protein) կապում է POT1 ու TIN2 սպիտակուցները, ինչի արդյունքում բարձրանում է POT1 աֆինությունը 3' միաշղթա հատվածների նկատմամբ: TPP1-ն կարգավորում է նաև G շղթայի երկարացումը՝ ապահովելով թելոմերագի հիբրիդիզացիան ԴՆԹ-ին: Այսպիսով՝ TPP1/TIN2-ը կամրջում է թելոմերների երկշղթա ու միաշղթա ԴՆԹ շելտերինային սուբկոմպլեքսները:



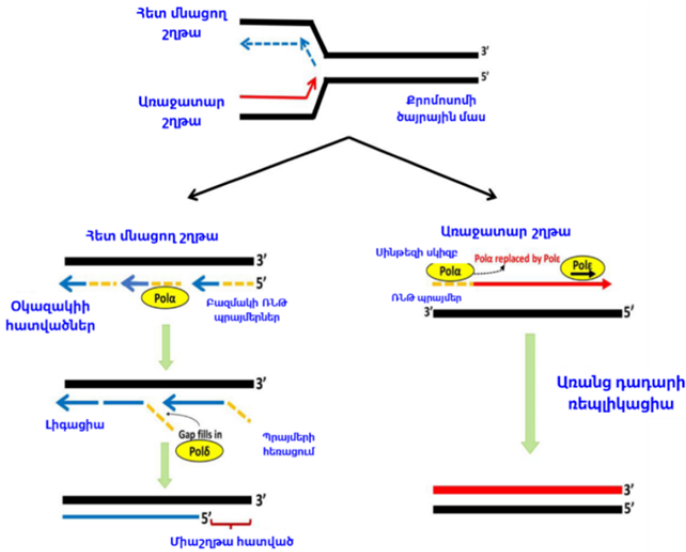
Նկար 87. Թելոմերի կառուցվածքը, որը պահպանվում է 6 շելտերինային սպիտակուցների միջոցով: 3' G շղթայի (մանուշակագույն) դեպի հետ պտտվելու արդյունքում առաջանում է T հանգույցը, իսկ C շղթայի (կանաչ) հետ կապվելով՝ D հանգույցը (Bernal and Tusell, 2018):

Շելտերինային կոմպլեքսը պահպանում է թելոմերների երկարությունը և կանխում ռեպարացիայի ֆերմենտների կողմից որպես ԴՆԹ միաշղթա վնասվածքներ ճանաչվելուց: TRF2-RAP1 հետերոդիմերն արգելակում է MRN կոմպլեքսի փոխազդեցությունը թելոմերներների ծայրային հատվածների հետ և ATM կինազի ակտիվացումը G1 փուլում, իսկ POT1-TPP1-ն արգելակում է թելոմերներում ATM/ATR կինազներով հոմոլոգիական ռեպարացիան: Բացահայտվել է, որ TRF2-ի դելեցիան ակտիվացնում է NHEJ ռեպարացիան, խթանում տարբեր քրոմոսոմների թելոմերների միաձուլումն ու դիցենտրիկների առաջացումը, սենեսենսն ու գենոմային անկայունությունը, մինչդեռ ակտիվ TRF2-ը կանխում է Ku70/80 կոմպլեքսի առաջացումը T հանգույցում, ATM ակտիվացումը՝ պաշտպանելով քրոմոսոմները միաձուլվելուց: Իսկ G շղթայի երկարացումը կարգավորվում է TPP1-ով, որն ապահովում է թելոմերազի հիբրիդիզացիան ԴՆԹ-ին:

Բջջի յուրաքանչյուր բաժանման արդյունքում թելոմերների երկարությունը կարճանում է ծայրային թերոեպիկկացիայի արդյունքում: Սակայն թելոմերները վնասվում են նաև գենաթույնների, օքսիդային սթրեսի ու նուկլեազների ազդեցության պատճառով: Թելոմերազային ակտիվությունից զուրկ բջիջների թելոմերներից կտրվում է մոտ 15-50 նուկլեոտիդ (մինչև 250 նուկլեոտիդ) հատ-

ված (օրինակ՝ ֆիբրոբլաստներում) *in vitro*, և մոտ 15 նուկլեոտիդ/տարի՝ *in vivo*։ Քաղցկեղային ու բնային բջիջներում այդ կորուստը վերականգնվում է թելոմերազ ֆերմենտի ակտիվացման և միջթելոմերային ԴՆԹ-ի հոմոլոգիական ռեկոմբինացիայի (այլընտրանքային ուղի) միջոցով։ Բացահայտվել է, որ քաղցկեղի 85-90 % դեպքերում ակտիվանում է թելոմերազային ուղին, մինչդեռ 10-15 % դեպքերում՝ այլընտրանքայինը։

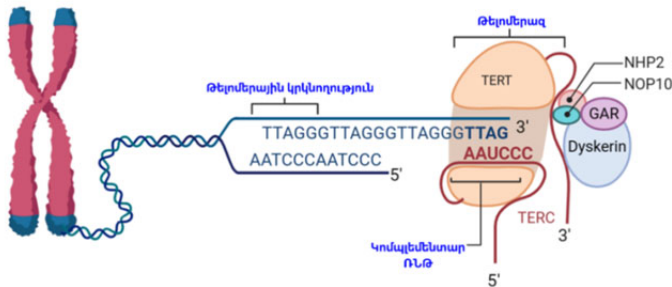
Օայրային թերռեպլիկացիայի խնդիրը պայմանավորված է նրանով, որ ԴՆԹ-պոլիմերազն անխուսափելիորեն չի կարողանում լիովին սինթեզել թելոմերներում ԴՆԹ հետ մնացող C շղթան։ Ո՞րն է դրա պատճառը։ ԴՆԹ ռեպլիկացիայի ընթացքում ԴՆԹ յուրաքանչյուր շղթա ծառայում է որպես մատրիցա կոմպլեմենտար շղթայի սինթեզի համար։ Pol α -պրայմազ կոմպլեքսը (p48 ենթամիավոր (Pri1)) սինթեզում է ՌՆԹ պրայմերը, որի 3՝ ազատ -OH ծայրից Pol α պոլիմերազը (p180 ենթամիավոր (Pol1)) սկսում է էլոնգացիան 5՝-3՝ ուղղությամբ՝ դեպի ռեպլիկացիոն պատառաքաղը և սինթեզում մոտ 20-30 նուկլոտիդից կազմված հատված։ Այնուհետև փոխարինվում է Pol ϵ պոլիմերազով, որը բարձր ճշգրտությամբ շարունակում է ռեպլիկացիան առաջատար շղթայում (անգլերեն՝ *leading strand*)։ Հետևաբար առաջատար շղթայում սինթեզվում է մեկ պրայմեր, և կոմպլեմենտար շղթայի սինթեզը չի ընդհատվում։ ԴՆԹ հետ մնացող շղթան (անգլերեն՝ *lagging strand*) կարող է սինթեզվել միայն հատվածներով՝ ռեպլիկացիոն պատառաքաղին հակառակ ուղղությամբ։ Այս դեպքում սինթեզվում են միլիոնավոր ՌՆԹ պրայմերներ (8-12 նուկլեոտիդ), իսկ Pol δ պոլիմերազը սինթեզում է Օկազակիի հատվածները։ Պրայմերների հեռացումից հետո առաջացած հատվածները կցվում են լիգազի մասնակցությամբ։ Դրա արդյունքում 5՝ ծայրի ՌՆԹ պրայմերի հեռացումից հետո առաջացած դուստր շղթան անխուսափելիորեն մնում է ավելի կարճ՝ նվազագույնը ՌՆԹ պրայմերի չափով (Նկ. 88)։



Նկար 88. Հետ մնացող ու առաջատար շղթաների սինթեզի սխեման: ԴՆԹ պոլիմերազ Polα-ն մեկ ՌՆԹ պրայմերով սկսում է առաջատար շղթայի սինթեզը, որն էլոնգացիայի փուլում փոխարինվում է Polε-ով: Հետ մնացող շղթան սինթեզվում է բազմաթիվ պրայմերներից Օկազակիի հատվածներով: ՌՆԹ պրայմերները դեգրադացվում են, բացերը լցվում են Polδ-ով, որին հաջորդում է լիգացիան: Արդյունքում 5' ծայրի պրայմերի հեռացվելուց հետո մնում է չլրացված միաշղթա հատված, որը կտրվում է (Srinivas et al., 2020):

3' ծայրի միաշղթա հատվածը պտտվում է հետ՝ դեպի քրոմոսոմը՝ ձևավորելով D հանգույցը, որի TPP1 շեղերին հետ փոխադրում է թելոմերազը: Թելոմերազը նուկլեոպրոտեինային կոմպլեքս է, որի կատալիտիկ առանցքը կազմում են սպիտակուցային TERT ենթամիավորն ու hTERC (անգլերեն՝ human telomerase RNA component կամ hTR) ՌՆԹ բաղադրիչը (451 նուկլեոտիդ): hTR-ի 5' ծայրում տեղակայված է մատրիցան (CUAACCUAAC), որը հիբրիդիզացվում է թելոմերների միաշղթա հատվածին: Հոլոենզիմի (ֆունկցիոնալ սպիտակուց) կառուցվածքում ներառվում են նաև դիսկերինը, NOP10, NHP2, GAR1 ու

TCAB1 սպիտակուցային ենթամիավորները: Բջջակորիզում թելոմերազը տեղակայվում է Կախալ մարմնիկներում (ռիբոնուկլեոպրոտեինների հասունացման տեղամաս), որոնց հետ փոխազդում է hTR-ի CAB տեղամասին (անզլերեն՝ CAB box) միացած TCAB1 ենթամիավորով: TCAB1–CAB փոխազդեցության խաթարումը հանգեցնում է կորիզում թելոմերազի սխալ լոկալիզացիային (տեղակայվում են կորիզակների մոտ) և ընկճում թելոմերների de novo սինթեզը: Թելոմերների 3՝ հաջորդականությունների de novo սինթեզի նպատակով թելոմերազի TERT դոմեյնի TEN հատվածը փոխազդում է TPP1 շելտերինի OB ծալքի հետ (Նկ. 89): Դրա շնորհիվ hTR-ը հիբրիդիզացվում է 3՝ թելոմերային հատվածի ծայրային նուկլեոտիդներին և ավելացնում 5՝-GGTTAG-3՝ հատվածները G շղթայում: Թելոմերազային կոմպլեքսի հեռացումից հետո տեղի է ունենում C շղթայի սինթեզը Օկազակիի հատվածներով: Քաղցկեղային ու բնային բջիջներում ցույց է տրվել թելոմերազի գերէքսպրեսիան, ինչի շնորհիվ դրանց թելոմերների երկարությունն անընդհատ վերականգնվում է:



Նկար 89. Քրոմոսոմի թելոմերային հատվածի հետ թելոմերազի փոխազդեցության սխեման (պատրաստված է BioRender համակարգով):

Որոշ ողնաշարավորների թելոմերային հեքսամերներն ունեն նաև ոչ տերմինալ կամ ինտերստիցիալ (ITS) դասավորություն: Այդպիսի հեքսամերներ տեղակայված են ցենտրոմերներում ու պերիցենտրիկ լոկուսներում, ինչպես նաև ցենտրոմերներ-

րի ու թելոմերների միջև գտնվող որոշ քրոմոսոմային լոկուսներում: Ենթադրվում է, որ այս հաջորդականություններն առաջացել են էվոլյուցիայի ընթացքում քրոմոսոմների թելոմերային միաձուլումների կամ ԴՆԹ երկշղթա կտրվածքների ռեպարացիայի արդյունքում:

Ըստ իրենց չափի, գենոմային դասավորության ու սահմանակցող հաջորդականությունների՝ ITS թելոմերները լինում են՝

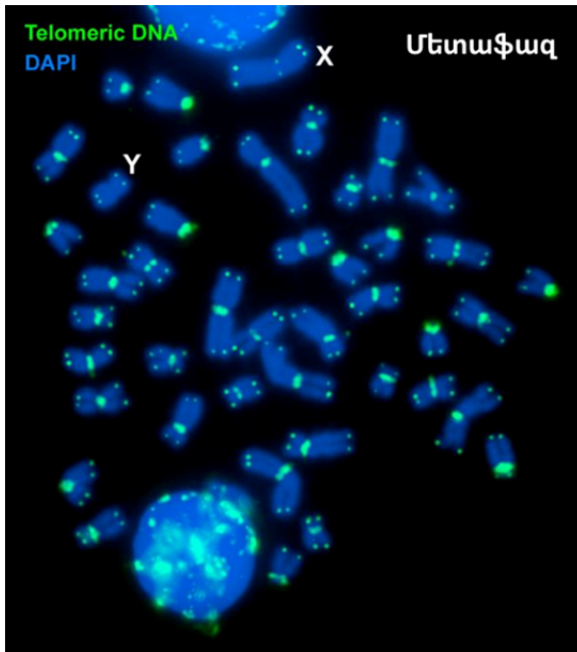
- կարճ,
- սուրթթելոմերային,
- միաձուլված և
- հետերոքրոմատինային:

Մարդու գենոմում հանդիպում են միայն առաջին երեք տիպի ITS թելոմերները, իսկ հետերոքրոմատինային ITS-ներ նկարագրվել են որոշ համստերների (օրինակ՝ *Cricetulus griseus*) ու թռչունների (օրինակ՝ *Rhea americana*) տեսակների մոտ:

- **Կարճ ITS-ները** տանդեմային դասավորությամբ մինչև 20 հեքսամերից (մեծ մասը <100 նգ) կազմված հատվածներ են և հանդիպում են մարդու քրոմոսոմների ավելի քան 50 լոկուսներում (օրինակ՝ 2q31, 7q36 և 21q22):
- **Սուրթթելոմերային ITS-ներն** առկա են մարդու բոլոր քրոմոսոմների ծայրերին և կազմված են գլուխ-պոչ ուղղվածությամբ տանդեմային հաջորդականություններից, որոնք պարունակում են հարյուրավոր ճշգրիտ ու այլասերված կրկնություններ (տարբերվում են TTAGGG հեքսամերից մեկ կամ երկու նուկլեոտիդային ինդելներով): Այս տեղամասերը պոլիմորֆ են և անկայուն, ինչպես նաև կարող են կապվել թելոմերային սպիտակուցների հետ:
- **Միաձուլված ITS-ները** բաղկացած են գլուխ-գլուխ ուղղվածությամբ հեքսամերների հատվածներից, որոնց սահմանակցում են էվոլյուցիոն նախնիների քրոմոսոմների միաձուլմամբ առաջացած սուրթթելոմերային հաջորդա-

կանություններ: Այդպիսի ITS-ները խիստ հազվադեպ են մարդու գենոմում և նկարագրվել են միայն 1q41 ու 2q13 լոկուսներում:

- **Հետերոքրոմատինային ITS-ները** խոշոր թելոմերանման հատվածներ են, որոնց երկարությունը կարող է հասնել մի քանի հարյուր հազար նուկլեոտիդի և հաճախ հանդիպում են կոնստիտուտիվ հետերոքրոմատինում կամ դրա սահմանին (Նկ. 90): Ցույց է տրվել որոշ թելոմերային սպիտակուցների (TRF1, TRF2 և RAP1) տեղակայումը այս լոկուսներում:



Նկար 90. FISH մեթոդով հետերոքրոմատինային ITS հատվածների նույնականացման օրինակ *Meriones unguiculatus* (մոնղոլական ավազամուկ) ոսկրածուծի մետաֆազային քրոմոսոմներում: Թելոմերային հատվածները նիշավորված են կանաչ ֆլուորոքրոմով (Telomeric DNA) և տեսանելի են նաև բոլոր քրոմոսոմների ցենտրոմերներում (de la Fuente et al., 2014):

Տերմինալ ու ինտերստիցիալ թելոմերային հատվածներում քիմիական ու ֆիզիկական մուտագեններով մակածված վնասվածքները տարբեր աշխատանքներում կիրառվել են որպես գենաթունային ազդեցության կենսամարկերներ:

Յույց են տրվել քիմիական և ֆիզիկական մուտագենների գենաթունային էֆեկտները ITS լոկուսներում: Օրինակ՝ առնետների ֆիբրոբլաստներում բացահայտվել է, որ իոնացնող ճառագայթմամբ մակածված քրոմոսոմային կտրվածքների >77 %-ը համընկնում է ITS տեղամասերի հետ: Իոնացնող ճառագայթմամբ ու բլեոմիցինով (ռադիոմիմետիկ կլաստոգեն) մշակված CHO բջիջներում մակածվում են ինտերստիցիալ ֆրագմենտներ, որոնք ներկվում են թելոմերային FISH գոնդերով: Ենթադրվում է, որ քրոմոսոմների ITS հարուստ հետերոքրոմատինային լոկուսները նախահակված են սպոնտան ու մակածված (իոնացնող ճառագայթում, բլեոմիցին, ստրեպտոնիգրին և այլն) վնասվածքների, վերակառուցումների ու ֆրագիլության: Բացահայտվել է, որ բլեոմիցինի ու ստրեպտոնիգրինի (ռադիոմիմետիկ կլաստոգեն) ազդեցությամբ առաջանում են թելոմերային հատվածների ամպլիֆիկացիա և Q-FISH մեթոդով չափվող ITS հատվածների չափի մեծացում: Այս ամպլիֆիկացիաների մոլեկուլային մեխանիզմները դեռևս բացահայտված չեն: Հետաքրքիր է, որ ռադիոմիմետիկ տարբեր դեղանյութեր վնասում են քրոմոսոմների տարբեր լոկուսներում տեղակայված ITS հատվածները: Օրինակ՝ CHO բջիջներում բլեոմիցինով մակածված քրոմոսոմային վնասվածքներն առաջանում են ցենտրոմերային հատվածներին կից թելոմերային կրկնություններում, մինչդեռ ստրեպտոնիգրինը գլխավորապես մակածում է ցենտրոմերից դուրս վնասվածքներ: Ուստի տարբեր մուտագենների գենաթունային ազդեցության ռիսկի գնահատման ժամանակ հարկավոր է նկատի ունենալ քրոմոսոմային լոկուսներում թելոմերային հատվածների առկայությունը:

Թելոմերային ԴՆԹ միաշղթա ու երկշղթա վնասվածքները կամ կարճացումը, որպես կանոն կապված են ծերացման հետ: Սակայն բացահայտվել են միջավայրի մի շարք գործոններ, որոնք կարող են մակաձել թելոմերների կառուցվածքային խաթարումներ:

Թելոմերային ԴՆԹ-ում հատկապես բարձր է ԴՆԹի օքսիդային վնասվածքների առաջացման ռիսկը գուանինի բարձր պարունակության պատճառով: Օքսիդային վնասվածքներից առավել հաճախ հանդիպում են 8-oxo-dG պրեմուտացիոն վնասվածքը, որի հետևանքով բարձրանում է $G \rightarrow T$ տրանսվերսիաների ու թելոմերների սխալ ռեպլիկացիայի հաճախականությունը: Ընդ որում՝ ենթադրվում է, որ ROS մակաձված թելոմերների կարճացումը կարող է ունենալ հյուսվածքային սպեցիֆիկություն տարբեր հյուսվածքների հակաօքսիդանտային ներուժի պատճառով: Բացահայտվել է, որ սկների մոտ L-բուրթոնին սուլֆոքսամինով մակաձված օքսիդային սթրեսի պայմաններում առավել հաճախ կարճանում են սերմնարանների ու մաշկի բջիջների թելոմերները, մինչդեռ լյարդի, երիկամների, մկանների, թոքերի, սրտի ու գլխուղեղի հյուսվածքները դրսևորում են ռեզիստենտություն:

Թելոմերների երկարության կարճացում դիտվել է ծանր մետաղների (Cd, Pb, As, W), օրգանական միացությունների (ՊՍՍ), պոլիքլորինացված բիֆենիլների, պոլիբրոմինացված դիֆենիլ էթերների ու օդի աղտոտիչների (օրինակ՝ բենզեն, տոլուեն, մեքենաների արտանետումները) ազդեցության պայմաններում:

Թելոմերների հիստոններում ու ԴՆԹ-ում էպիգենետիկական փոփոխությունները նույնպես կարող են խաթարել թելոմերների ամբողջականությունն ու զենոմային կայունությունը: Բարձրակարգ էուկարիոտների թելոմերները գլխավորապես հետերոքրոմատինային փաթեթավորման վիճակում են ռեպրեսիվ էպիգենետիկական մոդիֆիկացիաների՝ H3 հիստոնի լիզին 9 (H3K9me3) ու H4 հիստոնի լիզին 20 (H4K20me3) դիրքերի եռմե-

թիվացման շնորհիվ: Դա տեղի է ունենում SUV39H1 և SUV39H2 հիստոն մեթիլտրանսֆերազների միջոցով, որոնք խթանում են HP1 հետերոքրոմատինային սպիտակուցի կուտակումը եռմեթիլացված հիստոնների հատվածներում: Հետերոքրոմատինացումը պահպանում է թելոմերների կառուցվածքային ամբողջականությունը, իսկ ռեպրեսիվ նիշերի հեռացումն առաջացնում է քրոմատինի ապակոնդենսացում, թելոմերների ֆունկցիայի խաթարում, թելոմերների արերանտ երկարացում ու քրոմոսոմային անկայունություն:

Թելոմերների որոշ հատվածներում նկարագրվել են երկար չկողավորող ՌՆԹ տրանսկրիպցիայի սկզբնակետեր, որոնցից առաջանում են TERRA (անգլերեն՝ telomeric repeat containing RNA) միաշղթանի ՌՆԹ-ները: TERRA ՌՆԹ-ների տրանսկրիպցիան սկսվում է C շղթայի սուբթելոմերային հատվածում և ուղղված է դեպի թելոմերները: Հետևաբար TERRA ՌՆԹ-ները հարուստ են գուանինով և կազմված են 5'-UUAGGG-3' հեքսամերներից, որոնց երկարությունը կարող է լինել 100-9000 նուկլեոտիդ: TERRA ՌՆԹ-ների տրանսկրիպցիան իրականացնում է ՌՆԹ պոլիմերազ II, և ունեն 5' 7-մեթիլգուանոզինային գլխարկ, իսկ 7 %-ը՝ նաև 3' պոլիադենիլացված պոչ: Սակայն դեռևս պարզ չէ, թե քանի TERRA պրոմոտորային լոկուսներ են առկա մարդու գենոմում: Այդպիսի պրոմոտորներ հայտնաբերվել են թելոմերներից 1 կնգ հեռավորության վրա գտնվող սակավաթիվ սուբթելոմերներում, սակայն HeLa բջիջների տասը քրոմոսոմներում հայտնաբերվել են 5-10 կնգ հեռավորության վրա: Երկու տիպի պրոմոտորներում հայտնաբերվել են CTCF ռեպրեսիվ տրանսկրիպցիայի գործոնների փոխազդեցության տեղամասեր:

ՌՆԹ FISH վերլուծությունը ցույց է տվել, որ թելոմերների մեծ մասը կապված է TERRA ՌՆԹ-ների հետ: Ենթադրվում է, որ այս ՌՆԹ-ները մասնակցում են հետերոքրոմատինացմանը, թելոմերային հանգույցի առաջացմանն ու թելոմերազի հետ փոխազդեցությանը:

TERRA ՌՆԹ-ների էքսպրեսիայի մակաձուսման դիտարկում է գենաթունային գործոնների ազդեցության պայմաններում: Օրինակ՝ մարդու հաստ աղիքի քաղցկեղի HCT116 բջիջների մշակումը էտոպոզիդով առաջացնում է TERRA ՌՆԹ-ների գերէքսպրեսիա: Բացահայտվել է, որ p53-ի նոքաութն առաջացնում է TERRA ՌՆԹ-ների մակարդակի նվազում և թելոմերների վնասվածքների բարձրացում: Ցույց է տրվել նաև TERRA ՌՆԹ-ների կապը օքսիդային սթրեսի պատասխանի սպիտակուցների հետ մարդու մկանային բջիջներում: Ուստի ենթադրվում է, որ TERRA ՌՆԹ-ները կարող են կապված լինել ԴՆԹ ռեպարացիայի համակարգերի հետ:

Բացահայտվել է, որ քրոմոսոմները կարող են տարբերվել միմյանցից թելոմերների երկարությամբ: Օրինակ՝ 17p քրոմոսոմային ուսի թելոմերի երկարությունը, որպես կանոն, ավելի կարճ է, քան մյուս քրոմոսոմներինը: Մինչդեռ 4q, 12q ու 3p քրոմոսոմների թելոմերներն ամենաերկարն են: Հետաքրքիր է, որ բարձրագույն կրթություն ու բարձր IQ ունեցողների թելոմերներն ավելի երկար են՝ համեմատած դպրոցական կրթություն ու ցածր IQ ունեցող անձանց հետ: Այս երևույթի կենսաբանական նշանակությունն ու բացատրությունը դեռևս պետք է բացահայտել:

Գրականության ցանկ

1. Barral A, Déjardin J. Telomeric Chromatin and TERRA. *J Mol Biol.* 2020;432(15):4244-4256.
2. Bernal A, Tusell L. Telomeres: Implications for Cancer Development. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(1):294.
3. Bolzán AD. Interstitial telomeric sequences in vertebrate chromosomes: origin, function, instability and evolution. *Mutat Res.* 2017;773:51-65.
4. Bolzán AD. Interstitial telomeric sequences in vertebrate chromosomes: Origin, function, instability and evolution. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2017 Jul;773:51-65. doi: 10.1016/j.mrrev.2017.04.002.

5. Camats N, Ruiz-Herrera A, Parrilla JJ, Acien M, Payá P, Giulotto E, Egozcue J, García F, Garcia M. Genomic instability in rat: breakpoints induced by ionising radiation and interstitial telomeric-like sequences. *Mutat Res.* 2006 Mar 20;595(1-2):156-66. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2005.11.002.
6. Cattan V, Mercier N, Gardner JP, et al. Chronic oxidative stress induces a tissue-specific reduction in telomere length in CAST/Ei mice. *Free Radic Biol Med.* 2008;44(8):1592-1598.
7. de la Fuente R, Manterola M, Viera A, et al. Chromatin organization and remodeling of interstitial telomeric sites during meiosis in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Genetics.* 2014;197(4):1137-1151. doi:10.1534/genetics.114.166421.
8. de Lange T. Shelterin-Mediated Telomere Protection. *Annu Rev Genet.* 2018;52:223-247.
9. Nanda I, Schrama D, Feichtinger W, Haaf T, Scharl M, Schmid M. Distribution of telomeric (TTAGGG)(n) sequences in avian chromosomes. *Chromosoma.* 2002 Nov;111(4):215-27. doi: 10.1007/s00412-002-0206-4. Epub 2002 Sep 24. PMID: 12424522.
10. Roake CM, Artandi SE. Regulation of human telomerase in homeostasis and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020; 21(7):384-397.
11. Saretzki G. Telomeres, Telomerase and Ageing. *Subcell Biochem.* 2018;90:221-308.
12. Shay JW, Wright WE. Telomeres and telomerase: three decades of progress. *Nat Rev Genet.* 2019;20(5):299-309.
13. Srinivas N, Rachakonda S, Kumar R. Telomeres and Telomere Length: A General Overview. *Cancers (Basel).* 2020;12(3):558.
14. Srinivas N, Rachakonda S, Kumar R. Telomeres and Telomere Length: A General Overview. *Cancers (Basel).* 2020; 12(3):558.
15. Sun ZY, Wang XN, Cheng SQ, Su XX, Ou TM. Developing Novel G-Quadruplex Ligands: from Interaction with Nucleic Acids to Interfering with Nucleic Acid-Protein Interaction. *Molecules.* 2019;24(3):396. doi:10.3390/molecules24030396.
16. Veverka P, Janovič T, Hofr C. Quantitative Biology of Human Shelterin and Telomerase: Searching for the Weakest Point. *Int J Mol Sci.* 2019;20(13):3186.

5.9. ԴՆԹ կրկնօրինակների թվի փոփոխություններ (CNV)

1953 թ. Ջեյմս Վոթսոնը, Ֆրենսիս Կրիկը, Մորիս Ուիլկինսն ու Ռոզալինդ Ֆրանկլինը նկարագրեցին ԴՆԹ երկպարույր կառուցվածքը, որի հակազուգահեռ շղթաներում կոմպլեմենտար նուկլեոտիդները (A-T, G-C) փոխազդում են ջրածնային կապերով, իսկ հարևան նուկլեոտիդների ֆոսֆատային խմբերը տեղակայված են շղթայից դուրս: Իսկ թե մարդու գենոմում ինչ հաջորդականությամբ են դասավորված այդ նուկլեոտիդները, պարզվեց միայն 2003 թ. «Մարդու գենոմ» միջազգային ծրագրի ավարտից հետո: Ծրագրի իրականացման ընթացքում մարդու ամբողջ գենոմը տրոհվել էր ~150 կնգ հատվածների, որոնք ներմուծվել էին BAC (անգլերեն՝ bacterial artificial chromosomes) վեկտորներում: Այսպիսով՝ մշակվել էր մարդու գենոմի BAC գրադարան, որտեղ յուրաքանչյուր հատված կարելի էր ամպլիֆիկացնել, տրոհել ավելի փոքր հատվածների և առանձին-առանձին սեքվենավորել ու հետազայում վերակցել նախորդ ու հաջորդ 150 կնգ հատվածներին:

Ծրագրի հիմնական արդյունքներն այն էին, որ պարզվեց մարդու գենոմի չափն ու սպիտակուց կոդավորող գեների քանակը՝ գրեթե 21.000 (ոչ թե 100.000, ինչպես ենթադրում էին), որը կազմում է գենոմի 2 %-ը: Ընդ որում՝ մոդելային օրգանիզմ *Caenorhabditis elegans* որդի սպիտակուց կոդավորող գեների թիվը նույնպես կազմում է գրեթե 21.000: Ուստի պարզ դարձավ, որ գեների քանակը չի որոշում օրգանիզմի բարդության մակարդակը: Նաև պարզվեց, որ ազգակցական կապ չունեցող մարդիկ տարբերվում են միմյանցից մեկ նուկլեոտիդով յուրաքանչյուր 1.000-1.500 նուկլեոտիդային հատվածներում: Դա կոչվեց եզակի նուկլեոտիդային պոլիմորֆիզմ կամ SNP (անգլերեն՝ single nucleotide polymorphism), որը հանդիպում է պոպուլյացիայի ≥ 1 %-ի մոտ և կազմում գենոմի գրեթե 0.1 %-ը (~70 % տեղակայված են ինտրոն-

ներում): Նաև բացահայտվեց, որ մարդու գենոմը հարուստ է տարբեր տիպի կրկնություններով ու կարգավորիչ տարրերով: «Մարդու գենոմ» ծրագիրը հիմք դարձավ ժամանակակից մոլեկուլային կենսաբանության և գենոմային ու մոլեկուլային ախտորոշման տեխնոլոգիաների զարգացման համար, իսկ ծրագրի ընթացքում ստեղծված BAC գրադարանները զգալիորեն ընդլայնեցին մոլեկուլային բջջագենոմիկայի (նաև մոլեկուլային գենոմիկայի) հնարավորությունները. մշակվեցին և զարգացան գենոմների հիբրիդիզացիայի մեթոդները:

2004 թ. երկու անկախ խմբերի կողմից ցույց տրվեց, որ առողջ մարդկանց գենոմների միմյանց հետ հիբրիդիզացիան կարող է բացահայտել նրանց գենոմների այն հատվածները, որոնք հանդիպում են կրկնօրինակների տարբեր թվով: Այդպիսի հատվածները կոչվում են CNV-ներ (անգլերեն՝ DNA copy number variation) կամ ԴՆԹ կրկնօրինակների թվի փոփոխություններ (*չշփոթել պլոիդության փոփոխության հետ*), որոնք առաջանում են 50 նուկլեոտիդից մինչև երեք մեգանուկլեոտիդ երկարությամբ հատվածների դելեցիաների կամ դուպլիկացիաների (երբեմն ինվերսիաների) արդյունքում: Հետաքրքիր է, որ դելեցիաների քանակը (1.862.284) գերակշռում է դուպլիկացիաները (195.084):

Բացահայտվել է, որ CNV-ները կարող են կազմել մարդու գենոմի 4.8-9.5 %: CNV-ները գենետիկական պոլիմորֆիզմի կարևոր մասն են (երբ ≥ 1 %, ապա կոչվում են CNP), որոնք կարող են ունենալ նաև հարմարվողական ազդեցություն էվոլյուցիայի ընթացքում: Առավել հայտնի օրինակ է ալֆա ամիլազ գենը (AMY1, քրոմոսոմ 1), որի կրկնօրինակները առավել շատ են օսլայով հարուստ սնունդ օգտագործող պոպուլյացիաներում: Թքի կազմում ամիլազը տրոհում է օսլան մալտոզի ու դեքստրինի: Որքան շատ են գենի կրկնօրինակները, այնքան շատ ֆերմենտ է արտադրվում թքում: Օրինակ՝ ճապոնացիները, որոնց սննդակարգում մեծ քանակություն է կազմում օսլայով հարուստ բրինձը, ունեն

ամիլազի 14 կրկնօրինակ (մեկ ալելը՝ 10 կրկնօրինակով, երկրորդը՝ 4): Մինչդեռ Կոնգոյում բնակվող ԲիԱկա ցեղի ներկայացուցիչներն ունեն միայն 6 կրկնօրինակ (յուրաքանչյուր ալելում 3 կրկնօրինակ): Այս մարդիկ զբաղվում են որսորդությամբ/հավաքչությամբ և օսլա պարունակող սննդամթերք քիչ են օգտագործում:

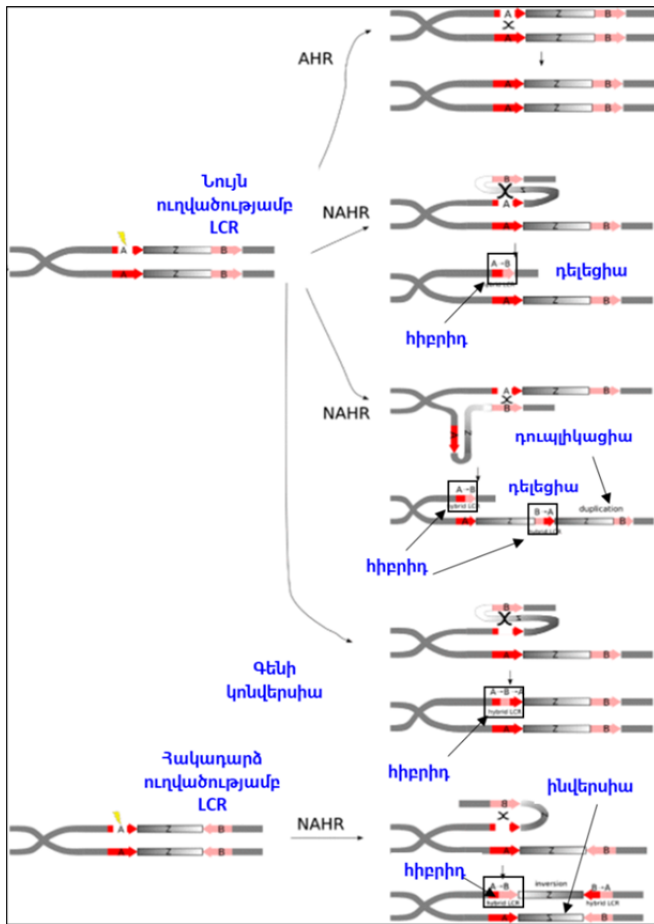
CNV-ները կարող են ունենալ նաև պաթոգեն ազդեցություններ և տարբերվում են ամբողջական քրոմոսոմների դելեցիաներից ու դուպլիկացիաներից, որոնք խմբավորվում են **անէուպլոիդիաների** դասում: Իսկ փոքր հատվածների (<50 նգ) ինսերցիաներն ու դելեցիաները կոչվում են **ինդելներ**:

Ըստ ծագման՝ CNV-ները լինում են ժառանգական ու *de novo*: Ծնողական սեռական բջիջների CNV-ները հանդիպում են սերնդի բոլոր բջիջներում, մինչդեռ *de novo* առաջացող CNV-ները՝ միայն բջջային որոշակի պոպուլյացիաներում (օրինակ՝ ուռուցքային բջիջներում՝ թերապիայից առաջ կամ հետո):

Հետաքրքիր է, որ գենոմում CNV-ներն անհամաչափ են բաշխված և առավել հաճախ հանդիպում են պերիցենտրոմերային ու սուբօրենտրոմերային, ինչպես նաև ռեպլիկացիոն օրիջիններին ու պալինդրոմներին կից հատվածներում: Դա պայմանավորված է CNV-ների առաջացման մեխանիզմներով, ուստի տարբերում են **կրկնվող** (անզլերեն՝ recurrent) ու **չկրկնվող** (անզլերեն՝ non-recurrent) CNV-ներ:

Պերիցենտրոմերային ու սուբօրենտրոմերային լոկուսները հարուստ են >90 % հոմոլոգիայով և >1 կնգ երկարությամբ սեգմենտային դուպլիկացիաներով, որոնք կոչվում են LCR (անզլերեն՝ low-copy repeats) (**Նկ. 91**): LCR կրկնությունները (մարդու հապլոիդ գենոմի 5 %) պարալոգ հաջորդականությունների (տարբեր լոկուսներում գտնվող միևնույն հաջորդականության դուպլիկացիա) կլաստերներ են, որոնք քրոմոսոմներում կարող են ունենալ ուղիղ ու հակադարձ (ինվերսիա) դիրք: Երբ երկու պարալոգ LCR

կրկնությունները տեղակայված են լինում միայնցից <10 Մնգ հեռավորության վրա, ապա կարող են հանգեցնել քրոմատիդների միջև չհավասարակշռված քրոսինգովերի, որի հետևանքով LCR-ների միջև գտնվող հատվածները դելեցվում կամ դուպլիկացվում են (Նկ. 91): Դա կոչվում է ոչ ալելային հոմոլոգիական ռեկոմբինացիա (անգլերեն՝ non-allelic homologous recombination, NAHR):



Նկար 91. Հոմոլոգիական ռեպարացիայի սխեմա: Կարմիր ու վարդագույն հատվածները հոմոլոգ LCR-ներ են՝ համապատասխանաբար

նշված A ու B: Մլաքների ուղղությունը ցույց է տալիս LCR-ների ուղղվածությունը: Կարմիր ու վարդագույն հոմոլոգ LCR-ների միջև գտնվող եզակի հաջորդականությունը նշված է Z: Դեղին շանթը ցույց է տալիս կարմիր LCR-ում առաջացած երկշղթա վնասվածքի տեղը: Ներկայացված են հոմոլոգ ռեպարացիայի մի քանի ուղիներ՝ յուրաքանչյուր դեպքում միջանկյալ փուլով: AHR-ի (ալելային հոմոլոգիական ռեկոմբինացիա) դեպքում կարմիր LCR-ը վերականգնվում է քույր քրոմատիդում գտնվող ալելային հատվածի (այլ կարմիր LCR-ի) միջոցով: Վերականգնված քրոմատիդը վերականգնվում է ճշգրիտ, ներառյալ պոլիմորֆիզմները: NAHR-ի դեպքում վերականգնման համար որպես մատրիցա օգտագործվում է ոչ ալելային, բայց հոմոլոգ հատված (վարդագույն LCR-ներից մեկը), և ձևավորվում է կրկնակի Հոլիդեյ հանգույց: Սա հանգեցնում է նոր LCR-ի ձևավորմանը, որը բաղկացած է միջնորդող LCR-ների յուրաքանչյուրի մասերից և կոչվում է հիբրիդ LCR: Այս դեպքում, եթե միջնորդող LCR-ները նույն ուղղվածությունն ունեն (պլաքները նույն ուղղությամբ են), առաջանում են դելեցիաներ և/կամ դուպլիկացիաներ: Եթե LCR-ները հակառակ ուղղություն ունեն, ապա NAHR-ի արդյունքում առաջանում է ինվերսիա: Վերջապես, հնարավոր է նաև, որ վերականգնման ընթացքում ձևավորված կրկնակի Հոլիդեյ հանգույցները լուծվեն առանց քրոսօվերի: Այս դեպքում տեղի է ունենում գեների կոնվերսիա: Մխենատիկ օրինակում վարդագույն LCR-ը գեների կոնվերսիայի միջոցով հաջորդականություն է փոխանցում կարմիր LCR-ին (Parks et al., 2015):

Որպես կանոն, այդպիսի վերախմբավորում առաջացնող LCR-ներն ունենում են >10 կնգ չափ ու >95 % հոմոլոգիա: Քանի որ ԴՆԹ կտրման հատվածները սահմանակցվում են LCR-ների կլաստերներով, ապա դրանց միջև տեղակայված CNV-ների չափերը, որպես կանոն, համընկնում են նույնիսկ ազգակցական կապ չունեցող անձանց մոտ: Ուստի կոչվում են **կրկնվող CNV-ներ**: Այսպիսի CNV-ները, որպես կանոն, ունենում են մեյոզային ծագում և սահմանակցված են լինում գրեթե իդենտիկ հաջորդականություններով:

NAHR-ով պայմանավորված խաթարումներ դիտվում են տարբեր համախտանիշների՝ Պրադեր-Վիլլիի ու Անգելմանի (15q11-q13), Սմիթ-Մազենիսի (del(17)(p11.2p11.2)), Պոտոցկի-Լյուպսկի (dup(17)(p11.2p11.2)), Վիլիամս-Բոյրենի (7q11.23) և մի շարք այլ դեպքերում: Օրինակ՝ 17p12 լոկուսում CMT1A-REP սեգմենտային դուպլիկացիաների միջև NAHR ռեկոմբինացիայի արդյունքում դելեցվում է 1.4 Մնգ հատված, այդ թվում՝ PMP22 գենը, որի հետևանքով առաջանում է HNPP համախտանիշը (անգլերեն՝ hereditary neuropathy with liability to pressure palsies): Նույն լոկուսի ռեցիպրոկ դուպլիկացիայի հետևանքով զարգանում է CMT1A (անգլերեն՝ Charcot-Marie-Tooth disease type 1A) հիվանդությունը:

Բացահայտվել է նաև, որ ինվերսիայով կամ հակադարձ LCR-ները բարձրացնում են դելեցիաների ու դուպլիկացիաների հավանականությունը սերունդների մոտ: Օրինակ՝ 17q21.31 լոկուսում կրկնվող CNV-ներ հանդիպում են այն սերունդներում, որոնց ծնողներից մեկը կրում էր հոմոզիգոտ կամ հետերոզիգոտ ինվերսիա այդ լոկուսում: LCR-ների ինվերսիաներ հայտնաբերվել են նաև Վիլիամս-Բոյրենի համախտանիշով հիվանդների ծնողների 33 %-ի մոտ: Ինվերսիայով LCR-ների գենոմային քարտեզավորումը բացահայտել է 942 գեն, որոնցից 99 տեկադայված են X քրոմոսոմում:

Սեգմենտային դուպլիկացիաների կամ LCR-ների ազդեցությամբ քրոմոսոմային վերակառուցումների առաջացման ռիսկը գնահատելու համար անհրաժեշտ է գենոմում նույնականացնել դրանց տեղակայումն ու հաճախականությունը: Մարդու գենոմում ավելի քան 8.000 սեգմենտային դուպլիկացիաների քարտեզավորման ժամանակ բացահայտվել են 169 տեղամասեր, որոնք գտնվում են 50 կնգ մինչև 10 Մնգ հեռավորության վրա և ունեն >95 % հոմոլոգիա: Դրանք NAHR ռեկոմբինացիայի «տաք կետեր են» (անգլերեն՝ hotspots), որոնցում CNV-ների հաճախա-

կանությունը զգալիորեն ավելի բարձր է՝ համեմատած միջին գենոմային արժեքի հետ: Այսպիսով՝ գենոմում կան տեղամասեր, որոնք առավել հակված են NAHR ռեկոմբինացիաների ու կրկնվող CNV-ների առաջացման նկատմամբ:

Չկրկնվող CNV-ներում ԴՆԹ կտրման հատվածները, որպես կանոն, տեղակայված են լինում եզակի հաջորդականություններում, ուստի տարբեր մարդկանց մոտ ունենում են տարբեր չափեր: Այսպիսի CNV-ները կարող են առաջանալ **ոչ հոմոլոգիական ծայրերի կցման ռեպարացիայի** և/կամ **աբեռանտ ռեպլիկացիայի** մեխանիզմներով: Չկրկնվող CNV-ներն ունեն միտոզային ծագում և, որպես կանոն, առաջանում են սահմանափակ հոմոլոգիայով (2-15 նգ) հատվածներում:

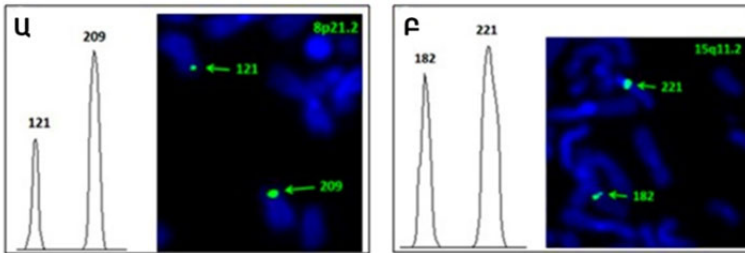
Պոպուլյացիայում տարբեր գեների CNV-ները կարող են ազդել քսենոբիոտիկների գենաթունային էֆեկտների դրսևորման վրա: Այդպիսի գեներից են ցիտոքրոմային սպիտակուցներ կոդավորող գեները, որոնք մասնակցում են քսենոբիոտիկների արտորբցիային, բաշխմանը, մետաբոլիզացիային ու էքսկրեցիային: Այս գեների պոլիմորֆիզմների արդյունքում միևնույն դեղամիջոցը տարբեր մադկանց մոտ կարող է ունենալ դրական, վնասակար (ազդեցության 20-30 % դեպքերը պայմանավորված են գենետիկական գործոնով) կամ չեզոք ազդեցություն: Հետևաբար ֆարմակոթերապիայի արդյունավետության բարձրացման համար անհրաժեշտ է նույնականացնել կլինիկորեն կարևոր գենետիկական պոլիմորֆիզմները հիվանդների տարբեր խմբերում:

Մարդու ցիտոքրոմային գեների գերընտանիքը ներառում է 57 գեն, որոնցից 12-ը կարգավորում են առաջին փուլի մոնոօքսիդենազային ռեակցիաների ավելի քան 75 %-ը: Ընդ որում՝ հայտնի են այս գեների տարբեր եզակի նուկլեոտիդային պոլիմորֆիզմներ ու CNV-ներ: Օրինակ՝ CYP2D6 ցիտոքրոմը մետաբոլիզացնում է կլինիկայում օգտագործվող դեղերի 20 %-ը, որը կախված է լյարդում այս սպիտակուցի էքսպրեսիայից: Նկարագրվել են

CYP2D6 կողավորող գենի դելեցիայով անհատներ, որոնց մոտ մետաբոլիզացիայի հաճախականությունը զգալիորեն նվազած է, ինչի հետևանքով այս անձանց մոտ բարձր է դեղերի բացասական ազդեցությունների առաջացման ռիսկը: Նման էֆեկտ դիտվել է մեկ այլ ցիտոքրոմի՝ CYP2A6 դեպքում, որը մետաբոլիզացնում է նիկոտինը՝ վերածելով չեզոք կոտինինի: Ծխողների պոպուլյացիայում CYP2A6 կողավորող գենի դուպլիկացիան առավել հաճախ է հանդիպում՝ համեմատած չծխողների հետ: CYP2A6 սպիտակուցի բարձր ակտիվությամբ անհատների արյան մեջ նիկոտինի մակարդակը զգալիորեն ցածր է, ինչը բարձրացնում է ավելի շատ ծխախոտ օգտագործելու ռիսկը:

2009 թ. Միչիգանի համալսարանի (ԱՄՆ) մարդու գենետիկայի լաբորատորիայում բացահայտվեց, որ ռեպլիկացիայի արգելակիչ աֆիդիկոլինը, որը քրոմոսոմներում բարձրացնում է գեյերի հաճախականությունը, կարող է մակաձել CNV-ներ մարդու ֆիբրոֆլաստների կուլտուրայում: Այս արդյունքները հաստատվեցին նաև հիդրօքսիուրեայի ու ցածր չափաբաժնով իոնացնող ճառագայթման կիրառմամբ, որոնք նույնպես արգելակում են ԴՆԹ ռեպլիկացիան մարդու բջիջներում: 2015 թ. ԵՊՀ գենետիկայի և բջջաբանության ամբիոնի ու Յենայի մարդու գենետիկայի ինստիտուտի միջև համագործակցության շրջանակում բացահայտվեց մարդու լիմֆոցիտներում CNV-ներ մակաձող մեկ այլ քիմիական մուտագեն՝ ԱՖB1 (Նկ. 92): 2017 թ. գենետիկայի և բջջաբանության ամբիոնում հիմնադրված մոլեկուլային բջջագենետիկայի հայ-գերմանական միացյալ լաբորատորիայի գործունեության շրջանակում ցույց տրվեց, որ արագացված էլեկտրոններով մարդու արյան լիմֆոցիտների ճառագայթումը (AREAL արագացուցիչ) նույնպես ունակ է մակաձելու CNV-ներ: Այսպիսով՝ բացահայտվեց, որ ռեպլիկացիայի արգելակում առաջացնող շրջակա միջավայրի գործոններն ունակ են մակաձելու CNV-ներ մարդու բջիջներում: Մկների մոտ կատարված հետազոտություն-

ներում բացահայտվել է, որ իոնացնող ճառագայթումը կարող է մակաձել CNV-ներ, որոնք կարող են ժառանգվել հաջորդ սերունդներին: Սակայն դեռևս հայտնի չէ՝ արդյոք կարող են մուտագենները մակաձել CNV-ներ մարդու սեռական բջիջներում, և արդյոք կարող են լինել ժառանգական:



Նկար 92. ԱՖՅԵ1-ով մակաձված CNV-ների FISH վերլուծությունը մարդու քրոմոսոմներում: (U) 8p21.2 և (F) 15q11.2 համապատասխան հոմոլոգ քրոմոսոմներում երևում են ԱՖՅԵ1-ով մակաձված դելեցիաների (փոքր նիշեր) առկայությունը CNV լուկուսներում (ցույց են տրված սլաքներով):

Քիմիական ու ֆիզիկական մուտագեններով մակաձված CNV-ների վերաբերյալ վերջին տարիների գրականությունն ամփոփված է [Hovhannisyan et al. \(2019\)](#) ակնարկային հոդվածում: Մարդու գենոմում պարզվելու և պոլիմորֆ CNV-ները գրանցված են <http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home> տեղեկատվարանում:

Գրականության ցանկ

1. Brás A, Rodrigues AS, Rueff J. Copy number variations and constitutional chromothripsis (Review). Biomed Rep. 2020;13(3):11.
2. Campbell IM, Gambin T, Dittwald P, et al. Human endogenous retroviral elements promote genome instability via non-allelic homologous recombination. BMC Biol. 2014;12:74.
3. de Smith AJ, Walters RG, Froguel P, et al. Human genes involved in copy number variation: mechanisms of origin, functional effects and implications for disease. Cytogenet Genome Res. 2008;123(1-4):17-26.

4. Hovhannisyan G, Harutyunyan T, Aroutiounian R, Liehr T. DNA Copy Number Variations as Markers of Mutagenic Impact. *Int J Mol Sci.* 2019;20(19):4723.
5. Moraes F, Góes A. A decade of human genome project conclusion: Scientific diffusion about our genome knowledge. *Biochem Mol Biol Educ.* 2016;44(3):215-223.
6. Ottaviani D, LeCain M, Sheer D. The role of microhomology in genomic structural variation. *Trends Genet.* 2014;30(3):85-94.
7. Parks MM, Lawrence CE, Raphael BJ. Detecting non-allelic homologous recombination from high-throughput sequencing data. *Genome Biol.* 2015;16(1):72.
8. Santos M, Niemi M, Hiratsuka M, et al. Novel copy-number variations in pharmacogenes contribute to interindividual differences in drug pharmacokinetics. *Genet Med.* 2018;20(6):622-629.
9. Watson CT, Marques-Bonet T, Sharp AJ, Mefford HC. The genetics of microdeletion and microduplication syndromes: an update. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2014;15:215-244.
10. Weckselblatt B, Rudd MK. Human Structural Variation: Mechanisms of Chromosome Rearrangements. *Trends Genet.* 2015;31(10):587-599.
11. Zarrei M, MacDonald JR, Merico D, Scherer SW. A copy number variation map of the human genome. *Nat Rev Genet.* 2015;16(3):172-183.

5.10. ՄտՂՆԹ ինսերցիաները կորիզային գենոմում

1905 թ. ռուս բուսաբան Կոնստանտին Մերեշկովսկին ձևակերպեց էնդոսիմբիոզի տեսության երեք կարևորագույն գաղափարները.

- պլաստիդները ռեդուկցված ցիանոբակտերիաներ են, որոնք էվոլյուցիայի վաղ փուլերում սիմբիոզային կապի մեջ են մտել հետերոտրոֆ տեր օրգանիզմի հետ,
- տեր օրգանիզմը, որտեղ ներմուծվել էին պլաստիդները ավելի վաղ սիմբիոզի արդյունք էր, որն առաջացել էր

ավելի մեծ հետերոտրոֆ ամեոբոիդ բջջի և կորիզին սկիզբ տված ավելի փոքր միկրոկոկային էնդոսիմբիոնտի միջև,
և

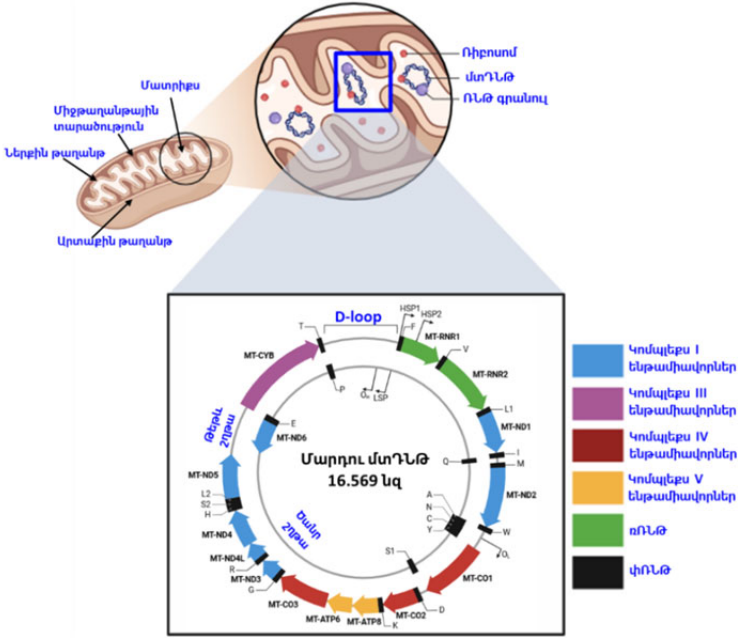
- բույսերի ավտոտրոֆ հասկությունը ժառանգված է *in toto* ցիանոբակտերիաներից:

Այս և մի շարք այլ աշխատանքների հիման վրա 1967 թ. Լին Մարգուլիսը (հոդվածում՝ Լին Մագան) ձևակերպեց ժամանակակից էնդոսիմբիոզի տեսությունը, որի համաձայն՝ էուկարիոտ բջիջներն առաջացել են հետերոտրոֆ պրոտիստ բջջի (արքեոն) ու ալֆապրոտեոբակտերիայի կամ ցիանոբակտերիայի միջև սիմբիոզի արդյունքում: Այսպիսի սիմբիոզի ընթացքում ալֆապրոտեոբակտերիայից տեղի է ունեցել գեների զգալի մասի միգրացիա դեպի կորիզային գենոմ, ինչի արդյունքում ձևավորվել են միտոքոնդրիումները գրեթե 1.45 միլիարդ տարի առաջ:

Մարդու մտԴՆԹ օղակաձև մոլեկուլը կազմված է 16.569 նգ, որի >93 % կոդավորող հաջորդականություններ են: Յուրաքանչյուր միտոքոնդրիում պարունակում է օղակաձև մտԴՆԹ >10 կրկնօրինակներ, որոնք տեղակայված են միտոքոնդրիումների մատրիքսում: Այստեղ մտԴՆԹ մոլեկուլները փոխազդում են միաշղթա ԴՆԹ-կապող սպիտակուցի (անգլերեն՝ single-stranded DNA-binding protein, mtSSB) ու տրանսկրիպցիայի գործոնների հետ՝ ձևավորելով նուկլեոիդ:

ՄտԴՆԹ օղակաձև մոլեկուլի կոմպլեմենտար շղթաներում գուանինով հարուստ հաջորդականություններն ունեն անհամաչափ բաշխում: Ուստի մտԴՆԹ մոլեկուլում տարբերում են գուանինով հարուստ ծանր շղթա (H) ու գուանինով աղքատ թեթև շղթա (L): ՄտԴՆԹ-ն ունի 37 գեն (13 սպիտակուցային, 22 փոԴՆԹ, 2 ռԴՆԹ), որոնցից 28-ը տեղակայված են H շղթայում, իսկ 9-ը՝ L-ում: Վերջին տարիներին բացահայտվել են նաև մտԴՆԹ-ով կոդավորվող փոքր պեպտիդներ՝ հումանին, MOTS-c (Mitochondrial

ORF within Twelve S rRNA type-c) ու SHLP1-6 (small Humanin-like peptide, 1 to 6): ՄտՂՆԹ-ն պարունակում է մեկ չկողավորող տեղամաս՝ եռաշղթա D-հանգույց (անգլերեն՝ displacement loop, D-loop), որտում տեղակայված են H շղթայի սինթեզի օրիջինը, և H (HSP1 և HSP2) ու L շղթաների (LSP) տրանսկրիպցիայի պրոմոտորները: L շղթայի օրիջինը տեղակայված է փոՂՆԹ-ների կղզյակում, որտեղից L շղթայի կրկնապատկումը սկսվում է H շղթայի սինթեզից հետո (Նկ. 92):



Նկար 92. Միտոքոնդրիումային ԴՆԹ կառուցվածքը: Ցույց են տրված թեթև և ծանր շղթաներն ու դրանց վրա միտոքոնդրիումների շնչառական շղթայի կոմպլեքսների ենթամիավորները, mԴՆԹ-ներն ու փոՂՆԹ-ները կողավորող գեները: Կոմպլեքս II-ը կողավորվում է քրոմոսոմային ԴՆԹ-ով (պատրաստված է BioRender համակարգով):

Էվոլյուցիայի ընթացքում մարդու կորիզային գենոմում ձևավորվել է երկու խմբի մտՂՆԹ հաջորդականություն՝

- կորիզային ԴՆԹ հաջորդականություններ, որոնք կոդավորում են միտոքոնդրիումների ֆունկցիաների ապահովման համար անհրաժեշտ սպիտակուցներ (մոտ 1.500 սպիտակուց) և բացակայում են միտոքոնդրիումներում,
- կորիզային ԴՆԹ հաջորդականություններ, որոնք մտԴՆԹ կրկնօրինակներ են և կոչվում են կորիզային մտԴՆԹ:

Կորիզային մտԴՆԹ կամ NUMT (անգլերեն՝ nuclear DNA sequences of mitochondrial origin) հաջորդականությունները հայտնաբերվել են սեքվենավորված գրեթե բոլոր կենդանիների գենոմներում: Ֆոտոսինթեթիկ օրգանիզմներում համապատասխան հաջորդականությունները կոչվում են կորիզային պլաստիդային ԴՆԹ (անգլերեն՝ nuclear copies of plastid DNA, NUPT): Մարդու գենոմում առկա են ավելի քան 1600 տարբեր չափ ունեցող NUMT հատվածներ, որոնց քանակը քրոմոսոմներում կոռելացվում է քրոմոսոմի չափի հետ: Հետևաբար քրոմոսոմներում NUMT-երը բաշխված են պատահականորեն. մեծ քրոմոսոմներում առկա են ավելի շատ թվով NUMT-եր, իսկ փոքր քրոմոսոմներում՝ ավելի քիչ: Մարդու կորիզային գենոմում բոլոր NUMT ինսերցիաների երկարությունը կազմում է 400 կնգ, իսկ հանդիպման հաճախականությունը՝ 17 նգ/100 կնգ:

Պրիմատների գենոմների էվոլյուցիոն հետազոտությունները ցույց են տվել, որ առավել հին NUMT ինսերցիաները կորիզային գենոմում ունեն ավելի շատ կրկնօրինակներ՝ համեմատած նոր ինսերցիաների հետ: Մարդու ու շիմպանզեի գենոմների համեմատությունը ցույց է տվել, որ NUMT հաջորդականությունների ավելի քան 80 % օրթոլոգներ են, ինչը նշանակում է, որ դրանց երկու տեսակների մոտ տեղակայված են նույն լոկուսներում և պայմանականորեն կոչվում են «մոլեկուլային բրաժոներ»: Ներկայումս մարդու գենոմում բացահայտվել են ավելի քան 40 NUMT ինսերցիաներ, որոնք սպեցիֆիկ են մարդու գենոմի համար:

NUMT հաջորդականությունները ստեղծում են որոշ բարդություններ գենոմների սեքվենավորման արդյունքների ուսումնասիրման ժամանակ: Օրինակ՝ 1994 թ.՝ բրածոների հետազոտությունների ընթացքում, ԱՄՆ Յուտա նահանգում պեղվել էին 80 միլիոն տարի առաջ ապրած դինոզավրի ոսկրեր: Ոսկրերից անջատված ԴՆԹ-ն ամպլիֆիկացվել և սեքվենավորվել էր, որի արդյունքում հեղինակները բացահայտել էին միտոքոնդրիումային ցիտոքրոմ b կոդավորող գենի մի հատված: Հիմնվելով այս արդյունքների վրա՝ հեղինակները եզրակացրել էին, որ ԴՆԹ նմուշները կարող են պահպանվել միլիոնավոր տարիներ: Հետագա ուսումնասիրությունները բացահայտեցին, որ սեքվենավորված «դինոզավրի ԴՆԹ-ն» մարդու մտԴՆԹ NUMT փսևոդգեն էր, որը հավանաբար հայտնվել էր դինոզավրի մնացորդների նմուշներում անզգույշ աշխատանքի արդյունքում:

Մեծ աղմուկ էր բարձրացրել նաև 2018 թ. կատարված մի աշխատանք, որի հեղինակները եզրակացրել էին, թե մտԴՆԹ-ն կարող է փոխանցվել հաջորդ սերունդներին ոչ միայն մայրական (միածնողական ժառանգում), այլև հայրական գծով (երկծնողական ժառանգում): 2020 թ. ավելի քան 11.000 տրիոնների (մայր, հայր, երեխա) գենոմների սեքվենավորման տվյալների մանրամասն վերլուծությունը ցույց տվեց, որ հայրական կորիզային գենոմով փոխանցված մեզա-NUMT հաջորդականությունները նման են մտԴՆԹ հաջորդականություններին: Այս տվյալները ցույց են տալիս, որ **de novo NUMT ինսերցիաները կարող են լինել ժառանգական**: Այսինքն՝ առաջանում են սեռական բջիջների քրոմոսոմներում: Սակայն հերքում են մտԴՆԹ երկծնողական ժառանգման եզրակացությունը, որի դեպքում մտԴՆԹ-ն պետք է ժառանգվեր երկու ծնողների միտոքոնդրիումներով: Այսպիսով՝ մարդաբանական ուսումնասիրություններում ամբողջական գենոմների սեքվենավորման արդյունքների վերլուծության ժամանակ անհրաժեշտ է տարանջատել մտԴՆԹ-ն և NUMT փսևոդգե-

ները (իսկ գիտական առումով՝ տարանջատել սենսացիոն հայտարարությունները գիտական փաստերից):

NUMT ինսերցիաները կապված են նաև տարբեր հիվանդությունների զարգացման հետ: Առաջին դեպքը նկարագրվել է 2002 թ., երբ 13 տարեկան հիվանդի մոտ բացահայտվել էր արյան կոագուլյացիայի գործոն VII (FVII) կոդավորող գենում մտԴՆԹ 251 նգ ինսերցիան: Ինսերցված հատվածը համապատասխանում էր մտԴՆԹ ֆենիլալանինի փՌՆԹ-ին ու 12S ռՌՆԹ-ի ենթամիավոր կոդավորող հատվածի մի մասին: Մուտացիայի պատճառով խաթարվել էին նորմալ սփլայսինգն ու արյան կոագուլյացիան, ինչի հետևանքով հիվանդի մոտ առաջանում էին հաճախակի արյունահոսություններ:

NUMT ինսերցիաները կարող են դառնալ ժառանգական հիվանդությունների զարգացման պատճառ: Այսպես՝ GLI3 (կոդավորում է ցինկային մատների տիպի սպիտակուց) գենում մտԴՆԹ 72 նգ ինսերցիան դարձել է հազվադեպ հանդիպող աուտոսոմ դոմինանտ Պալիստեր-Հոլլ համախտանիշի առաջացման պատճառ: Ինսերցված հաջորդականությունը համընկնում էր մտԴՆԹ սերինի ու լեյցինի փՌՆԹ-ների հետ վերածածկվող հաջորդականությանը, որի արդյունքում առաջացել էր ստոպ կոդոն: Այս մուտացիան չէր հայտնաբերվել ծնողների GLI3 գենում: Հիվանդի մոտ դրսևորվել էին Պալիստեր-Հոլլ համախտանիշին բնորոշ ախտանիշները՝ պոլիդակտիլիա, հիպոթալամուսի բարորակ ուռուցք (համարտոմա) ու լարինգոէդեմազեալ խաթարված ճեղք: Հաջորդ դեպքը նկարագրվել է IV տիպի մուկոլիպիդոզով տառապող հիվանդի մոտ: Հիվանդությունն առաջացել էր MCOLN1 (կոդավորում է մուկոլին սպիտակուցը) գենում մտԴՆԹ 93 նգ ինսերցիայի արդյունքում, որի պատճառով ձևավորվել էր ստոպ կոդոն, և խաթարվել էր նորմալ սփլայսինգը: Ինսերցված հաջորդականությունը համընկնում էր մտԴՆԹ NADH հիդրոգենազի ենթամիավոր 5 հաջորդականությանը: ՄտԴՆԹ-ի 36 նգ ինսերցիա

USH1C (կողավորում է հարմոնին սպիտակուց) գենում հայտնաբերվել է Աշեր-Հալգրենի համախտանիշով հիվանդի մոտ գենում ստոպ կոդոնի առաջացման պատճառով: Մուտացիայի պատճառով առաջանում է խլություն ու տեսողության աստիճանական կորուստ: Հետաքրքիր է, որ նկարագրված բոլոր հիվանդների մոտ մտԴՆԹ մուտացիաներ չեն հայտնաբերվել:

Իսկ ինչպե՞ս են մտԴՆԹ հաջորդականությունները հայտնվել կորիզային գենոմում: Ո՞ր գործոններն են նպաստում այդ միգրացիային:

Առաջին աշխատանքները կատարվել են 1990-ական թթ. *Saccharomyces cerevisiae* խմորասնկերի մոտ, որոնք կրում էին ուրացիլի կենսասինթեզին մասնակցող *ura3* կորիզային գենի մուտացիա: Մուտացիայի արդյունքում բջիջների աճը դադարում էր կուլտիվացման միջավայրում ուրացիլի բացակայության պայմաններում: Միևնույն ժամանակ աուքսոտրոֆ բջիջներում մուտացիայի էր ենթարկված միտոքոնդրիոմային *COX2* գենը, որն անհրաժեշտ է միտոքոնդրիոմային շնչառության համար: Մուտանտ բջիջները տրանսֆորմացիայի էին ենթարկվում *ura3* ու *COX2* գեները կրող պլազմիդով, որը թույլ է տալիս ընտրանք կատարել ինչպես միտոքոնդրիոմից դեպի կորիզ, այնպես էլ հակառակ ուղղությամբ ԴՆԹ սպոնտան միգրացիայով բջիջները: Սակայն այս մոդելը թույլ չէր տալիս գնահատել մտԴՆԹ ինտեգրման հաճախականությունը: Այդ նպատակով մշակվեց մեկ այլ մոդել, որում տրանսֆորմացիայի պլազմիդները կառուցվել էին մտԴՆԹ ու գծային ԴՆԹ միաձուլմամբ: Բացահայտվեց, որ ինսերցիաների հաճախականությունը կազմում է 10^{-3} մինչև 10^{-4} (կամ 1.000-10.000 բջիջներից մեկը կրում է մտԴՆԹ նոր ինսերցիա): Սակայն դեռևս պարզ չէին ինտեգրման մեխանիզմները կամ ինսերցիաները մակաձող գործոնները: Այս աշխատանքներից տասը տարի անց՝ *Schizosaccharomyces pombe* սնկերի մոտ ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքների ռեպարացիայի մեխանիզմների ուսումնասիր-

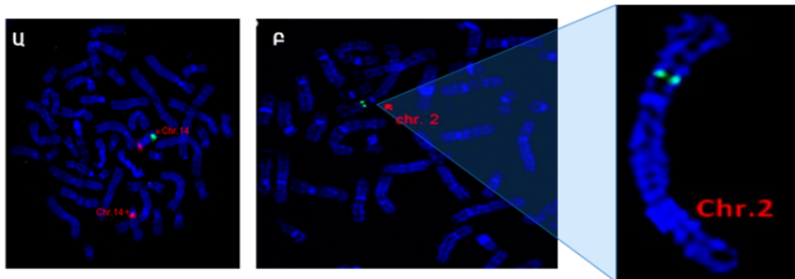
ման ժամանակ, նկատվեց, որ վնասված հատվածներում բարձր հաճախականությամբ ներմուծվում են մտԴՆԹ հաջորդականություններ: Ընդ որում՝ նոր ինսերցիաների առաջացման համար անհրաժեշտ է ոչ հոմոլոգիական ծայրերի կցման Lig4p/Pku70p կոմպլեքսը: Այսպիսով՝ բացահայտվեց նոր գենաթունային գործոն, որի կենսաբանական ազդեցությունը մարդու համար դեռևս պարզ չէր: Միննույն ժամանակ հասկանալի չէր՝ արդյոք այս մեխանիզմները գործում են նաև մարդու բջիջներում:

Վերջին տարիներին գենոմային տեխնոլոգիաների զարգացման շնորհիվ մտԴՆԹ ինսերցիաներ հայտնաբերվել են նաև քաղցկեղային բջիջներում: Օրինակ՝ 587 քաղցկեղային գենոմների ուսումնասիրման արդյունքում բացահայտվել են մտԴՆԹ 25 ինսերցիաներ, որոնք ուղեկցվում էին քրոմոսոմային աբեռացիաներով: Իսկ կրծքագեղձի քաղցկեղով որոշ հիվանդների ուռուցքային բջիջներում նույնականացվել էին մտԴՆԹ մոտ 16.5 կնգ ինսերցիաներ 10q22.3 ու X քրոմոսոմներում: Ընդ որում՝ X քրոմոսոմում մտԴՆԹ ինսերցիայի հատվածում բացահայտվել էր մոտ 20 կնգ դելեցիա: Ցույց է տրվել նաև, որ կորիզային ԴՆԹ ու մտԴՆԹ ինսերցիաների հատվածների միջև կան 1-7 նուկլեոտիդային միկրոհոմոլոգիաներ: Ուստի հեղինակները ենթադրում էին, որ մտԴՆԹ ինսերցիաները հավանաբար կապված են գենոմի անկայունության ու ԴՆԹ վնասվածքների ռեպարացիայի հետ: Հիմնվելով այս աշխատանքների վրա՝ մտԴՆԹ ինսերցիաներն ուսումնասիրվել են գենոմային անկայունության բարձր մակարդակ ունեցող հաստ աղիքի քաղցկեղի բջիջներում: Պարզվել է, որ այս բջիջներում սոմատիկ NUMT հաճախականությունը 4 անգամ ավելի բարձր է՝ համեմատած նորմալ հյուսվածքի բջիջների հետ, ինչը կապված է նաև հիվանդության բացասական ելքի հետ: Միննույն ժամանակ ցույց է տրվել, որ YME1L1 (անգլերեն՝ yeast mitochondrial escape 1-like 1) գենի նոքաուրը մարդու կրծքագեղձի քաղցկեղի բջիջներում նպաստում է NUMT հաճախականության

բարձրացմանը: Ուստի գեների էքսպրեսիան կարող է ազդել այս երևույթի մոլեկուլային կարգավորման վրա: Ներկայումս **նում-տոզենեզը**՝ գենոմում *de novo* NUMT ինսերցիաների առաջացման երևույթը, դիտարկվում է որպես կանցերոզենեզի պատճառներից մեկը: Օրինակ՝ մարդու արգանդի քաղցկեղի ուռուցքներում ցույց են տրվել միտոզենոմի տարբեր հատվածների ինսերցիաներ, որոնք կոռելացվում էին *c-MYC* օնկոգենի էքսպրեսիայի ու չարորակության մակարդակի հետ: Իսկ խիստ ագրեսիվ՝ եռակի բացասական կրծքագեղձի քաղցկեղում (բացասական ըստ էստրոգենի, պրոգեստերոնի և HER2 ընկալիչների գերէքսպրեսիայի) ցույց է տրվել մտԴՆԹ ինսերցիաների ավելի բարձր մակարդակ՝ համեմատած էստրոգեն դրական կրծքագեղձի քաղցկեղի հետ: Ընդ որում՝ այս ինսերցիաները կոռելացվում էին ԴՆԹ վնասվածքների արդյունքում առաջացող քրոմոսոմային վերակառուցումների բարձր մակարդակի հետ: Նման ինսերցիաներ դիտվել են նաև թոքի քաղցկեղի բջիջներում: Հետաքրքիր է, որ որքան բարձր է գենոմային վերակառուցումների մակարդակը, այնքան հաճախ են դիտվում մտԴՆԹ ինսերցիաները, որոնց գերակշռող մասն առաջանում է ինվերսիաների ու տրանսլոկացիաների կտրման հատվածներին կից: Մակայն քաղցկեղի ոչ բոլոր տեսակների ժամանակ են դիտվում մտԴՆԹ ինսերցիաներ: Օրինակ՝ ավելի քան 2650 քաղցկեղային գենոմների հետազոտման արդյունքում չեն բացահայտվել *de novo* մտԴՆԹ ինսերցիաներ երիկամների, էզոֆագոզաստրիկ, լյարդի ու շագանակագեղձի քաղցկեղի դեպքերում: Ուստի տարբեր ուռուցքներ կարող են ունենալ *de novo* մտԴՆԹ ինսերցիաների տարբեր հաճախականություն:

Փորձնականորեն ցույց է տրվել, որ մարդու բջիջներում գենոմային անկայունությունն ու ԴՆԹ վնասվածքները կարող են նպաստել կորիզային մտԴՆԹ ինսերցիաների առաջացմանը: Կարելի է նաև ենթադրել, որ ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքներ մակաձող գենաթույներն ունակ են առաջացնելու մտԴՆԹ-ի ինսեր-

ցիաներ: Մարդու բջիջներում այս վարկածն առաջին անգամ ստուգվել է ԵՊՀ մոլեկուլային բջջագենետիկայի հայ-գերմանական լաբորատորիայի ու Յենայի մարդու գենետիկայի ինստիտուտի աշխատակիցների կողմից FISH մեթոդով: Բացահայտվել է, որ ԴՆԹ երկշղթա կտրվածքներ մակածող հակաքաղցկեղային դեղանյութ դոքսոտուրիցինը զգալիորեն բարձրացնում է մարդու լիմֆոցիտների քրոմոսոմներում մտԴՆԹ ինսերցիաների հաճախականությունը (3-3.5 անգամ) և կոռելացվում է միկրոկորիզների մակարդակի հետ (Նկ. 93): Միննույն ժամանակ այդ ինսերցիաներն ավելի հաճախ են հանդիպում չափերով մեծ քրոմոսոմներում: Այսպիսով՝ ստացվել են կարևոր ապացույցներ, որոնք կապում են մարդու բջիջներում քրոմոսոմային վնասվածքները մտԴՆԹ ինսերցիաների առաջացման՝ նուստոգենեզի ռիսկի հետ:



Նկար 93. ՄտԴՆԹ ինսերցիաները մարդու քրոմոսոմներում (կանաչ գույնի նիշը): (U) ՄտԴՆԹ սպոնտան ինսերցիա ֆենոտիպորեն առողջ մարդու 14q31 քրոմոսոմային լոկուսում և (F) դոքսոտուրիցինով մակածված մտԴՆԹ-ի ինսերցիա 2p21 քրոմոսոմային լոկուսում (Harutyunyan et al., 2020):

Ներկայումս ենթադրվում է, որ կորիզային ԴՆԹ վնասվածքներն ու դրանց ռեպարացիան *de novo* NUMT ինսերցիաների առաջացման հիմնական պատճառն են: Մակայն դեռևս բաց է մնում այն հարցը, թե ինչպես է մտԴՆԹ-ն միտոքոնդրիումներից տեղափոխվում կորիզի մեջ:

Նախորդ դարում տարբեր ուռուցքների բջիջներում էլեկտրոնային մանրադիտակային վերլուծությունը ցույց է տվել, որ կորիզներում կարող են առկա լինել ամբողջական միտոքոնդրիոմներ: Նման արդյունքներ ստացվել են նաև քրոնիկ ալկոհոլիզմով տառապող մարդկանց կարդիոմիոցիտներում: Համաձայն վերջին տարիների պատկերացումների՝ միտոքոնդրիոմները կարող են ներթափանցել կորիզային միջավայր կորիզաթաղանթի ամբողջականության խաթարման դեպքում: Սակայն այս վարկածը դեռևս փորձնականորեն չի ապացուցվել:

Վերջին տարիներին ստացված տվյալներին համաձայն՝ մտԴՆԹ-ն կարող է տեղափոխվել կորիզի մեջ արտաբջջային վեզիկուլների՝ էքզոսոմների միջոցով: Այս երևույթը դիտվել է, երբ ճառագայթահարված բջիջների կուլտիվացման միջավայրով մշակել են չճառագայթված բջիջները, որոնցում հայտնաբերվել են ճառագայթված բջիջների մտԴՆԹ-ի հատվածներ ու ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքների մարկերի՝ γ H2AX-ի մակարդակի բարձրացում:

Այսպիսով՝ մտԴՆԹ-ի ինսերցիաներն առաջանում են սպոնտան ու մակածված ԴՆԹ վնասվածքների ռեպարացման արդյունքում և կարող են ծառայել որպես գենաթունային ազդեցության կենսամարկեր: Սակայն մտԴՆԹ-ի ինսերցիաները կարող են դրսևորել մուտագեն էֆեկտներ և կապված են կանցերոգենեզի հետ, ինչով էլ նման են էնդոգեն գենաթույների:

Գրականության ցանկ

1. Ariyoshi K, Miura T, Kasai K, Fujishima Y, Nakata A, Yoshida M. Radiation-Induced Bystander Effect is Mediated by Mitochondrial DNA in Exosome-Like Vesicles. *Sci Rep.* 2019;9(1):9103.
2. Harutyunyan T, Al-Rikabi A, Sargsyan A, Hovhannisyan G, Aroutiounian R, Liehr T. Doxorubicin-Induced Translocation of mtDNA into the Nuclear Genome of Human Lymphocytes Detected Using a

- Molecular-Cytogenetic Approach. *Int J Mol Sci.* 2020;21(20):7690. Published 2020 Oct 17. doi:10.3390/ijms21207690.
3. Harutyunyan T. The known unknowns of mitochondrial carcinogenesis: de novo NUMTs and intercellular mitochondrial transfer. *Mutagenesis.* 2024;39(1):1-12. doi:10.1093/mutage/gead031.
 4. Hazkani-Covo E, Zeller RM, Martin W. Molecular poltergeists: mitochondrial DNA copies (numts) in sequenced nuclear genomes. *PLoS Genet.* 2010;6(2):e1000834.
 5. Ku C, Nelson-Sathi S, Roettger M, Garg S, Hazkani-Covo E, Martin WF. Endosymbiotic gene transfer from prokaryotic pangenomes: Inherited chimerism in eukaryotes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015; 112(33):10139-10146.
 6. Singh KK, Choudhury AR, Tiwari HK. Numtogenesis as a mechanism for development of cancer. *Semin Cancer Biol.* 2017;47:101-109.

5.11. Արտաբջջային ԴՆԹ

Բջիջներն արտազատում են մի շարք մոլեկուլային գործոններ, որոնց մեծ մասն ուղղակիորեն կամ անուղղակիորեն կերպով մասնակցում է միջբջջային ազդակների փոխանցմանը: Այդպիսի գործոններից է մարդու բոլոր կենսաբանական հեղուկներում հայտնաբերվող արտաբջջային ԴՆԹ-ն (անզլերեն՝ cell-free DNA): Ախտաբանական վիճակի հետ կապված արտաբջջային ԴՆԹ մակարդակի բարձրացում առաջին անգամ դիտվել է 1966 թ. համակարգային կարմիր գայլախտով, 1977 թ. քաղցկեղով հիվանդների արյան մեջ: Հետագայում ցույց տրվեց արտաբջջային ԴՆԹ նշանակությունը որպես ոչ ինվազիվ պրենատալ ախտորոշման համար պիտանի կենսամարկեր, որի հիման վրա մշակվել է հեղուկ բիոփսիան: Այն կիրառվում է նաև օրգանների փոխպատվաստման արդյունավետության գնահատման համար:

Ըստ ծագման՝ տարբերում են գենոմային (կորիզային) ու միտոքոնդրիումային արտաբջջային ԴՆԹ (կա նաև բակտերիալ ար-

տաբջջային ԴՆԹ), որոնք տարբերվում են իրենց կառուցվածքով, կապված սպիտակուցներով, ֆիզիոլոգիական ֆունկցիաներով և որպես մոլեկուլային կենսամարկերներ: Հետաքրքիր է, որ կորիզային արտաբջջային ԴՆԹ հիմնական մասը հանդես է գալիս որպես մոնոնուկլեոտոմային կամ օլիգոնուկլեոտոմային ԴՆԹ, որը կարող է ազատ շրջանառվել կամ լինել արտաբջջային վեզիկուլների կազմում (>90%): Ընդ որում այս վեզիկուլների մեծ մասն ունի 1-10 մկմ տրամագիծ և կարող է պարունակել մինչև 2 մեգանոգ չափ ունեցող նուկլեոտոմային ԴՆԹ: Նուկլեոտոմային արտաբջջային ԴՆԹ-ն կարող է փոխազդել տարբեր բջիջների ու արտաբջջային գործոնների հետ՝ խթանելով կանցերոգենեզն ու մետաստազավորումը:

Նուկլեոտոմի չափերին համապատասխանությունը խոսում է արտաբջջային ԴՆԹ ապոպտոտիկ ծագման մասին: Ավելի երկար՝ >10 կնգ արտաբջջային ԴՆԹ հատվածները կապված են բջջի ներկրոզային մահվան հետ: Իսկ <100 նգ հատվածների ֆրակցիայում գերակշռում են մտԴՆԹ-ի հաջորդականությունները և կարող են ներառել ինչպես ուռուցքային, այնպես էլ բակտերիալ արտաբջջային ԴՆԹ: Վերջին տարիներին հաջորդ սերնդի սերվենավորման հիման վրա ձևավորվել է ֆրագմենտոմիկա գիտական ոլորտը, որն ուսումնասիրում է արտաբջջային ԴՆԹ տարբեր չափ ունեցող հատվածների առաջացման օրինաչափությունները նորմալ ու ախտաբանական վիճակների ժամանակ: Հետաքրքիր է նաև, որ արտաբջջային ԴՆԹ մեթիլացման պրոֆիլի վերլուծությամբ կարելի է բացահայտել դրա հյուսվածքային ծագումը: Տեսականորեն այս երկու մոտեցումների համադրությամբ արտաբջջային ԴՆԹ վերլուծությունը թույլ կտա պարզել ինչպես հյուսվածքի տեսակը, այնպես էլ դրա մահվան ուղին:

Արտաբջջային ԴՆԹ մակարդակը կարող է բարձրանալ վիրուսային ինֆեկցիաների հետևանքով: Հայտնի է, որ արտաբջջային ԴՆԹ հիմնական մասը մարդու կենսաբանական հեղուկ-

ներում առաջանում է ապոպտոզի, ներկրոզի կամ նեոոզի՝ նեյտրոֆիլների ծրագրավորված մահվան հետևանքով: Օրինակ՝ ծանր ընթացքով COVID-19 հիվանդների մոտ ցույց է տրվել, որ նեյտրոֆիլներն արտազատում են նեյտրոֆիլային արտաբջջային թակարդներ (անզլերեն՝ neutrophil extracellular traps, NETs)՝ քրոմատինային թելիկներ, որոնք կարող են խթանել թրոմբոէմբոլիկ վիճակները: Իսկ արտաբջջային մտԴՆԹ-ն խթանում է բորբոքային պրոցեսը: Ուստի պարզ է, որ արտաբջջային ԴՆԹ-ն բջջաթունային ազդեցության կենսամարկեր է: Սակայն վերջին տարիներին կատարվել են մի շարք աշխատանքներ՝ պարզելու համար արտաբջջային ԴՆԹ-ի՝ որպես գենաթունային ազդեցության կենսամարկերի նշանակությունը: Ընդ որում՝ բնակչության կենսամոնիթորինգի ոլորտում այն կարող է դառնալ որպես հեշտ հասանելի մոլեկուլային գործիք և թույլ կտա միաժամանակ վերլուծել մեծ թվով անհատների տվյալներ:

Հետաքրքիր արդյունքներ են ստացվել իսպանացի գիտնականների կողմից, որոնք բացահայտել են արտաբջջային ԴՆԹ մակարդակի բարձրացում ավտոմեքենաների ներկամաբ զգալվող մարդկանց արյան մեջ: Ավելին, պարզվել է, որ արտաբջջային ԴՆԹ մակարդակը կոռելացվում է ԴՆԹ կոմետների մակարդակի հետ: Ենթադրվում է, որ դրա պատճառը կարող են լինել ներկում առկա օրգանական լուծիչները: Հետագայում ցույց է տրվել նաև արտաբջջային ԴՆԹ ու ՄԿ մակարդակների բարձրացում պեստիցիդների ազդեցությանը ենթարկված ջերմոցների աշխատակիցների մոտ: Արտաբջջային մտԴՆԹ մակարդակի բարձրացում հայտնաբերվել է նաև ճառագայթային մեթոդներին առնչվող բուժաշխատողների, ճառագայթահարված հիվանդների ու գենաթունային հակաքաղցկեղային դեղամիջոցներով (օրինակ՝ դոքսոռուբիցին, էտոպոզիդ) բուժվող հիվանդների արյան մեջ: Վերջերս ավստրիացի գիտնականներն առաջարկել են հետաքրքիր վարկած, համաձայն որի՝ ՄԿ-ները կարող են լինել արտաբջջային

ԴՆԹ առաջացման աղբյուր: Քանի որ ՄԿ-ները կրում են ԴՆԹ հատվածներ, իսկ դրանց թաղանթը հաճախ վնասվում է, ապա դրանց պարունակությունը կարող է հայտնվել արտաբջջային միջավայրում: Սակայն այս հիպոթեզի փորձարարական ապացույցները դեռևս բացակայում են:

Այսպիսով՝ արտաբջջային ԴՆԹ-ն գենաթունային ազդեցության խոստումնալից կենսամարկեր է, որի ուսումնասիրման ստանդարտացումն ու առաջացման մեխանիզմների պարզաբանումը կարող են նպաստել նոր գենաթունաբանական գործիքի մշակմանը: Ապագայում հավանաբար հնարավոր կլինի նույնականացնել գենաթունաբանական մշտադիտարկման համար պիտանի արտաբջջային ԴՆԹ-ի կամ արտաբջջային մոԴՆԹ-ի որոշակի հաջորդականություններ:

Գրականության ցանկ

1. Grabuschnig S, Bronkhorst AJ, Holdenrieder S, et al. Putative Origins of Cell-Free DNA in Humans: A Review of Active and Passive Nucleic Acid Release Mechanisms. *Int J Mol Sci.* 2020;21(21):8062.
2. Hovhannisyan G, Harutyunyan T, Aroutiounian R, Liehr T. The Diagnostic, Prognostic, and Therapeutic Potential of Cell-Free DNA with a Special Focus on COVID-19 and Other Viral Infections. *Int J Mol Sci.* 2023;24(18):14163.
3. Kustanovich A, Schwartz R, Peretz T, Grinshpun A. Life and death of circulating cell-free DNA. *Cancer Biol Ther.* 2019;20(8):1057-1067.
4. Villalba-Campos M, Ramírez-Clavijo SR, Sánchez-Corredor MC, et al. Quantification of cell-free DNA for evaluating genotoxic damage from occupational exposure to car paints. *J Occup Med Toxicol.* 2016;11:33.

6. Գենաթունաբանական թեստավորման սկզբունքները

Մարդու շրջակա միջավայրում առկա են բազմաթիվ բնական ծագման ու մարդածին գործոններ, որոնց թունաբանական ռիսկի գնահատման համար կիրառվում են միջազգային չափանիշներին համապատասխան թեստեր: Գենաթունայնության գնահատումը կազմում է ցանկացած տեսակի նյութերի անվտանգության գնահատման կարևոր բաղադրիչը: Գենաթունային էֆեկտները գնահատելու համար գոյություն ունեն մի շարք *in vitro* թեստեր, որոնք տարբեր փուլերում են մշակման ու ընդունման տեսանկյունից, սակայն ներկայումս դրանք բավարար չեն համարվում՝ կենդանիների վրա փորձարկումները լիովին փոխարինելու համար, որոնք անհրաժեշտ են նյութերի անվտանգության համապարփակ գնահատման նպատակով:

Փամանակակից գենաթունաբանական թեստավորման հարացույցը (պարադիգմա) ներառում է երկու առանցքային ուղղություն՝

- գենաթունային ռիսկի գնահատում ստանդարտ թեստմարտկոցների կիրառմամբ,
- գենաթունային ազդեցության մոլեկուլային մեխանիզմների վերլուծություն:

Գենաթունային ռիսկի գնահատման համար վերլուծվում են պրեդիկտիվ (կանխատեսող) նշանակությամբ գենաթունաբանական վերջնարդյունքները (օրինակ՝ գենային մուտացիաներ, քրոմոսոմային արեռացիաներ, միկրոկորիզներ) *in vitro* և *in vivo* համակարգերում: Այդ նպատակով կիրառվում են վալիդացված մեթոդներ, որոնց լաբորատոր ընթացակարգերը հաստատվել են OECD, ECVAM (անգլերեն՝ the European Centre for the Validation of Alternative Methods), ICCVAM (անգլերեն՝ the Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods) և միջազգային մի շարք այլ կազմակերպությունների կողմից:

Լաբորատոր ընթացակարգերը ներառում են՝

- գենաթունաբանական վերջնարդյունքները,
- դրանց բացահայտման ու տվյալների վիճակագրական վերլուծության մեթոդները,
- կիրառվող սարքավորումների տեսակները,
- բջիջների ու կենդանիների գծերը,
- բջիջների կուլտիվացման կամ կենդանիներին պահելու պայմանները,
- թեստավորվող նյութի կոնցենտրացիաների ընտրության կարգը, լուծիչները,
- դրական ու բացասական ստուգիչները,
- արդյունքների վերլուծության, մեկնաբանման ու ներկայացման կարգը:

Այսպիսի մոտեցումը թույլ է տալիս ստանալ **բարձր վերաբ-տադրողականությամբ հավաստի տվյալներ**, որոնք հնարավորություն են տալիս կանխատեսելու մարդու համար պոտենցիալ ռիսկը: Օրինակ՝ մարդու բջիջներում գենային մուտացիաներ մակածող քիմիական միացությունների բացահայտման համար կիրառվում է *in vitro* HPRT թեստը: Այդ նպատակով կարելի է կիրառել միայն TK6 մարդու լիմֆոբլաստոիդ բջջային գիծը, որը, ըստ HPRT գենի ինակտիվացնող մուտացիայի (OECD TG 476), հետերոզիգոտ է: Եթե տվյալ մոդելը չի բավարարում հետազոտության խնդիրներին, ապա պետք է մշակել նոր մոդել, որի համապատասխանությունը քննարկվում է վալիդացման գործընթացներով զբաղվող միջազգային կազմակերպությունների կողմից (սևում է >10 տարի):

Գենաթունային ազդեցության **մոլեկուլային մեխանիզմների վերլուծությունը** թույլ է տալիս բացահայտել տարբեր գործոնների մոլեկուլային թիրախները՝ մշակելով նոր մեթոդներ ռիսկի գնահատման համար: Այնուհետև գնահատվում է գենաթունաբանական թեստավորման համար այս մեթոդների ու վերջնարդ-

յունքների վալիդությունը երկու եղանակով՝ պրոսպեկտիվ (նոր փորձերի իրականացում ու արդյունքների վերլուծություն) և ռետրոսպեկտիվ (վերլուծվում են նախկինում ստացված արդյունքները) ուսումնասիրությունների միջոցով: Ռիսկի գնահատման ստանդարտ ընթացակարգերի ու քիմիական միացության մոլեկուլային մեխանիզմների վերլուծության հիման վրա մշակվում են պրեդիկտիվ *in silico* մոդելներ: Նման մոտեցումը խիստ արդիական է ժամանակակից տոքսիկոգենոմիկայում, որը թույլ է տալիս դասակարգել չթեստավորված գենաթույները՝ հիմնվելով դրանց կառուցվածքի ու գեների էքսպրեսիայի պրոֆիլների վերլուծության վրա: Տարբեր նյութերի մոլեկուլային մեխանիզմների վերլուծության սովյալները կարող են զուգահեռաբար կիրառվել նաև թեստ-մարտկոցներում, ինչը թույլ է տալիս նվազեցնել *in vivo* փորձարկումների քանակը:

Թունաբանության արդի խնդիրներից մեկը *in vivo* փորձարկումների կրճատումն է *in vitro* ու *in silico* մեթոդների միջոցով: Գենաթունային ակտիվության ավանդական թեստավորման հարացույցը բարելավելու նպատակով վերջին տարիներին իրականացվել են մի շարք աշխատանքներ: Դրանց թվում են առկա թեստերի կատարելագործումը, նոր թեստերի մշակումը, ինչպես նաև *in vitro* փորձարկումների ճշգրտությունը բարձրացնող մեթոդների ներդրումն ու ուսումնասիրությունը: Բացի դրանից՝ այս ոլորտի առաջխաղացմանը աջակցելու համար մշակվել են օգտակար գործիքներ, օրինակ՝ քիմիական միացությունների և դրանց կենսաբանական թիրախների ու էֆեկտների տեղեկադարաններ:

ԱՄՆ FDA գործակալությունն ու NIH-ը սկսել են *in vivo* թեստավորումների կրճատմանը միտված նոր աշխատանքներ, որոնք նվազագույնի կհասցնեն, իսկ ապագայում կվերացնեն կենդանիների վրա թեստավորումները: Այս նոր մոտեցումը կոչվում է «մարդու վրա հիմնված լաբորատոր մոդելներ» (անգլերեն՝ Human-Based Lab Models):

Ներկայումս վերջնական եզրակացություն չի կայացվել կենդանիներից մարդուն տվյալների էքստրապոլյացիայի արդյունավետության վերաբերյալ, հատկապես այնպիսի հիվանդությունների դեպքում, ինչպիսիք են Ալցհեյմերի հիվանդությունն ու քաղցկեղը: Թեև մարդն ու թեստավորման համար կիրառվող կենդանիները ունեն ընդհանուր գեներ, օրգանների ու օրգանային համակարգերի գործառույթներում կարող են լինել տարբերություններ, որոնք սահմանափակում են էքստրապոլյացիայի արդյունավետությունը: Այս տարբերությունները լիովին հասկանալի են, քանի որ մարդու ու կենդանիների բջիջներում գործում են նույն կամ նման գեների տարբեր համակցություններ՝ տարբեր էքսպրեսիվությամբ ու տարբեր գենոմային համատեքստով: Միևնույն ժամանակ գենոմի ու դրա հետ փոխազդող գործոնների համակցություններն էլ կարող են տարբերվել մարդու ու կենդանիների բջիջներում:

Ներկայումս գոյություն չունի այնպիսի մոտեցում, որը կարող է լիովին փոխել կենդանական մոդելն իդեալական մարդու մոդելով: Խնդիրն այն է, որ անհրաժեշտ է մշակել մարդու հիվանդությունների առավել ճշգրիտ մոդելներ, որոնք հիմնված կլինեն մարդու կենսաբանության ու կլինիկական հետազոտությունների արդյունքների վրա: Այս դեպքում թեստավորման պատասխանները կստացվեն առանձին «հատվածներով», որոնց համադրումը կգեներացնի ընդհանուր պատասխան: Դա նման է մարդու գենոմի սեքվենավորման համար կիրառված «shot gun» մեթոդին, որի ժամանակ մեծ ինֆորմացիա կրող գենոմը տրոհել էին ավելի կարճ հաջորդականությունների: Այնուհետև հետազոտվել էին առանձին հատվածները ու վերակցվել՝ ընդհանուր պատկեր ստանալու համար: Փորձարարական տվյալները ցույց են տվել այս մոտեցման արդյունավետությունը: Ապագայում դրա կիրառումը զգալիորեն կբարձրացնի դեղանյութերի թեստավորման ճշգրտությունը՝ խթանելով դրանց արտադրությունը:

Կարևոր նշանակություն ունի նաև թեստավորման համար միացությունների ընտրության սկզբունքը: Ներկայումս, ըստ առաջնահերթության, առաջարկվում է թեստավորել քիմիական միացությունների հետևյալ խմբերը.

1. լայնածավալ արտադրության քիմիական միացություններ (օրինակ՝ արդյունաբերական նյութեր, պեստիցիդներ և գյուղատնտեսական այլ նշանակության նյութեր),

2. շրջակա միջավայրում կուտակվող կայուն միացություններ (օրինակ՝ քլոր պարունակող արոմատիկ միացությունները, հատկապես՝ դիօքսինները),

3. մարդու կողմից սպառման համար նախատեսված միացություններ (օրինակ՝ դեղեր, սննդային հավելումներ, կոսմետիկ միջոցներ և այլն),

4. հայտնի մուտագենների քիմիական կառուցվածքին համապատասխանող միացություններ:

Այս միացությունները, ըստ իրենց կենսաբանական ազդեցության մեխանիզմների ու գենաթունային էֆեկտների, խիստ բազմազան են: Ներկայումս չկա այնպիսի մեթոդ, որը թույլ կտար բացահայտել բոլոր տիպի գենաթունային ազդեցության կենսամարկերները: Ուստի ռիսկի գնահատման նպատակով կիրառում են *in vitro* ու *in vivo* վալիդացված թեստերի համալիրներ՝ **թեստ-մարտկոցներ**, որոնք թույլ են տալիս բացահայտել գենաթունաբանական տարբեր վերջնարդյունքներ:

6.1. Գենաթունաբանական թեստ-մարտկոցներ

Տարբեր գործոնների գենաթունային էֆեկտները գնահատելու համար մշակվել են կենսաբանական համապատասխան վերջնարդյունքներ:

Գենային մուտացիաներ՝

- կետային մուտացիաներ,
- եզակի նուկլեոտիդային ինսերցիաներ ու դելեցիաներ (ընթերցման շրջանակի մուտացիաներ (անզլերեն՝ frameshift)):

Կառուցվածքային քրոմոսոմային արեռացիաներ՝

- դելեցիաներ, դուպլիկացիաներ, ինվերսիաներ, փոխանակային խաթարումներ և այլն,
- կլաստոգեն էֆեկտ:

Գենոմային կամ քանակական քրոմոսոմային արեռացիաներ՝

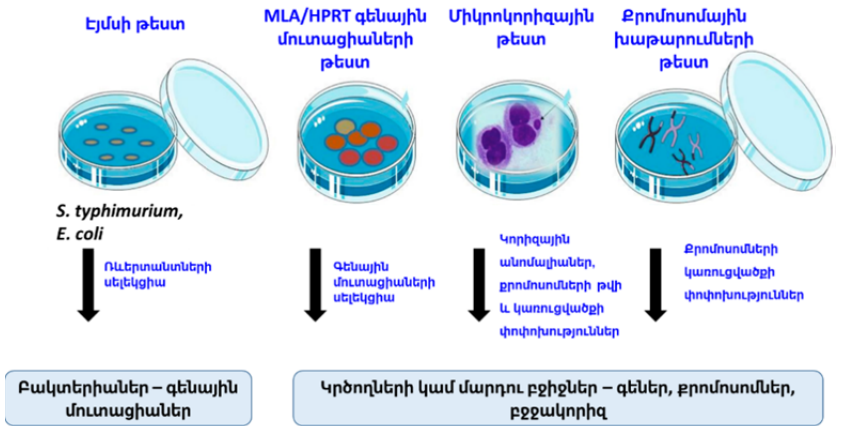
- անեուպլոիդիա (օրինակ՝ $2n+1$, $2n-1$),
- պոլիպլոիդիա (օրինակ՝ $3n$, $4n$):

Վերը նշված բոլոր խաթարումները կարող են առաջանալ քիմիական միացությունների ու ճառագայթման ազդեցությամբ և հանդիպում են քաղցկեղի տարբեր տեսակների ժամանակ: Ուստի ռիսկի գնահատումն իրականացնում են *in vitro* ու *in vivo* թեստ-մարտկոցների միջոցով, որոնցում յուրաքանչյուր թեստին համապատասխան ուղեցույցները մշակվել են OECD-ի կողմից: Միևնույն ժամանակ անհրաժեշտ է հիշել, որ շրջակա միջավայրի գործոնների թունաբանական հետազոտությունների սկզբունքները, ինչպիսին են, օրինակ, ազգային թունաբանական ծրագրերը (անզլերեն՝ national toxicology programs, NTP), կարող են տարբերվել դեղերի արտադրության նախակլինիկական փորձարկումների թունաբանական հետազոտություններից: Օրինակ՝ NTP ընթացքում նկատի են ունենում բոլոր տիպի թունաբանական հետազոտությունների արդյունքները՝ առանց սահմանափակելու բջջային կուլտուրաների ու կենդանիների գծերը, մինչդեռ դեղանյութերի

թեստավորման ժամանակ կիրառվում են միայն վալիդացված *in vitro* ու *in vivo* մոդելներ:

Վալիդացված *in vitro* գենաթունաբանական թեստերը թույլ են տալիս բացահայտել գենային ու բջջագենետիկական խաթարումները և ներառում են (Նկ. 94)`

- բակտերիալ հետադարձ մուտացիաների կամ էյմսի թեստը (OECD TG 471),
- կաթնասունների քրոմոսոմային աբեռացիաների թեստը (OECD TG 473),
- կաթնասունների գենային մուտացիաների թեստը (OECD TG 476 [HPRT/XPRT] և TG 490 [MLA/TK]),
- կաթնասունների միկրոկորիզային թեստը (OECD TG 487):



Նկար 94. Վալիդացված *in vitro* գենաթունաբանական թեստերն ու գնահատվող կենսաբանական վերջնարդյունքները (Corvi and Madia, 2017):

Նշված *in vitro* համակարգերում բացակայում են ֆարմակոկինետիկայի՝ կլանման, բաշխման, մետաբոլիզացման ու էքսկրեցիայի մեխանիզմները, որոնք առկա են կենդանի օրգանիզմներում: Ուստի որոշ *in vivo* գենաթույներ չեն հայտնաբերվում *in vitro* թեստերի միջոցով: Այդ նպատակով մշակվել և վալիդացվել

են *in vitro* թեստերի գենաթունաբանական վերջնարդյունքներին համապատասխան *in vivo* համակարգեր:

Վալիդացված *in vivo* գենաթունաբանական թեստերը թույլ են տալիս գնահատել գենային ու բջջագենետիկական խաթառումները կրծողների բջիջներում՝ ներառելով՝

- կաթնասունների էրիթրոցիտների միկրոկորիզային թեստը (OECD TG 474),
- կաթնասունների ոսկրածուծի քրոմոսոմային աբեռացիաների թեստը (OECD TG 475),
- տրանսգեն կրծողների սոմատիկ ու սեռական բջիջների գենային մուտացիաների թեստը (OECD TG 488),
- կաթնասունների հիմնային ԴՆԹ-կոմետ թեստը (OECD TG 489):

Գենաթունային ռիսկի գնահատման բոլոր վալիդացված թեստերի պրեդիկտիվ ունակությունը հաստատվել է փորձնական ճանապարհով: Օրինակ՝ ցույց է տրված, որ էյմսի բակտերիալ թեստում դրական էֆեկտով միացությունների գրեթե 80 % դրսևորում է կանցերոգեն ակտիվություն կրծողների *in vivo* մոդելներում:

Թեստ-մարտկոցում թեստերի համակցությունների հետ կապված կարգավորումները կարող են տարբերվել՝ կախված քիմիական միացության տեսակից ու երկրից: ԱՄՆ FDA կազմակերպության մարդու օգտագործման համար նախատեսված դեղանյութերի գենաթունաբանական թեստավորման S2(R1) ուղեցույցում նշվում են թեստ-մարտկոցների երկու տարբերակներ, որոնք հավասարաչափ ընդունելի են:

Տարբերակ 1

- էյմսի գենային մուտացիաների բակտերիալ թեստ:
- Քրոմոսոմային աբեռացիաների (կա՛մ միկրոկորիզային թեստ) զջջագենետիկական թեստ *in vitro*, կա՛մ մկների

լիմֆոմայի թիմֆոնին կինազի (TK) մուտագիաների թեստ *in vitro*:

- Կրծողների հեմատոպոետիկ բջիջների քրոմոսոմային աբեռացիաների կամ միկրոկորիզային թեստ *in vivo*:

Տարբերակ 2

- Էյմսի գենային մուտագիաների բակտերիալ թեստ:
- Գենաթունայնության *in vivo* գնահատում երկու տարբեր հյուսվածքների կիրառմամբ: Առավել հաճախ կիրառում են կրծողների հեմատոպոետիկ բջիջների միկրոկորիզային թեստը *in vivo* և մեկ այլ *in vivo* թեստ, օրինակ՝ ԴՆԹ վնասվածքների մակարդակի գնահատում լյարդի բջիջներում:

Գենաթունաբանական թեստավորման աշխատանքների հիմնական մասն իրականացվել է առաջին տարբերակի կիրառմամբ, սակայն երկու տարբերակներն էլ համարժեք են: Եթե *in vitro* թեստում ստացվում են դրական արդյունքներ, ապա երկու *in vivo* թեստերի (տարբեր հյուսվածքներում) բացասական արդյունքները հիմք են դառնում՝ գենաթունային ակտիվության բացակայության մասին եզրակացություն անելու համար: Եթե առկա են բավականաչափ տեղեկություններ թեստավորվող նյութի ազդեցության մեխանիզմների վերաբերյալ (թթվածնի ակտիվ ռադիկալների մակաձում, բջջային ցիկլի խաթարում, կառուցվածքային առանձնահատկություններ), ապա *in vitro* թեստի դրական արդյունքները կարող են հերքվել կամ հաստատվել միայն մեկ *in vivo* թեստի միջոցով: Օրինակ՝ քրոմոսոմային խաթարումներ մակաձող միացությունը կարող է չդասակարգվել ԴՆԹ վնասվածքներ առաջացնող գործոնների շարքում (օրինակ՝ նյութի կառուցվածքային վերլուծության շնորհիվ), եթե բացասական է էյմսի թեստում ու ԴՆԹ վնասվածքների գնահատման թեստերում կամ ունի անուղղակի ազդեցության մեխանիզմ, որն էական չէ *in vivo* պայմաններում:

Գրականության ցանկ

1. Abilev SK, Glaser VM. Genetic toxicology: findings and challenges. *Genetika*. 2013;49(1):81-93. doi: 10.7868/s0016675813010025.
2. Corvi R, Madia F. *In vitro* genotoxicity testing-Can the performance be enhanced?. *Food Chem Toxicol*. 2017;106(Pt B):600-608. doi:10.1016/j.fct.2016.08.024.
3. Groff K, Evans SJ, Doak SH, et al. *In vitro* and integrated *in vivo* strategies to reduce animal use in genotoxicity testing. *Mutagenesis*. 2021;36(6):389-400. doi:10.1093/mutage/geab035.
4. Kandárová H, Letašiová S. Alternative methods in toxicology: pre-validated and validated methods. *Interdiscip Toxicol*. 2011 Sep;4(3):107-13. doi: 10.2478/v10102-011-0018-6.
5. Landsiedel R, Honarvar N, Seiffert SB, Oesch B, Oesch F. Genotoxicity testing of nanomaterials. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*. 2022;14(6):e1833. doi:10.1002/wnan.1833.

6.2. Գենաթունաբանական թեստավորման ուղեցույցների մշակման խնդիրները

Չնայած նրան, որ մշակվել և միջազգայնորեն ընդունվել են գենաթունային ռիսկի գնահատման համար մի շարք *in vitro* մեթոդներ, ներկայումս դրանք չեն կարող լիովին փոխարինել *in vivo* թեստերը: Ուստի նոր մեթոդների ու մոտեցումների մշակումը արդի խնդիր է: Գոյություն ունեցող *in vitro* մեթոդներն ունեն բարձր զգայնություն (ցածր է կեղծ բացասական արդյունքների տոկոսը), սակայն համեմատաբար ցածր սպեցիֆիկություն (բարձր է կեղծ դրական արդյունքների տոկոսը): Դրա հետևանքով ստացված արդյունքների հաստատման համար *in vivo* փորձարկումների քանակն ավելանում է: Այս խնդրի լուծման համար առաջարկվում է մշակել նոր ուղեցույցներ, որոնցում կնշվեն կեղծ դրական արդյունքների առաջացման մեխանիզմները, որոնք էա-

կան չեն մարդու օրգանիզմի համար: Այսպես, ցույց է տրվել, որ կեղծ դրական արդյունքների քանակը կարելի է նվազեցնել՝

- կիրառելով p53 կոմպլեքսն ստացված մարդու բջիջներ,
- կիրառելով բջջային պրոլիֆերացիայի վրա հիմնված բջջաթունայնության չափանիշներ,
- մանրակրկիտ ստուգելով ու նկարագրելով բջիջների ծագումն ու դրանց կուլտիվացման պայմանները,
- թեստավորելով նվազեցված արդյունավետ կոնցենտրացիայի պայմաններում:

Վերջին տասնամյակի ընթացքում կատարված նման աշխատանքների արդյունքները քննարկվել են OECD կողմից, որոնց հիման վրա խմբագրվել և զգալիորեն բարելավվել են գենաթունաբանական թեստավորման ներկայիս ուղեցույցները: Նման մոտեցումը թույլ է տվել զգալիորեն կրճատել *in vivo* փորձերի քանակը: Օրինակ՝ երբեմն թույլատրվում է օգտագործել մեկ սեռի կենդանիներ կամ փոքրաքանակ կենդանիների խմբեր, եթե հայտնի են տվյալ միացության մոլեկուլային մեխանիզմների վերաբերյալ փորձնական կամ *in silico* արդյունքներ:

Քիմիական միացությունների գենաթունային ռիսկի լիարժեք գնահատման նպատակով խորհուրդ է տրվում *in vitro* թեստմարտկոցում ընդգրկելու երեք վերջնարդյունքներ՝ գենային մուտացիաների գնահատում բակտերիաներում, գենային մուտացիաների գնահատում կաթնասունների բջիջներում, քրոմոսոմային աբեռացիաների կամ միկրոկորիզների մակարդակի գնահատում կաթնասունների բջիջներում: Նման թեստ-մարտկոցը թույլ է տալիս գնահատել գենային մուտացիաները, կառուցվածքային ու քանակական քրոմոսոմային աբեռացիաները:

Հարկ է նշել, որ երեք թեստերի համակցումը բարձրացնում է թեստ-մարտկոցի զգայնությունը, սակայն նվազեցնում է սպեցիֆիկությունը: Ներկայումս սպեցիֆիկության բարձրացման համար առաջարկվում է կիրառել երեք գենաթունային վերջնարդ-

յունքով երկու թեստերի համակցում՝ էյմսի բակտերիալ ու կաթնաստանների միկրոկոորիզային թեստերը: Այս մոտեցումը զգալիորեն նվազեցնում է թեստավորման հետագա փուլերում կենդանիների կիրառման անհրաժեշտությունը: Այս դեպքում թեստավորվող միացության վերաբերյալ վերջնական եզրակացություն անելիս առաջնորդվում են նաև դրա ազդեցության մեխանիզմների վերաբերյալ տեղեկատվությամբ: Այսպիսով՝ տարբեր մեթոդների համակցությունն ու թեստավորվող միացության մեխանիստական վերլուծությունը զգալիորեն ազդում են գենաթունաբանական թեստավորման արդյունքների վրա:

Թեստավորման արդյունքները կախված են նաև բջիջների կայունությունից: *In vitro* թեստավորման ժամանակ հաճախ կիրառվում են ԴՆԹ ռեպարացիայի խաթարումներով կրծողների բջջային գծեր: Օրինակ՝ CHO-K1 և CHO-WBL բջջային գծերում (չինական համատերի ձվարանների քաղցկեղ) դիտվել են գենոմի կայունության պահպանմանը մասնակցող TP53 գենի մուտացիաներ ու բջջային ցիկլի G1 չեքփոփնթի խաթարում, իսկ V79 (չինական համատերի թոքերի բջիջներ) ու L5178Y (մկների լիմֆոմայի բջիջներ) բջջային գծերում դիտվել է թերֆունկցիոնալ p53 սպիտակուց: Նման բջջային մոդելներն ունեն բարձր զգայնություն, սակայն կարող են դառնալ կեղծ դրական արդյունքների պատճառ:

Կարևոր նշանակություն ունի նաև տեսակային սպեցիֆիկության խնդիրը: Օրինակ՝ միևնույն պրոգենիտոր բջջից ստացված մարդու լիմֆոբլաստոիդ լեյկեմիայի երկու բջջային գծերում՝ p53-ֆունկցիոնալ (TK6) և p53-թերֆունկցիայով (WTK-1), թեստավորել են 14 գենաթունային միացություններ միկրոկոորիզային ու TK գենի ինակտիվացման մուտացիաների թեստերի միջոցով: Ստացված արդյունքները համեմատել են կրծողների մոտ այս միացությունների գենաթունային էֆեկտների հետ: Բացահայտվել է, որ հեքսամեթիլֆոսֆորամիդն ու 5-ֆլյուրոուրազիլը բարձ-

րացնում են քրոմոսոմային վնասվածքների ու գենային մուտացիաների հաճախականությունը կրծողների բջիջներում, մինչդեռ մարդու բջջային գծերում գենաթունային էֆեկտներ չեն դիտվել: Հետաքրքիր է, որ p53-ի կարգավիճակը զգալիորեն չի ազդում միկրոկորիզային թեստի արդյունքների վրա, մինչդեռ հակառակ ազդեցությունն է դիտվում TK թեստում:

Կեղծ դրական էֆեկտներ կարող են ստացվել նաև միջլարբառտոր թեստավորումների ժամանակ կուլտիվացման տարբեր միջավայրեր օգտագործելու արդյունքում: Օրինակ՝ CHO բջիջներում էպիգալոկատեխին գալատը (ԷԳԿԳ) դրսևորում է տարբեր աստճանի բջջաթունային ու կլաստոգեն էֆեկտներ: Դա պայմանավորված է այդ միջավայրերում ԷԳԿԳ մասնակցությամբ քիմիական ռեակցիաների արդյունքում առաջացած ջրածնի գերօքսիդի տարբեր մակարդակներով:

Հարկավոր է հիշել նաև, որ կան սպեցիֆիկ ազդեցության մեխանիզմներ կամ մետաբոլիզացման ուղիներ ունեցող փոքրաքանակ միացություններ (նաև կանցերոգեններ), որոնք կարող են կեղծ բացասական արդյունքներ դրսևորել ստանդարտ թեստավորման ժամանակ: Այդպիսի միացություններից են՝

- բենզենը (IARC 1 խմբի կանցերոգեն) չի դրսևորում *in vitro* մուտագեն ակտիվություն գլխավորապես առնետի լյարդի S9 ֆրակցիայում CYP2E1 ֆերմենտի ցածր մակարդակի պատճառով:
- ուրեթանը կամ էթիլ կարբամատը (IARC 2A խմբի կանցերոգեն) հանգեցնում է կեղծ բացասական արդյունքի տարբեր բջջային գծերի միկրոկորիզային թեստերում:
- պրոկարբազինը (IARC 2A խմբի կանցերոգեն) հանգեցնում է կեղծ բացասական արդյունքի Էյմսի ու մարդու լիմֆոցիտների միկրոկորիզային թեստերում:

Այսպիսով՝ կան մի շարք գործոններ, որոնք կարող են ազդել ստանդարտ *in vitro* թեստերի կանխատեսող արդյունավետության վրա: Նման դեպքերում առանձնապես կարևոր է թեստավորվող միացության զենաթունայնության մեխանիզմների մասին տեղեկատվությունը, որի հիման վրա եզրակացություն է արվում *in vivo* պայմանների համար ստացված արդյունքների նշանակության մասին:

Գրականության ցանկ

1. Corvi R, Madia F. *In vitro* genotoxicity testing. Can the performance be enhanced? Food Chem Toxicol. 2017;106(Pt B):600-608.
2. Martus HJ, Zeller A, Kirkland D. International Workshops on Genotoxicity Testing (IWGT): Origins, achievements and ambitions. Mutat Res Rev Mutat Res. 2023;792:108469.
3. Nesslany F. The current limitations of *in vitro* genotoxicity testing and their relevance to the *in vivo* situation. Food Chem Toxicol. 2017;106(Pt B):609-615.
4. Schoeny R, Cross KP, DeMarini DM, et al. Revisiting the bacterial mutagenicity assays: Report by a workgroup of the International Workshops on Genotoxicity Testing (IWGT). Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen. 2020;849:503137.

7. Գենաթունաբանական թեստավորման ստանդարտ մեթոդներ

Մարդու առողջության վրա բացասական ազդեցությամբ գենետիկական խաթարումները ներառում են ԴՆԹ միաշղթա ու երկշղթա վնասվածքներ, գենային մուտացիաներ, քրոմոսոմների կառուցվածքային ու քանակական արեռացիաներ, որոնք բացահայտվում են *in vitro* ու *in vivo* գենաթունաբանական թեստերի կիրառմամբ: Ներկայումս հայտնի են բազմաթիվ գենաթունաբանական կենսամարկերներ, որոնցից միայն սահմանափակ թվով գենետիկական վերջնարդյունքներն են վալիդացվել ու կիրառվում գենաթունաբանական թեստավորման նպատակով: Դրա հիմնական պատճառներից են հետազոտվող գենետիկական վերջնարդյունքների վերարտադրելիությունը, թեստերի սպեցիֆիկությունն ու դրանց զգայնությունը, որոնք թույլ են տալիս կազմել պրեդիկտիվ մոդելներ: Այս թեստերը կոչվում են նաև կարճաժամկետ թեստեր, որոնք պայմանականորեն կարելի է բաժանել երկու խմբի՝

- ուղղակի գենաթունաբանական թեստեր, որոնք թույլ են տալիս բացահայտել առավել վտանգավոր գենաթունային խաթարումները (գենային մուտացիաներ ու քրոմոսոմային վնասվածքներ),
- անուղղակի գենաթունաբանական թեստեր, որոնք թույլ են տալիս բացահայտել վտանգավոր գենաթունային խաթարումներին հանգեցնող ԴՆԹ վնասվածքները (օրինակ՝ ԴՆԹ-ադուկտներ կամ ԴՆԹ շղթաների վնասվածքներ):

Գենաթունաբանական թեստերի համակցությունները հնարավորություն են տալիս բացահայտելու լայն սպեկտրով գենետիկական տարբեր խաթարումներ, մինչդեռ դրանցից յուրաքանչյուրն ունի սահմանափակ թվով գործոնների գենաթունայնության բացահայտման ներուժ: Ուստի թեստավորման ժամանակ կիրառվում են թեստերի մարտկոցներ, որոնք ներառում են՝

- գենային մուտացիաների բացահայտման բակտերիալ թեստեր,
- կաթնասունների բջիջներում քրոմոսոմային վնասվածների գնահատման *in vitro* թեստեր կամ մկների լիմֆոմայի բջիջներում թիմիդին կինազի գենային մուտացիայի գնահատման *in vitro* թեստը,
- կաթնասունների հեմատոպոետիկ բջիջներում քրոմոսոմային վնասվածքների գնահատման *in vivo* թեստ:

Այս թեստերը պարտադիր կիրառվում են դեղերի արտադրության նախակլինիկական փուլում, կոսմետիկ միջոցների արտադրության ու ռադիոկենսաբանության ոլորտներում: Մշակվել են նաև տրանսգեն կենդանիների մոդելներ սպոնտան ու մակածված գենաթունաբանական հետազոտությունների նպատակով, որոնք թույլ են տալիս կարճ ժամանակում ստանալ օրգանային սպեցիֆիկությամբ մուտագենային ակտիվության վերաբերյալ տվյալներ: Մինևույն ժամանակ հաջորդ սերնդի սեքվենավորման մեթոդների զարգացումը թույլ է տալիս կիրառել դրանք գենաթունաբանական աշխատանքներում գենոմում եզակի նուկլեոտիդային մակարդակում գենետիկական խաթարումների գնահատման նպատակով:

7.1. Էյմսի թեստ (OECD TG 471)

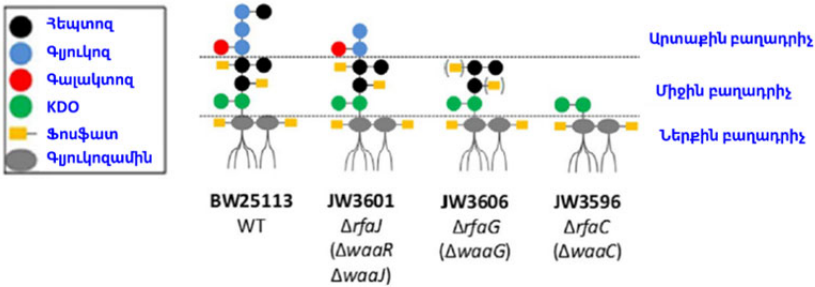
Բակտերիալ գենաթունաբանական թեստերը բաժանվում են երեք հիմնական խմբի՝

- **ռևերս (հետադարձ) մուտացիաների բացահայտման,**
- ֆորվարդ (ուղիղ) մուտացիաների բացահայտման,
- ԴՆԹ թերի ռեպարացիայի գնահատման թեստեր:

Ներկայումս ռևերս մուտացիաները բացահայտող թեստերն առավել լայնորեն են կիրառվում և ընդունելի են կարգավորիչ

կազմակերպությունների (օրինակ՝ FDA) կողմից: Այդպիսի թեստերից է Էյմսի բակտերիալ թեստը, որը թույլ է տալիս բացահայտել՝ արդյոք թեստավորվող միացությունը մուտագեն է, թե ոչ, կիրառվում է սկսած 1975 թվականից: Էյմսի թեստում կիրառում են *Salmonella typhimurium* (TA97, TA97a, TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537) ու *Escherichia coli* (WP2uvrA, WP2uvrA/pKM101) բակտերիաների շտամները, որոնք ստացվել են մուտագենների ու ճառագայթման ազդեցության արդյունքում: Ընդ որում՝ *S. typhimurium* շտամներն աուքսոտրոֆ են ըստ հիստիդինի (*his*-), իսկ *E. coli* շտամները՝ ըստ տրիպտոֆանի (*trp*-) այս ամինաթթուների սինթեզը կարգավորող գեների օպերոններում տարբեր մուտացիաների առկայության պատճառով: Հետևաբար դրանք չեն կարողանում գոյացնել մակրոսկոպիկ գաղութներ հիստիդինի ու տրիպտոֆանի նվազագույն քանակներ պարունակող նվազագույն միջավայրերում, մինչդեռ ուներտանտները (*his*+, *trp*+) հետադարձ մուտացիայով բակտերիաները, կարողանում են գոյատևել ու բազմանալ նվազագույն միջավայրերում: Հետևաբար Էյմսի թեստում մուտագենները հնարավոր է նույնականացնել՝ հաշվելով բացասական ստուգիչում ու թեստավորվող միացությամբ մշակված Պետրիի թասիկներում ուներտանտների գաղութների հաճախականությունները: Էյմսի թեստում օգտագործվող շտամները կրում են նաև այլ մուտացիաներ, որոնցից *rfa* մուտացիայի շնորհիվ մեծանում է խոշոր մոլեկուլների (օրինակ՝ բենզոպիրեն) և/կամ հիդրոֆոբ միացությունների նկատմամբ պերմեաբիլությունը (բջիջ ներթափանցելու հասկությունը): Գրամ բացասական բակտերիաների արտաքին թաղանթում գտնվող լիպոպոլիսախարիդները (LՊՍ) կազմված են լիպիդ A-ից (ներքին բաղադրիչ), միջուկային օլիգոսախարիդներից, որոնք հաճախ պարունակում են գլյուկոզ, հեպտոզ, գալակտոզ ու 2-կետո-3-դեօքսի-օկտոնատ (KDO) (միջին բաղադրիչ), ու փոփոխական O-հակածնային բաղադրիչից (արտաքին բաղադրիչ), որը բացակայում է *E.*

coli K-12 շտամի մոտ: ԼՊՄ-ներն ունեն պաշտպանիչ նշանակություն և տեղակայված են արտաքին թաղանթի ֆոսֆոլիպիդների ու սպիտակուցների միջև (Նկ. 95): ԼՊՄ-ների սինթեզն ու արտաքին թաղանթում դրանց տեղակայումը կարգավորող գեները գտնվում են *rfa* լոկուսի (կոչվում է նաև *waa*) երեք օպերոններում, որոնցում մուտացիաների արդյունքում առաջանում են խիստ կարճացած ԼՊՄ-ներ: Դրա հետևանքով այսպիսի բջիջները զեր-զգայուն են լինում հիդրոֆոբ հակաբիոտիկների ու անիոնային դետերգենտների նկատմամբ, իսկ *rfa* մուտացիայով ֆենոտիպը կոչվում է deep-rough:



Նկար 95. Վայրի տիպի և *rfa* գենի տարբեր մուտացիաներ ունեցող շտամների արտաքին թաղանթի ԼՊՄ-ներն ու դրանց կառուցվածքային դելեցիաները (Pagnout et al., 2019):

Այլ մուտացիաների՝ *uvrA* կամ *uvrB* դելեցիաների արդյունքում խաթարվում է նուկլեոտիդների էքսցիզիոն ռեպարացիան, և բարձրանում թեստի զգայնությունը բազմաթիվ մուտագենների նկատմամբ: UvrA ու UvrB սպիտակուցները մտնում են UvrABC էնդոնուկլեազային կոմպլեքսի մեջ, որը ճանաչում և հեռացնում է ներշրջայական ու միջշրջայական ադուկտները: Ռեպարացիայի ընթացքում հեռացվում է 12 նուկլեոտիդից կազմված հաջորդականություն, որը վերականգնվում է ԴՆԹ-պոլիմերազ I-ի կողմից: Առաջին փուլում UvrA2 հոմոդիմերը (ունի ԱԵՖազային/ԳԵՖազային ակտիվություն) ճանաչում է ԴՆԹ վնասվածքը, կապվում է

UvrB հոմոդիմերի (կամ մոնոմերի) հետ, և առաջանում UvrA2B2 կոմպլեքսը: ԴՆԹ աղուկտի հատվածում ԴՆԹ-ն փաթաթվում է UvrB-ի շուրջ, որը հանգեցնում է UvrA սպիտակուցի հեռացմանը, իսկ առաջացած կոմպլեքսը ճանաչվում է UvrC սպիտակուցի կողմից: Վերջինս կտրում է ԴՆԹ-ում ֆոսֆոդիէսթերական կապը վնասվածքից 4 նուկլեոտիդ դեպի 3՝ ուղղությամբ ու 8 նուկլեոտիդ դեպի 5՝ ուղղությամբ: Այնուհետև ԴՆԹ-հելիկազ II (UvrD) հեռացնում է կտրված հատվածն ու UvrC-ն, իսկ ԴՆԹ-պոլիմերազ I-ը լրացնում է ԴՆԹ բաց հատվածն ու հեռացնում UvrB-ն ԴՆԹ-ի չվնասված շղթայից: *ligA* գենով կոդավորվող ԴՆԹ-լիգազ I-ը վերականգնում է նոր սինթեզված ԴՆԹ-ի ու մայրական շղթայի հարևան նուկլեոտիդների միջև կովալենտ կապերը՝ ավարտելով նուկլեոտիդների էքսցիզիոն ռեպարացիան: Ուստի UvrABC համակարգում մուտացիաների առաջացումը զգալիորեն կարող է բարձրացնել ԴՆԹ-աղուկտների ու կարանների հաճախականությունները:

Համաձայն OECD TG471 ուղեցույցի՝ էյմսի թեստում տարբեր միացությունների մուտագենության գնահատման համար անհրաժեշտ է կիրառել բակտերիաների հետևյալ շտամների համակցությունները՝

1. *S. typhimurium* TA1535,
2. *S. typhimurium* TA1537, TA97a կամ TA97,
3. *S. typhimurium* TA98,
4. *S. typhimurium* TA100,
5. *E. coli* WP2uvrA կամ WP2uvrA/pKM101 կամ *S. typhimurium* TA102:

S. typhimurium շտամները կրում են տարբեր մուտացիաներ հիստիդինային օպերոնում (*hisD3052*, *hisG46*, *hisC3076*, *hisG428*, *hisD6610* and *hisO1242*) և կիրառվում են եզակի նուկլեոտիդային փոխարինումներ (անզլերեն՝ base pair substitution) կամ ընթերցման շրջանակի մուտացիաներ (անզլերեն՝ frameshift) մակաձող

գործոնների նույնականացման համար, մինչդեռ թույլ չեն տալիս հայտնաբերել որոշ օքսիդացնող մուտագենները, կարաններ առաջացնող գործոններն ու հիդրազինները: Այս նպատակով կիրառվում են *E. coli* WP2uvrA կամ WP2uvrA/pKM101 կամ *S. typhimurium* TA102 շտամները: Օրինակ՝ TA98 շտամը կրում է hisD3052 մուտացիան *hisD* գենում և թույլ է տալիս բացահայտել գլխավորապես կրկնվող հաջորդականություններում ընթերցման շրջանակի մուտացիա մակաձող մուտագենները: Իսկ TA100 ու TA1535 շտամները, որոնք կրում են hisG46 մուտացիան (պրովինը (GGG) փոխվում է լեյցինով (GAG)), թույլ են տալիս նույնականացնել գլխավորապես GC զույգերում եզակի նուկլեոտիդային փոխարինումներ մակաձող մուտագենները:

Էյմսի թեստում կիրառվող վալիդացված (OECD TG471) շտամների ցուցակը և դրանցում առկա մուտացիաներն ու տվյալ շտամի միջոցով հայտնաբերվող ռեբսիանների տեսակները ներկայացված են ստորև բերված [Աղյուսակ 8](#)-ում:

Էյմսի թեստում կիրառվում է նաև արոկրոլով (պոլիքլորացված բիֆենիլների խառնուրդ) մշակված առնետների լյարդից անջատված S9 ֆրակցիան, որը պարունակում է կենսատրանսֆորմացնող կամ մետաբոլիզացնող ֆերմենտների ակտիվացված հավաք, ինչը թույլ է տալիս բացահայտել նաև պրոմուտագենները: Էյմսի թեստի սխեման ներկայացված է [Նկար 96](#)-ում:



Նկար 96. Էյմսի թեստի սխեման: Մուտագենի աճող կոնցենտրացիաների մակաձում է ավելի մեծ թվով ռեբտանտների գաղութների առաջացում:

Աղյուսակ 8. Էյմսի բակտերիալ թեստի համար կիրառվող ստանդարտ շտամներն ու դրանցով հայտնաբերվող գենաթունաբանական վերջնաբոլորները (Sugiyama et al., 2016):

Շտամ	Գենոտիպ	Հիստիդինի մուտացիան	Ռևերսիա	ԴՆԹ թիրախ հատված
TA97/TA97a	hisD6610 hisO1242 rfa Δ(gal chl bio uvrB)	hisD6610	frameshift	GC
TA98	hisD3052 rfa Δ(gal chl bio uvrB)	hisD3052	frameshift	GC CGCGCGCG
TA100	hisG46 rfa Δ(gal chl bio uvrB)	hisG46	base pair substitution	GC GGG
TA102	hisG428 rfa galE hisΔ(G)8476	hisG428	base pair substitution	AT
TA1535	hisG46 rfa Δ(gal chl bio uvrB)	hisG46	base pair substitution	GGG
TA1537	hisC3076 rfa Δ(gal chl bio uvrB)	hisC3076	frameshift	CCC
WP2uvrA	trpE uvrA	-	frameshift	TAA
WP2uvrA/pKM101	trpE uvrA	-	base pair substitution	TAA

Էյմսի թեստում կիրառվող TA97, TA98, TA100 ու TA102 շտամները պարունակում են նաև pKM101 պլազմիդ (R գործոն), որն առաջացել է R46 պլազմիդում 13.8 կնգ ԴՆԹ-ի (ստրեպտոմիցինի, սուլֆոնամիդի ու տետրացիկլինի կայունության գեներ) դելեցիայի արդյունքում: pKM101 պլազմիդը 35.4 կնգ չափով ԴՆԹ մոլեկուլ է, որը զգալիորեն բարձրացնում է մի շարք միացությունների մուտագենությունը, ինչպիսին է ֆուրիլֆուրամիդը: Վերջինս մինչև 1974 թվականը ճապոնիայում կիրառվում էր որպես

սննդային հավելում: pKM101 պլազմիդը պարունակում է *muc* լուկուսը, որը կոդավորում է *E. coli* բակտերիայում ռեպարացիայի ու մուտագենեզի գործընթացներում մասնակցող UmuC ու UmuD սպիտակուցներին նման երկու սպիտակուց: Յույց է տրվել, որ UmuC ու UmuD սպիտակուցների բացակայության պայմաններում *E. coli* բջիջները չեն մուտացվում ՈւՄ ճառագայթամար: Հետաքրքիր է, որ pKM101 պլազմիդի առկայությունը բարձրացնում է տրանսվերսիաների հաճախականությունը՝ համեմատած տրանզիցիաների հետ: Ենթադրվում է, որ *muc* լուկուսով կոդավորվող սպիտակուցները կարող են ճնշել UmuC սպիտակուցի սինթեզը, որի պատճառով ընկճվում է ԴՆԹ ռեպարացիան, և բարձրանում են եզակի նուկլեոտիդային փոխարինումների ու ֆրեյմշիֆթ տիպի մուտացիաների հաճախականությունները:

Էյմսի թեստի կիրառման ժամանակ անհրաժեշտ է օգտագործել դրական ու բացասական (լուծիչ) ստուգիչներ, որոնք վալիդացվել են՝ այս թեստում կիրառելու համար: Համաձայն OECD ուղեցույցի՝ մետաբոլիկ ակտիվացմամբ (S9) փորձերում կարող են կիրառվել՝

- 2-ամինոանտրացեն,
- 9,10-դիմեթիլանտրացեն,
- 7,12-դիմեթիլբենզանտրացեն,
- Կոնգո կարմիր,
- բենզոպիրեն,
- ցիկլոֆոսֆամիդ (մոնոհիդրատ):

Առանց մետաբոլիկ ակտիվացման թեստերում անհրաժեշտ է օգտագործել յուրաքանչյուր շտամին համապատասխան ստուգիչներ՝

- TA97, TA97a և TA1537՝ 9-ամինոակրիդին կամ ICR191,
- TA98՝ 2-նիտրոֆլյուորեն,
- TA100 և TA1535՝ նատրիումի ազիդ,
- TA102՝ կումեն հիդրօքսիդ,
- WP2 *uvrA* և TA102՝ միտոմիցին C,

➤ WP2, WP2 *uvrA* և WP2 *uvrA* (pKM101)՝ N-էթիլ-N-նիտրո-N-նիտրոզոզուանիդին կամ N-մէթիլ-N-նիտրո-N-նիտրոզոզուանիդին կամ 4-նիտրոքինուլին 1-օքսիդ,

➤ պլազմիդ պարունակող շտամներ՝ ֆուրիլֆուրամիդ:

Որպէս բացասական ստուգիչ կիրառվում են լուծիչով մշակված տարբերակները կամ ոչ մի գործոնով չմշակված բակտերիաները, եթէ առկա են գրականության տվյալներն այն մասին, որ լուծիչը չունի մուտագէն ակտիվություն:

Թեստում կարող են կիրառվել ինչպէս Պետրիի թասիկներ, այնպէս էլ 96 ու 384-խցիկանի փորձամաններ, որոնք ինկուբացվում են 37°C պայմաններում 48-72 ժամ: Թեստի տվյալները ներկայացնելիս տրվում են ռետրտանտների գաղութների միջին քանակները թեստավորված միացության ու ստուգիչ խմբերի անոթներում:

Թեստի առավելություններից են՝

- կարճաժամկետ է,
- չի պահանջում աճի գործոններ,
- ավելի հեշտ է կուլտիվացնել, քան կաթնասունների բջիջները,
- ունի սպոնտան մուտացիաների ցածր մակարդակ,
- թույլ է տալիս բացահայտել մուտագէնների տարբեր խմբերն ու մուտագէնության մեխանիզմները:

Սահմանափակումներից են՝

- չունի հյուսվածքային սպեցիֆիկություն,
- բացակայում են մարդու բջիջներում առկա ռեպարացիայի բարդ համակարգերը,
- բացակայում են մարդու գենոմի կառուցվածքային առանձնահատկությունները,
- չեն մշակվել *in vivo* համակարգի համար էքստրապոլյացիայի սկզբունքները:

Գրականության ցանկ

1. OECD Test Guideline No. 471. Bacterial Reverse Mutation Test. 2020.
2. Pagnout C, Sohm B, Razafitianamaharavo A, Caillet C, Offroy M, Leduc M, Gendre H, Jomini S, Beaussart A, Bauda P, Duval JFL. Pleiotropic effects of rfa-gene mutations on Escherichia coli envelope properties. Sci Rep. 2019;9(1):9696. doi: 10.1038/s41598-019-46100-3.
3. Ren N, Atyah M, Chen WY, Zhou CH. The various aspects of genetic and epigenetic toxicology: testing methods and clinical applications. J Transl Med. 2017;15(1):110. doi:10.1186/s12967-017-1218-4.
4. Sugiyama K, Yamada M, Awogi T, Hakura A. The strains recommended for use in the bacterial reverse mutation test (OECD guideline 471) can be certified as non-genetically modified organisms. Genes Environ. 2016;38:2. doi: 10.1186/s41021-016-0030-3.
5. Turkez H, Arslan ME, Ozdemir O. Genotoxicity testing: progress and prospects for the next decade. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2017;13(10):1089-1098. doi:10.1080/17425255.2017.1375097.
6. Van Houten B, Croteau DL, DellaVecchia MJ, Wang H, Kisker C. 'Close-fitting sleeves': DNA damage recognition by the UvrABC nuclease system. Mutat Res. 2005;577(1-2):92-117. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2005.03.013.

7.2. Քրոմոսոմային արեռացիաների թեստ *in vitro* (OECD TG 473)

Քրոմոսոմային արեռացիաների՝ որպես ճառագայթման կամ քիմիական միացությունների գենաթունային ազդեցության կենսամարկերների նշանակությունը ցույց է տրվել դեռ հարյուր տարի առաջ: Հետաքրքիր է, որ մինևույն անձի մոտ 12 տարվա ընթացքում մոտ 200 թեստավորման արդյունքում բացահայտվել է, որ սպոնտան արեռացիաների հաճախականությունը կազմում է միջինում 0.79՝ 100 մետաֆազային թիթեղում: Ընդ որում՝ տարիների ընթացքում քրոմոսոմային արեռացիաների առաջացման

միջին հաճախականությունը ժամանակի ընթացքում հաստատուն էր: Արեռացիաների մոտ 80 %-ը քրոմատիդային տիպի էին (0.59 արեռացիա 100 մետաֆազում), քրոմոսոմային դելեցիաները կազմում էին 0.11, քրոմատիդային փոխանակումները՝ 0.03, դիցենտրիկներն ու օղակաձև քրոմոսոմները՝ 0.014 արեռացիա 100 մետաֆազում:

Քրոմոսոմների կառուցվածքային արեռացիաները գլխավորապես առաջանում են ԴՆԹ երկշղթա վնասվածքների արդյունքում: Բջջիչների մշակումը ԴՆԹ վնասող գործոններով (*in vitro* կամ *in vivo*) կարող է մակաձել ԴՆԹ շղթաներում չռեպարացվող վնասվածքներ: Դա էլ իր հերթին կարող է հանգեցնել մետաֆազային թիթեղներում լուսային մանրադիտակով հետազոտության ժամանակ տեսանելի քրոմոսոմային տարբեր տիպի վնասվածքների առաջացմանը: Մինչդեռ քանակական արեռացիաներն առաջանում են առանձին քրոմոսոմների տարամիտման խաթարումների հետևանքով: Այսպիսի արեռացիաներ կարող են առաջանալ ցենտրոմերային տեղամասերի վնասման, կինետոխորային կամ բաժանման իլիկի համակարգերի սխալ ձևավորման պատճառով:

Կառուցվածքային ու քանակական քրոմոսոմային արեռացիաները կապված են ախտաբանական տարբեր վիճակների, ներառյալ ժառանգական հիվանդությունների ու քաղցկեղի հետ: Վիժումների գրեթե 50 % դեպքերը պայմանավորված են սաղմի մոտ քրոմոսոմային արեռացիաների առկայությամբ: Ուստի քրոմոսոմային արեռացիաները գենաթունաբանական թեստավորման կարևորագույն կենսամարկերներից են:

1950-1960-ական թվականներին քրոմոսոմային արեռացիաների թեստի մեթոդական ու տեխնիկական բարելավումները զգալիորեն բարձրացրին բջջագենետիկական պատրաստուկների որակն ու արդյունքների վերարտադրելիությունը: Օրինակ՝ բջիջների մշակումը KCl-ի հիպոտոնիկ լուծույթով ու հաջորդա-

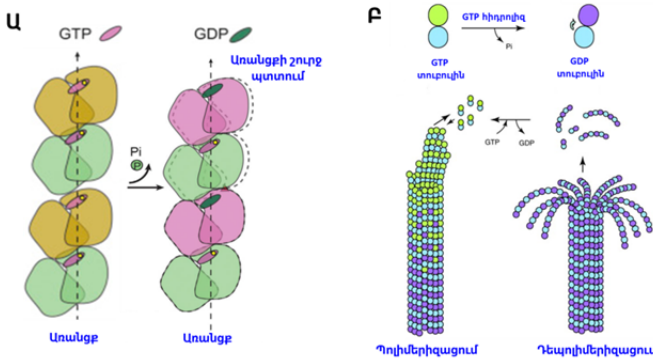
կան լվացումները մեթանոլ/քացախաթթվի խառնուրդով նպաստեցին մետաֆազային թիթեղների ավելի լավ տարածմանն ու քրոմոսոմների հստակ պատկերներ ստանալուն: Մակայն առանցքային խնդիրներից մեկը համապատասխան բջիջների կիրառումն էր, որը թույլ կտար ստանալ վստահելի արդյունքներ տարբեր թեստավորումների ժամանակ: Քաղցկեղային բջջային գծերը (օրինակ՝ CHO), որոնք չունեն միտոզենով ակտիվացման կարիք և ունակ են անսահման բազմանալու, գենետիկորեն անկայուն են, առանձնանում են քրոմոսոմային արեռացիաների ավելի բարձր ու անկայուն սպոնտան մակարդակով՝ համեմատած առաջնային նորմալ բջջային կուլտուրաների հետ: Մակայն նորմալ բջիջներն առաջնային կուլտուրաներում հազվադեպ են կիսվում, ինչը նպաստավոր չէր՝ մետաֆազային քրոմոսոմներ ստանալու համար: Ուստի խիստ կարևոր նշանակություն ունեցավ բույսերից անջատված լեկտինային սպիտակուց՝ ֆիտոհեմագլյուտինինի (ՖՀԱ) կիրառումը, որը T լիմֆոցիտների համար միտոզեն գործոն է և թույլ է տալիս ստանալ մեծ թվով կիսվող բջիջներ ու մետաֆազներ:

Քրոմոսոմային արեռացիաների հետազոտման համար անհրաժեշտ է ստանալ մեծ թվով մետաֆազի փուլում գտնվող քրոմոսոմներ, որոնց կոնդենսացման մակարդակը թույլ է տալիս տարբերել քրոմոսոմային ու քրոմատիդային տիպի վնասվածքները: Ցանկացած *in vitro* համակարգում բջիջները ձերբակալվում են մետաֆազի փուլում կոլխիցինի կամ կոլցեմիդի միջոցով: Կոլցեմիդն արգելակում է ցենտրիոլներից կորիզի ուղղությամբ պոլիմերիզացվող տուբուլինային միկրոխողովակների փոխազդեցությունը ցենտրոմերների հետ, ինչի արդյունքում քրոմատիդները չեն կարողանում տարամիտվել: Ուստի մետաֆազային քրոմոսոմները մանրադիտակի տակ հետազոտելիս ունենում են «X»-երի տեսք: Իսկ ինչպե՞ս է կոլցեմիդի ու տուբուլինի փոխազդեցությունը թույլ տալիս ստանալ այդ «X»-երը: Ամբողջական արյան

ինկուբացման ժամանակ, որը տևում է 72 ժամ, կուցեմիդն ավելացվում է կուլտուրային ինկուբացիայի ավարտից 1.5 ժամ առաջ: Այդ ընթացքում կուցեմիդը հասցնում է արգելակել միկրոօրգանիզմների առաջացումն ու փոխազդումը ցենտրոմերի կինետոխորային համակարգի հետ: Միկրոօրգանիզմները դինամիկ (պոլիմերիզացվում ու դեպոլիմերիզացվում են), սնամեջ, գլանաձև կառույցներ են, որոնք սովորաբար ձևավորվում են α/β տուբուլինային հետերոդիմերներից կազմված լատերալ դասավորությամբ 13 պրոտոֆիլամենտներից:

α ու β տուբուլինային սպիտակուցները կողավորվում են տարբեր գեներով ու տարբերվում են իրենց C-կարբօքսիտերմինալ պոչի երկարությամբ ու ամինաթթվային կազմով (կոչվում են նաև տուբուլինային իզոտիպեր): Մարդկանց մոտ հայտնաբերվել են տուբուլինային 9 իզոտիպ: Էուկարիոտների մոտ տուբուլինային իզոտիպերի էքսպրեսիան ու բաշխումն ունեն բջջային ու հյուսվածքային սպեցիֆիկություն: Օրինակ՝ տուբուլիններ TUBB (I), TUBB2C (IVb) և TUBB6 (V) հայտնաբերվում են բոլոր հյուսվածքներում, TUBB1(VI) սպեցիֆիկ է հեմատոպոետիկ բջիջների համար, իսկ TUBB2A (IIa), TUBB2B (IIb), TUBB3 (III) ու TUBB4 (IVa) ունեն բարձր էքսպրեսիա գլխուղեղում: α ու β տուբուլինային իզոտիպերը ենթարկվում են նաև հետտրանսլյացիոն մոդիֆիկացիաների (օրինակ՝ ացետիլացում, դեթիրոզինացում, պոլիգլյուտամիլացում, պոլիգլիցիլացում): Քանի որ α/β տուբուլինային հետերոդիմերները պոլիմերիզացվում են միկրոօրգանիզմների, իզոտիպերի ու դրանցում հետտրանսլյացիոն մոդիֆիկացիաների համակցումները կազմում են տուբուլինային կողը, որը պայմանավորում է բջջային տարբեր գործընթացներում միկրոօրգանիզմների հատկություններն ու ֆունկցիաները: Այս կառույցներն առանցքային են բջջի կենսագործունեության համար, ներառյալ միտոտիկ ու մեյոտիկ բաժանման իլիկները, որոնք ապահովում են բջիջների նորմալ կիսումը, արսունեմների կա-

ռուցվածքը, որոնք թարթիչների ու մտրակների կենտրոնական մոլեկուլային բաղադրիչներն են, ինչպես նաև բջջակմախքը, որը, օրինակ, նյարդային բջիջներում ապահովում է կոնեկտիվությունն ու նեյրոնների ֆունկցիաները: Միկրոխողովակները ծառայում են նաև որպես ներբջջային «երթուղիներ», որոնց միանալով՝ շարժական սպիտակուցները (օրինակ՝ դինեյնն ու կինեզինը) փոխադրում են տարբեր վեզիկուլներ, օրգանոիդներ (օրինակ՝ միտոքոնդրիումներ) կամ քրոմատիդներ/քրոմոսոմներ: Միկրոխողովակների պրոտոֆիլամենտներն ունեն դրական (+) ու բացասական (-) վերջավորություններ: Ընդ որում (+) վերջավորությունը δ նավորում է β տուբուլինը, իսկ (-)՝ α տուբուլինը: Դա պայմանավորված է միկրոֆիլամենտում α ու β տուբուլինների դիրքով, որոնք միանում են գլուխը պոչին միացման կոնֆորմացիայով (անգլերեն՝ head-to-tail): Պոլիմերիզացիան (անգլերեն՝ microtubule rescue) տեղի է ունենում դեպի (+), իսկ դեպոլիմերիզացիան (անգլերեն՝ microtubule catastrophe)՝ (-) ուղղություններով: Տուբուլինի պոլիմերիզացումը տեղի է ունենում GTP-ի հետ փոխազդեցության ժամանակ, որի հիդրոլիզը մինչև GDP-ի հանգեցնում է դրա դեպոլիմերիզացիայի: Սողելավորման արդյունքում պարզվել է, որ հիդրոլիզի արդյունքում անջատված էներգիան նպաստում է միկրոխողովակում երկայնակի դեֆորմացիային, β տուբուլինի հետ α տուբուլինի փոխազդեցության առանցքի շուրջ տարածական ծոմանն (Նկ. 97Ա) ու միկրոխողովակի անկայունացմանը (Նկ. 97Բ):

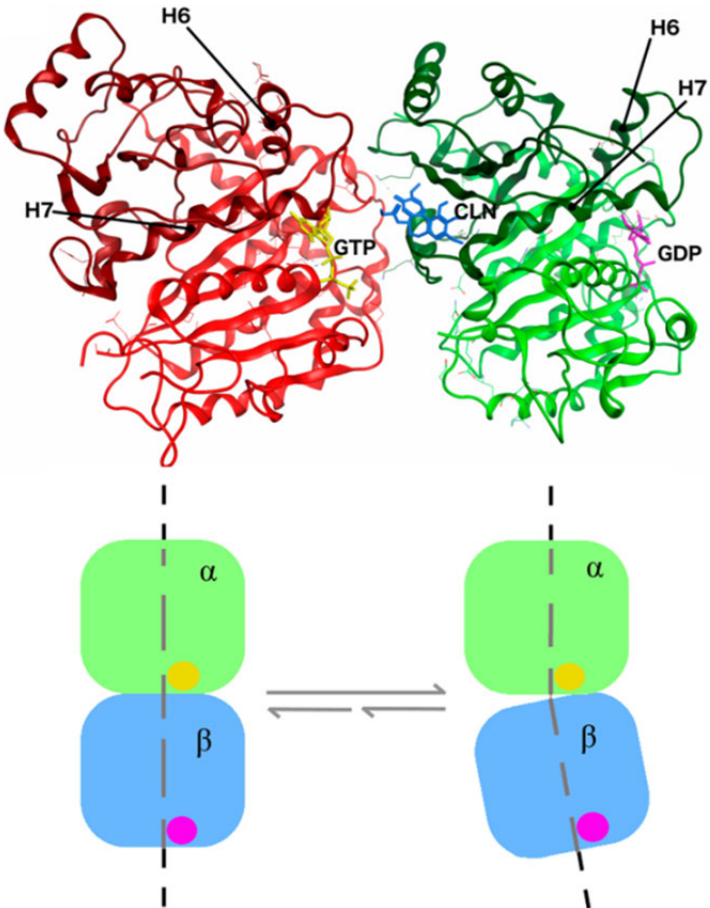


Նկար 97. Տուբուլինային միկրոխողովակների պոլիմերիզացումը GTP-ի ու դեպոլիմերիզացումը GDP-ի հետ փոխազդեցությունների ժամանակ (Al-Bassam and Chang, 2011; Zhang et al., 2015):

Ներկայումս բացահայտվել են մի շարք միացություններ, որոնք ունակ են խաթարելու տուբուլինի պոլիմերիզացման ու դեպոլիմերիզացման նորմալ գործընթացները: Այդ միացությունները կոչվում են միկրոխողովակները թիրախավորող գործոններ, որոնք փոխազդում են միկրոխողովակների տարբեր դիրքերի հետ: Օրինակ՝ տաքսանները (կիրառվում են կրծքագեղձի, թոքերի, ձվարանների ու միզապարկի քաղցկեղի բուժման համար) կայունացնում են պոլիմերիզացված միկրոխողովակները՝ փոխազդելով β տուբուլինների հետ միկրոխողովակի ներքին մակերեսին:

Միկրոխողովակները թիրախավորող գործոնները, սակայն, կարող են նաև մակածել միկրոխողովակների դեպոլիմերիզացում: Տուբուլինում բացահայտվել է կոլխիցինի հետ փոխազդեցության տեղամասը, որի հետ կապվելով՝ կոլխիցինն ու կոլցեմիդը մակածում են միկրոխողովակների ապակայունացում: Միանալով β տուբուլինին՝ կոլխիցինն առաջացնում է տարածականորեն ծոված տուբուլինային դիմեր α տուբուլինի հետ β տուբուլինի ստերիկ բախման (ատոմների միջև մեծանում է Վանդերվաալ-

այսն վանող ուժը) հետևանքով, ինչը կանխում է ուղղաձիգ պրոտոֆիլամենտների առաջացումը՝ խթանելով տուբուլինի դեպոլիմերիզացումը (Նկ. 98):

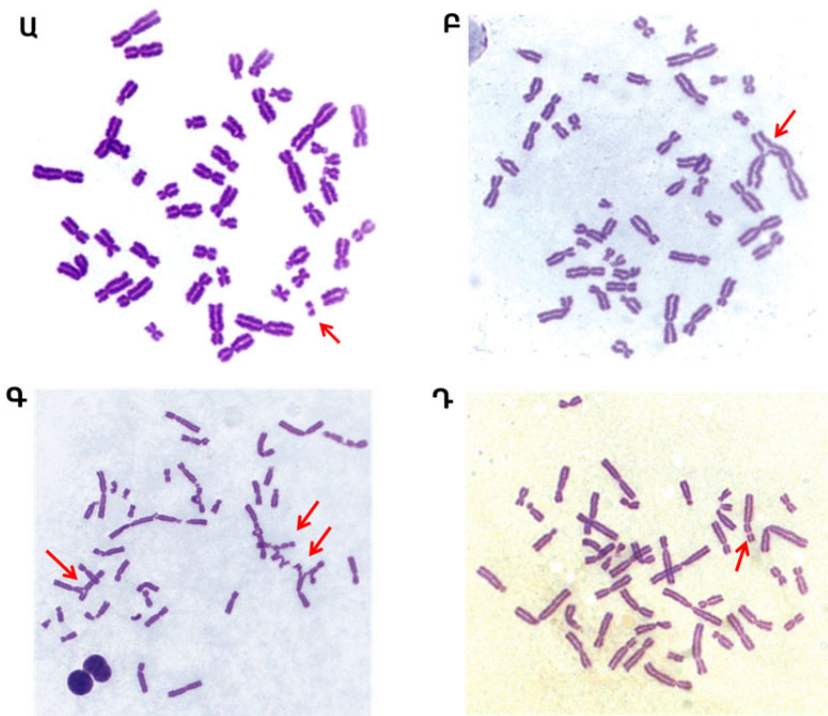


Նկար 98. Կոլխիցինի (կապույտ) հետ փոխազդող α - β տուբուլինային հետերոդիմերի կառուցվածքը: Կոլխիցինը կապվում է β տուբուլինի միջանկյալ տեղամասում, որի արդյունքում առաջանում է տարածական ծովաձուռնություն ու հետերոդիմերի կայունության խաթարում: GTP – դեղին, GDP – մանուշակագույն (Spasevska et al., 2017):

Այսպիսով՝ ՖՀԱ-ով խթանված ամբողջական արյան մշակումը կոլխիցինով/կոլցեմիդով խաթարում է միկրոփոփոխակների փոխազդեցությունը T լիմֆոցիտների մետաֆազային քրոմոսոմների հետ: Դրա շնորհիվ ստացվում են քրոմոսոմային աբեռացիաների թեստի ու բջջագենետիկական վերլուծության համար պիտանի մետաֆազային քրոմոսոմներ:

Համաձայն OECD ուղեցույցի (TG 473) դասական թեստավորման համար բջիջները մշակվում են հետազոտվող միացությամբ կարճաժամկետ (3-6 ժ) ու երկարաժամկետ տևողություններով (մոտ 1.5 բջջային ցիկլի տևողությամբ): Քանի որ բջջային գծերն ու լիմֆոցիտներն ունեն սահմանափակ մետաբոլիկ հնարավորություններ, ապա մետաբոլիկ ակտիվացման նպատակով կարճաժամկետ կուլտուրային ավելացվում է S9 (երկարատև ինկուբացիայի ժամանակ առաջանում են տոքսիկ էֆեկտներ):

Թեստի գլխավոր վերջնարդյունքները դասական ներկմամբ (ըստ Գիմզայի) տեսանելի (>10 Մնգ չափ ունեցող) կառուցվածքային քրոմոսոմային աբեռացիաներն են (Նկ. 99): Քանակական աբեռացիաները գրանցվում են որպես պատահական իրադարձություններ, որոնց քանակի ավելացումը չի դիտարկվում որպես գենաթունային ազդեցության արդյունք: Ավելի նուրբ քրոմոսոմային աբեռացիաները, ներառյալ միջքրոմոսոմային տրանսլուկացիաներն ու ներքրոմոսոմային խաթարումները, կարող են առաջանալ գենաթունային ազդեցության արդյունքում: Սակայն այսպիսի խաթարումների բացահայտման համար կիրառվում են ներկման ու վերլուծության ավելի բարդ ու ժամանակատար մոտեցումներ, որոնք չեն գործածվում թեստավորման ժամանակ:



Նկար 99. Քրոմոսոմային արեռացիաների թեստ: Ներկայացված են մետաֆազային քրոմոսոմներում դիտարկված տարբեր փոփոխություններ: (U) Քրոմոսոմային կտրվածք կամ ֆրագմենտ, (F) քրոմատիդային փոխանակություն, (Q) բազմակի արեռացիաներ, (T) քրոմոսոմային գեի (չի հաշվում որպես արեռացիա) (Registre and Proudlock, 2016):

Քրոմոսոմային արեռացիաների թեստում վերլուծվող կառուցվածքային խաթարումները բաժանվում են երկու խմբի՝

- **խզվածքներն** (ներառյալ դելեցիաները կամ ֆրագմենտները) առաջանում են ԴՆԹ չռեպարացված երկշղթա կտրվածքներից,
- **փոխանակություններն** առաջանում են միևնույն կամ տարբեր քրոմոսոմների միջև ԴՆԹ երկու կամ ավելի

երկշրթա կտրվածքների սխալ ռեպարացիայի կամ միակցմամբ:

Կլաստոզենների գերակշռող մասն առաջացնում են ԴՆԹ միաշրթա վնասվածքներ, որոնք ռեպարացիայի ընթացքում կարող են փոխարկվել երկշրթա կտրվածքների: Եթե երկշրթա վնասվածքը պահպանվում է բջջային ցիկլի S փուլի ընթացքում, ապա այն կրկնապատվում է և մետաֆազում հանդիպում որպես քրոմատիդային կտրվածք: Իսկ եթե քրոմատիդային խզվածքը չի ռեպարացվում, ապա կրկնապատվում է և փոխարկվում քրոմոսոմային կտրվածքի: Քրոմատիդային տիպի վնասվածքները գերակշռում են քիմիական մուտագենների ստանդարտ թեստավորման ժամանակ, քանի որ տեսանելի են լինում ՖՅԱ-ով խթանումից հետո՝ առաջին մետաֆազի ժամանակ:

Ճառագայթումն ու ռադիոմիմետիկ միացություններն առաջացնում են ուղղակի երկշրթա վնասվածքներ: Եթե այդպիսի վնասվածքներն առաջանում են S փուլից հետո, ապա հանգեցնում են քրոմատիդային տիպի վնասվածքների մակաձմանը: Մինչդեռ նախքան S փուլն առաջացած վնասվածքները հայտնաբերվում են երկու քրոմատիդները ներառող քրոմոսոմային արեռացիաների տեսքով:

Գեփերը քրոմոսոմների կառուցվածքում չներկված տեղամասերն են, որոնց չափը չի գերազանցում քրոմատիդի հաստությունը: Գեփերը հաշվում են, բայց չեն ներառվում որպես քրոմոսոմների կառուցվածքային արեռացիաներ: Ընդհանուր առմամբ փորձարկվող միացության յուրաքանչյուր կոնցենտրացիայի համար վերլուծվում է 300 մետաֆազային թիթեր:

Որպես դրական ստուգիչ կիրառում են՝

- S9 (-)՝ մեթիլ մեթանետուլֆոնատ,
- S9 (-)՝ միտոմիցին C,
- S9 (-)՝ 4-նիտրոքինոլին N-օքսիդ,

- S9 (-)՝ ցիտոզին արաբինոզիդ,
 - S9 (+)՝ բենզոպիրեն,
 - S9 (+)՝ ցիկլոֆոսֆամիդ:
- Մեթոդի առավելություններն են՝
- կարող են բացահայտվել բոլոր տիպի քրոմոսոմային վնասվածքները,
 - կարելի է հաշվել միտոտիկ գործակիցը:
- Մեթոդի թերություններն են՝
- կարող են կիրառվել միայն կիսվող բջիջներ,
 - պահանջվում է բարձր որակավորմամբ մասնագետ,
 - աշխատատար և ծախսատար է,
 - ավտոմատացված վերլուծությունը դեռևս անհնարին է:

Գրականության ցանկ

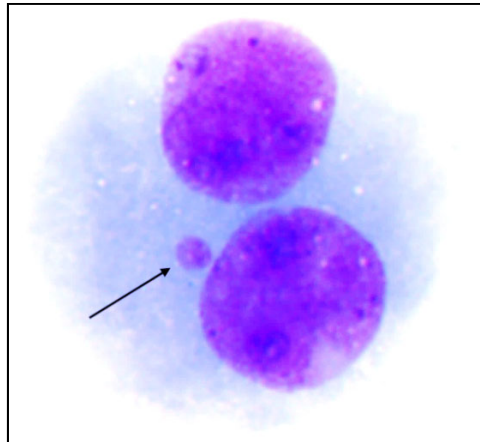
1. Al-Bassam J., Chang F. Regulation of microtubule dynamics by TOG-domain proteins XMAP215/Dis1 and CLASP. Trends Cell Biol. 2011 Oct;21(10):604-14.
2. Al-Bassam J., Chang F. Regulation of microtubule dynamics by TOG-domain proteins XMAP215/Dis1 and CLASP. Trends Cell Biol. 2011;21(10):604-614. doi:10.1016/j.tcb.2011.06.007.
3. Andersson HC. The spontaneous frequency of chromosomal aberrations and sister-chromatid exchanges in cultured peripheral lymphocytes of a single blood donor sampled more than 200 times. Mutat Res. 1993 Apr;286(2):281-92. doi: 10.1016/0027-5107(93)90193-j.
4. Igaev M., Grubmüller H. Microtubule instability driven by longitudinal and lateral strain propagation. PLoS Comput Biol. 2020 Sep 2;16(9):e1008132. doi: 10.1371/journal.pcbi.1008132.
5. Lopes D., Maiato H. The Tubulin Code in Mitosis and Cancer. Cells. 2020 Oct 26;9(11):2356. doi: 10.3390/cells9112356.
6. Registre M., Proudlock R. The *in vitro* chromosome aberration test. In: Proudlock R., editor. Genetic toxicology testing. Cambridge (MA): Academic Press; 2016; 207-267.

7. Roll-Mecak A. The Tubulin Code in Microtubule Dynamics and Information Encoding. *Dev Cell*. 2020 Jul 6;54(1):7-20. doi: 10.1016/j.devcel.2020.06.008.
8. Spasevska I., Ayoub AT, Winter P., et al. Modeling the Colchicum autumnale Tubulin and a Comparison of Its Interaction with Colchicine to Human Tubulin. *Int J Mol Sci*. 2017;18(8):1676. doi:10.3390/ijms18081676.
9. Spasevska I., Ayoub AT, Winter P., Preto J., Wong GK, Dumontet C., Tuszynski JA. Modeling the Colchicum autumnale Tubulin and a Comparison of Its Interaction with Colchicine to Human Tubulin. *Int J Mol Sci*. 2017 Aug 2;18(8):1676.
10. Zhang R., Alushin GM, Brown A., Nogales E. Mechanistic Origin of Microtubule Dynamic Instability and Its Modulation by EB Proteins. *Cell*. 2015 Aug 13;162(4):849-59. doi: 10.1016/j.cell.2015.07.012.
11. Zhang R., Alushin GM, Brown A., Nogales E. Mechanistic Origin of Microtubule Dynamic Instability and Its Modulation by EB Proteins. *Cell*. 2015;162(4):849-859. doi:10.1016/j.cell.2015.07.012.

7.3. Միկրոկորիզային թեստ *in vitro* (OECD TG 487)

1970-ական թվականներին Քաունթրիմենն ու Հեդլը մշակեցին քրոմոսոմային վնասվածքների գնահատման *in vitro* միկրոկորիզային (ՄԿ) թեստը, որը զգալիորեն դյուրացրեց թունաբանական սքրինինգի ժամանակ քրոմոսոմային վնասվածքների գնահատման գործընթացը: Քանի որ ՄԿ-ներն առաջանում են բջջի բաժանման ժամանակ, անհրաժեշտ է տարբերել բջջային գոնե մեկ ցիկլ անցած բջիջները չբաժանված բջիջներից: Այդ նպատակով Ֆենիքսն ու Մորլին մշակեցին ցիտոկինեզի արգելակմամբ ՄԿ թեստը (CBMN assay), որի ժամանակ կիրառվում է *Helminthosporium dematioides* սնկից անջատված միկոտոքսին ցիտոխալագին B՝ ցիտոկինեզն արգելակելու նպատակով: Ցիտոխալագին B-ն խաթարում է ակտինային միկրոֆիլամենտների

կոնտրակտիլ համակարգի ձևավորումը, ինչի արդյունքում բջիջները չեն կարողանում կիսվել, մինչդեռ կորիզների բաժանումը՝ կարիոկինեզը, տեղի է ունենում: Դրա արդյունքում առաջանում են երկկորիզանի բջիջներ՝ բինուկլեատներ, որոնցում կլաստոզեն կամ անէուզեն էֆեկտը հայտնաբերվում է ՄԿ-ների մակարդակի բարձրացմամբ (Նկ. 100):



Նկար 100. Գիմզայի ներկանյութով ներկված բինուկլեատ լիմֆոցիտ ՄԿ-ով (ՄԿ-ն ցույց է տրված սլաքով):

Ցիտոխալագին B-ով բինուկլեատների մակաձման մեխանիզմը ընկալելու համար անհրաժեշտ է վերլուծել ակտինային միկրոֆիլամենտների հետ ցիտոխալագինի փոխազդեցության մեխանիզմը:

Բջջում գլոբուլյար (G-ակտին) ակտինի մոնոմերները կապում են ԱԵՖ պոլիմերիզացվում (+) ծայրով՝ ձևավորելով ակտինային ֆիլամենտներ (F-ակտին): Այս գործընթացի առաջին փուլում (նուկլեացիա) ձևավորվում է երեք ակտինային մոնոմերների ագրեգացիա, որի երկու ծայրերից շարունակաբար միանում են մոնոմերները: Սակայն (+) ծայրով պոլիմերիզացումը տեղի է ունենում մոտ 10 անգամ ավելի արագ (էլոնգացիա): Ակտինային

մոնոմերները կապվում են նաև ԱԵՖ-ի հետ, որի հիդրոլիզի արդյունքում անջատվում են ԱԿՖ ու ֆոսֆորական մնացորդ: ԱԵՖ-ի էներգիան անհրաժեշտ չէ պոլիմերիզացման համար, սակայն ԱԵՖ-ին կապած մոնոմերներն ավելի հաճախ են մտնում պոլիմերիզացման գործընթացի մեջ, քան ԱԿՖ-ին կապված մոնոմերները: Ակտինային մոնոմերների ֆիլամենտներում ներկառուցվելու հաճախականությունը համեմատական է դրանց կոնցենտրացիային: Ուստի գոյություն ունի կրիտիկական կոնցենտրացիա, որի դեպքում պոլիմերիզացման ու դեպոլիմերիզացման հաճախականությունները գտնվում են հավասարակշռության վիճակում (կայուն վիճակ): Ընդ որում՝ **պրոֆիլին** սպիտակուցը, որը նպաստում է ԱԿՖ փոխարինմանը ԱԵՖ-ով, խթանում է ակտինի պոլիմերիզացումը, մինչդեռ **կոֆիլին** ակտիվ կապվում է ԱԿՖ կապված ակտինի հետ՝ նպաստելով դեպոլիմերիզացմանը: Բացահայտվել է, որ ցիտոխալազին B-ն ունի խիստ բևեռային կետո ու հիդրոֆիլ խմբեր, որոնց շնորհիվ այն դրսևորում է բարձր աֆինություն պոլիմերիզացվող ակտինի նկատմամբ: Միևնույն ժամանակ ակտինի հետ կապված ցիտոխալազին B-ն հիմք է ակտոր կայունացնող սպիտակուցների հետ կապվելու համար, որոնք արգելափակում են ակտինի պոլիմերիզացումը: Ավելին, ցիտոխալազին B-ն կարող է նուկլեացիայի փուլում կապվել ակտինային ազրեգատին ու արգելափակել դրա հետագա պոլիմերիզացումը: Այսպես, բջժի կիսման ժամանակ կենտրոնական տուբուլինային միկրոխողովակները փոխազդում են բջջաթաղանթի հետ ցենտրալսպինդլին սպիտակուցային համալիրի միջոցով: Այս համալիրը կապվում է ակտինային ֆիլամենտներին, որոնց պոլիմերիզացման հաշվին ձևավորվում է բջիջը երկու մասի կիսող կծկուն օղակը: Ցիտոխալազին B-ն, կապվելով ակտինային ֆիլամենտներին, արգելափակում է կծկուն օղակի առաջացումը, և բջիջը չի կարողանում կիսվել: Արդյունքում բջիջն ավարտում է ակրիոկինեզն ու ունենում երկու դուստր կորիզներ, որտեղ չտա-

րամիտված քրոմոսոմային նյութը պատվում է թաղանթով՝ հանդես գալով ՄԿ տեսքով:

Կաթնասունների բջիջներում ՄԿ թեստը լայնորեն կիրառվում է դեղերի արտադրության վաղ փուլերում որպես գենաթունաբանական թեստ-մարտկոցի կարևորագույն բաղադրիչ՝ համաձայն «Good Laboratory Practice» (GLP) չափանիշների: GLP չափանիշներով նախակլինիկական փորձարկումներն իրականացվում են մարդու, կենդանիների ու շրջակա միջավայրի համար քիմիական միացությունների անվտանգության գնահատման նպատակով: Ուստի հետազոտության համար կիրառվող բջջային մոդելների ընտրությունն ունի առանցքային նշանակություն արդյունքների հավաստիության համար: Համաձայն OECD ուղեցույցի՝ *in vitro* ՄԿ թեստում կարելի է կիրառել նորմալ ու քաղցկեղային բջիջներ: Ընդ որում՝ ցիտոխալագին B-ի կիրառումը պարտադիր պայման չէ, եթե հայտնի է, որ բջջային պոպուլյացիան անցել է միտոտիկ բաժանման ցիկլով: Քանի որ ՄԿ-ների սպոնտան մակարդակը կարող է ազդել թեստի զգայնության վրա, խորհուրդ է տրվում օգտագործելու կայուն ու հայտնի ՄԿ-ների առաջացման մակարդակ ունեցող բջիջներ: Ներկայումս բացակայում են հստակ ուղեցույցներ՝ բջջային կուլտուրայի կիրառման վերաբերյալ: Ուստի բջիջների ընտրության ժամանակ խորհուրդ է տրվում հիմնվելու բջջային կուլտուրայում դրանց աճի ակտիվության (գերադասելի են հեշտ կուլտիվացվող բջիջները), կարիոտիպի կայունության, p53 գենի կարգավիճակի, ԴՆԹ ռեպարացիայի ունակության ու ծագման (կրծող թե մարդ) գործոնների վրա:

Թեստում քրոմոսոմների վնասվածքների ու ՄԿ առաջացման մեխանիզմների մասին ավելի մանրամասն տեղեկատվություն կարելի է ստանալ կինետոխորների և/կամ ցենտրոմերների/թելոմերների ներկման միջոցով: Այսպիսի մոտեցումը թույլ է տալիս տարբերել **անէուգեն** (քրոմոսոմների քանակական խա-

թարում մակաձող մուտագեն) ու **կլաստոզեն** (քրոմոսոմների ջախջախում մակաձող մուտագեն) գործոնները:

Քանի որ ինտերֆագային բջիջներում ՄԿ նույնականացումը դյուրին աշխատանք է (չեն պահանջվում մասնագիտական բարձր հմտություններ), ապա հետազոտողի կողմից կարող են գրանցվել ցիտոխալազինով մակաձված բինուկլեատների ու միկրոկորիզավոր բջիջների քանակները: Դրա շնորհիվ բջջագենետիկական պատրաստուկները կարող են արագորեն վերլուծվել մասնագետի կամ ավտոմատացված համակարգի միջոցով, ինչի արդյունքում հաշվում են հազարավոր բջիջներ հարյուրավորների փոխարեն: Այսպիսի մոտեցումը զգալիորեն բարձրացնում է թեստի վիճակագրական հզորությունը: Մինևույն ժամանակ ՄԿ թեստը թույլ է տալիս տարբերել անեուգեն գործոնները, ինչն անհնար է քրոմոսոմային արեռացիաների վերլուծության թեստում:

ՄԿ թեստում կարելի է կիրառել մետաբոլիկ ակտիվացման S9 ֆրակցիան՝ հիմնվելով թեստավորվող միացության հատկությունների վրա: Սակայն հարկավոր է խուսափել մուտագենության կեղծ դրական արդյունքներից, որոնք կարող են առաջանալ միջավայրի pH-ի ու օսմոտիկ ճնշման փոփոխության կամ բարձր բջջաթունայնության հետևանքով, մինչդեռ այդպիսի փոփոխություններն օրգանիզմային պայմաններում կարող են չմակաձվել:

ՄԿ թեստում մուտագենության գնահատման համար մարդու կամ այլ կաթնասունների բջիջները կուլտիվացվում են թեստավորվող միացության հետ այնքան ժամանակ, որը բավարար կլինի քրոմոսոմային վնասվածքներ մակաձելու համար: Լիմֆոցիտների դեպքում թեստավորվող միացությունն ավելացվում է միջավայրին ֆիտոհեմագլյուտինինի ավելացումից 44-48 ժամ անց:

In vitro ՄԿ թեստի ցանկացած տարբերակում անհրաժեշտ է ցույց տալ, որ ստուգիչ ու մշակման տարբերակներում բջիջները բաժանվել են: Մինևույն ժամանակ պետք է գնահատել ցիտոս-

տատիկ, ցիտոտոքսիկ էֆեկտներն ու կորիզային բաժանման ինդեքսը:

Միկրոկորիզավոր բջիջների հաճախականությունը կարելի է գնահատել.

- լուսային կամ ֆյուորեսցենսային մանրադիտակի միջոցով,
- «Metafer» ավտոմատացված համակարգով,
- հոսքային ցիտոմետրիայի միջոցով:

Լուսային մանրադիտակով ՄԿ հաճախականությունը գնահատելու նպատակով բջջագենետիկական պատրաստուկները ներկվում են Գիմզայի ներկանյութով, որը ներկում է քրոմատինը կապտամանուշակագույն երանգով: Այնուհետև հաշվում են նվազագույնը 2000 բինուկլեատ բջիջներ մեկ մշակման տարբերակից (երկու պատրաստուկից)՝ գրանցելով ՄԿ պարունակող բինուկլեատների քանակը: Միննույն ժամանակ հաշվում են մոնոնուկլեատ ու բինուկլեատ բջիջների հարաբերակցությունը, որը ցիտոխալագին B-ով մշակման ժամանակ կազմում է գրեթե 50/50 % (ոսկե ստանդարտ), մինչդեռ ցիտոստատիկ նյութերով ազդեցության ժամանակ մոնոնուկլեատների քանակը զգալիորեն բարձրանում է: Ցիտոտոքսիկության գնահատման համար կիրառում են կորիզային բաժանման գործակիցը (ԿԲԳ)՝

$$\text{ԿԲԳ} = \frac{1 \cdot N1 + 2 \cdot N2 + 3 \cdot N3 + 4 \cdot N4}{1000},$$

որում N1-ը, N2-ը, N3-ն ու N4-ը ներկայացնում են համապատասխանաբար մոնոնուկլեատ, բինուկլեատ, տրինուկլեատ ու տետրանուկլեատ բջիջների քանակները:

ՄԿ թեստավորման ժամանակ անհրաժեշտ է նկատի ունենալ մի քանի պարտադիր չափանիշներ.

1. բջիջներում ցիտոպլազման ու մեմբրանը պետք է լինեն պահպանված,

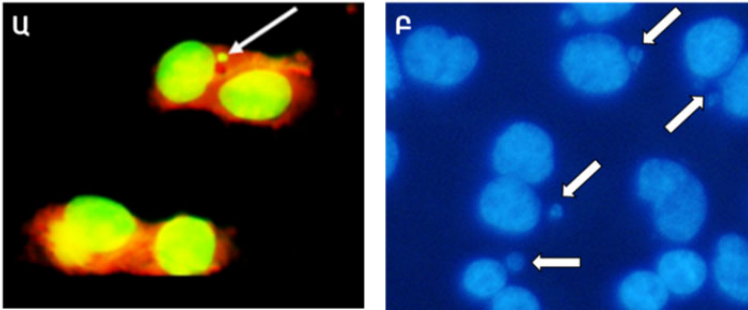
2. կորիզները պետք է ունենան նույն չափը, գտնվեն միևնույն հարթության մեջ, իսկ դրանց սահմանները պետք է լինեն տեսանելի,

3. մարդու լիմֆոցիտների ՄԿ-ի չափերը կարող են տատանվել հիմնական կորիզի չափերի 1/3-1/5-ը,

4. ՄԿ-ն առկայության դեպքում պետք է լինի կորիզներից առանձին,

5. ՄԿ-ն ու կորիզը պետք է ունենան գունավորման նույն ինտենսիվությունն ու գտնվեն նույն հարթության վրա:

Ֆյուորեսցենտային մանրադիտակով ՄԿ մակարդակը գնահատելու համար օգտագործում են ակրիդին օրանժ կամ DAPI (4,6-դիամիդինո-2-ֆենիլինոլ) ֆյուորեսցենտ ներկերը: Ակրիդին օրանժը ներթափանցում է բջիջների մեմբրանով ու կապվում նուկլեինաթթուների հետ: Ընդ որում՝ երկշղթա նուկլեինաթթուների հետ կապված ակրիդին օրանժը ֆյուորեսցենտում է կանաչ, իսկ միաշղթա նուկլեինաթթուների հետ՝ կարմիր գույնով (Նկ. 101Ա): Այդ պատճառով կորիզը ներկվում է վառ կանաչ կամ կանաչադեղնավուն, մինչդեռ ցիտոպլազման՝ կարմիր կամ կարմրանարնջագույն: DAPI-ն ներկում է քրոմատինը վառ կապույտ, իսկ ցիտոպլազման՝ թույլ երկնագույն երանգով (Նկ. 101Բ): Երկու դեպքում էլ ՄԿ գնահատման համար բջիջները պետք է համապատասխանեն վերը նշված 5 պարտադիր չափանիշներին:



Նկար 101. (Ս) Ակրիդին օրանժով ու (Բ) DAPI-ով ներկված բինուկլեատներում ՄԿ-ների վերլուծություն (ցույց են տրված սլաքով) (<https://forum.image.sc/t/micronucleus-count/13751>):

ՄԿ-ները կարելի է վերլուծել «MetaSystems» ընկերության կողմից մշակված «Metafer» ավտոմատացված մանրադիտակման համակարգի միջոցով, որը կարող է սկանավորել բջջագենետիկական պատրաստուկները 1000 բջիջ/րոպե արագությամբ: Ստացված պատկերները գրանցվում են մանրադիտակին միացված համակարգչում, որոնք հետագայում կարող են գնահատվել հետազոտողի կողմից (Նկ. 102):



Նկար 102. Metafer համակարգն (ձախ նկար) ու դրա միջոցով ստացված ՄԿ պարունակող բինուկլեատ բջիջների պատկերներ (աջ նկար) (<https://metasystems-international.com/>):

Ներկայումս OECD կողմից ՄԿ թեստի արդյունքների վավիդացված վերլուծության մեթոդը մանրադիտակայինն է: Սակայն

ՄԿ մակարդակը կարելի է գնահատել նաև հոսքային ցիտոմետրիայի միջոցով, որը թույլ է տալիս միաժամանակ վերլուծել նաև ցիտոստատիկ էֆեկտները, բջջի մահվան ուղիներն ու բջջային ցիկլի խաթարումները: Հոսքային ցիտոմետրիայով ՄԿ վերլուծության ժամանակ կիրառում են ԴՆԹ-ի հետ կապվող ֆյուորեսցենտ ներկ (օրինակ՝ պրոպիդիումի յոդիդ, Hoechst, FITC): Սուսպենզիայում գտնվող բջիջները հոսքային ցիտոմետրի ասեղի միջով անցնում են սարքի մեջ, որտեղ հեղուկում գտնվող ու ցիտոմետրի հոսքային ուղիներով առանձին անցնող բջիջները հատում են լազերային լույսը: Դրա հետևանքով առաջանում է լույսի բեկում, և գրանցվում են յուրաքանչյուր բջջի չափը, ցիտոպլազմայի հատիկավորությունն ու ֆյուորեսցենցիայի ինտենսիվությունը: Հոսքային ցիտոմետրը թույլ է տալիս մի քանի վայրկյանում գրանցել ավելի քան 10.000 բջիջների տվյալները (կոչվում են նաև «իրադարձություններ»), իսկ ստացված արդյունքները գրանցվում են սարքին միացած համակարգչում:

Առանց մետաբոլիկ ակտիվացման կլաստոգեն դրական ստուգիչներն են՝

- Մեթիլ մեթանեսուլֆոնատ,
- Միտոմիցին C,
- 4-նիտրոքինոլին N-օքսիդ,
- Ցիտոզին արաբինոզիդ:

Մետաբոլիկ ակտիվացմամբ կլաստոգեն դրական ստուգիչներն են՝

- Բենզոպիրեն,
- Ցիկլոֆոսֆամիդ:

Անէուգեն դրական ստուգիչներն են՝

- Կոլխիցին,
- Վինբլաստին:

Մեթոդի գլխավոր առավելություններից են՝

- չի պահանջում մասնագիտական բարձր որակավորում,
- կարելի է իրականացնել կարճ ժամանակահատվածում,
- քիչ ծախսատար է,
- ունի ավտոմատացված վերլուծության հնարավորություն,
- կարելի է տարբերակել անէուզեն ու կլաստոզեն գործոն-

ները:

Մեթոդի գլխավոր թերություններից են՝

- անհրաժեշտ են բաժանվող բջիջներ,
 - քրոմոսոմների վնասվածքները գնահատվում են անուղ-
- ղակիորեն,
- թույլ չի տալիս բացահայտել քրոմոսոմային արեռացիա-
- ների տեսակները:

Գրականության ցանկ

1. Costa S., Ceppi M., Costa C., et al. The cytokinesis-block micronucleus (CBMN) assay in human populations exposed to styrene: A systematic review and meta-analysis. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2016; 770(Pt A):92-105. doi:10.1016/j.mrrev.2016.06.003.
2. Fenech M. Cytokinesis-Block Micronucleus Cytome Assay Evolution into a More Comprehensive Method to Measure Chromosomal Instability. *Genes (Basel).* 2020;11(10):1203. doi:10.3390/genes11101203.
3. Sommer S., Buraczewska I., Kruszewski M. Micronucleus Assay: The State of Art, and Future Directions. *Int J Mol Sci.* 2020;21(4):1534. doi:10.3390/ijms21041534.

7.4. Գենային մուտացիաների գնահատման թեստեր *in vitro*

Էյմսի բակտերիալ թեստի կարևորագույն սահմանափակումներից մեկն այն է, որ բարդ է ստացված տվյալները էքստրապոլյացիա կատարել մարդու բջիջների վրա: Այս սահմանափակումը հաղթահարելու համար մշակվել են կաթնասունների բջիջներում գենային մուտացիաների գնահատման համար վալիդացված թեստե, որում կիրառվում են մարդու ու կրծողների գենետիկորեն մանրամասն նկարագրությամբ բջջային զծեր:

7.4.1. Գենային մուտացիաների գնահատման *MLA/TK6* թեստ *in vitro* (OECD TG 490)

Գենային մուտացիաների *MLA/TK6* թեստը կիրառվում է գենային մակարդակում մուտացիաներ մակածող գործոնների ուսումնասիրման համար: Այս նպատակով կիրառվում են մկների L5178Y լիմֆոմայի (անգլերեն՝ mouse lymphoma assay, *MLA*) կամ մարդու *TK6* լիմֆոբլաստոիդ բջիջները, որոնք, ըստ թիմիդին կինազ ֆերմենտը կողավորող գենի (*TK+/-*), հետերոզիգոտ են: Թիմիդին կինազը (*TK*) ֆերմենտ է, որը կարևոր դեր է խաղում ԴՆԹ սինթեզում, մասնավորապես պիրիմիդինի վերականգնման ուղում: Այն կատալիզում է թիմիդինի ֆոսֆորիլացումը՝ փոխարկելով թիմիդինմոնոֆոսֆատի, որն օգտագործվում է ԴՆԹ ռեպլիկացիայի համար: Բջիջները կուլտիվացվում են թեստավորվող միացության հետ սելեկտիվ միջավայրում, որտեղ առկա է թիմիդինի անալոգ տրիֆլուորոթիմիդին: *TK* ֆերմենտը ֆոսֆորիլացնում է այն և փոխարկում տրիֆլուորոթիմիդին մոնոֆոսֆատի, որն արգելակում է թիմիդինի սինթեզը կատալիզող թիմիդիլատ սինթազը: Դրա արդյունքում արգելակվում է ԴՆԹ կրկնապատկումը, և բջիջը մահանում է: *TK* թեստի էությունն այն է, որ եթե թեստավորվող միացությունը մուտագեն է, ապա մուտացիայի

ենթարկված բջիջները (TK-/-) կբազմանան, և կառաջացնեն գաղութներ, քանի որ չի առաջանա տրիֆլուորոթիմիդին մոնոֆոսֆատ: Որպես դրական ստուգիչ օգտագործում են մեթիլմեթանսուլֆոնատ կամ 4-նիտրոքվինոլին օքսիդ: Մետաբոլիկ ակտիվացում պահաջող միացությունների թեստավորման համար միջավայրին ավելացնում են կրծողների լյարդի S9 մետաբոլիզացնող ֆրակցիա:

Մուտանտների հաճախականությունը որոշում են ըստ մուտանտների գաղութների թվի՝ նորմալիզացնելով կլոնոգեն արդյունավետության թվով: Օրինակ՝ եթե առանց սելեկտիվ գործոնի (տրիֆլուորոթիմիդին) միջավայրում կուլտիվացվել է 1000 բջիջ, որոնցից ստացվել է 10 գաղութ, ապա կլոնոգեն արդյունավետությունը կազմում է $10 / 1000 = 0.01$: Սելեկտիվ միջավայրում կուլտիվացնում են ավելի մեծ թվով բջիջներ մուտացիաների ցածր հաճախականության պատճառով: Օրինակ՝ սելեկտիվ միջավայրում կուլտիվացվել է 1.000.000 բջիջ, որոնցից գաղութ առաջացրել են 500-ը (սպոնտան կամ մակաձված): Այսպիսով՝ մուտանտների հաճախականությունը (MF) կկազմի.

$$MF = 500 / (1.000.000 * 0.01) = 0.05 (5\%):$$

Մեթոդի գլխավոր առավելություններից են՝

➤ օգտագործվում են մարդու բջիջներ, որոնք գենետիկորեն լավ նկարագրված են,

- հարավոր է բացահայտել մուտագենների լայն խմբեր,
- ունի OECD վալիդացում,
- հեշտությամբ կարելի է կատարել սելեկցիա:

Մեթոդի գլխավոր թերություններից են՝

- սպոնտան մուտացիաների ցածր մակարդակը,
- պահանջում է մետաբոլիկ ակտիվացում,
- ոչ բոլոր կետային մուտացիաներն են բացահայտվում,

- աշխատատար է, պահանջում է բջջային կուլտուրաների հետ աշխատելու հմտություններով փորձառու մասնագետ

7.4.2. Գենային մուտացիաների գնահատման HPRT/XPRT թեստ *in vitro* (OECD TG 476)

HPRT/XPRT թեստերը նման են TK6 թեստին, որի նպատակն է գնահատել քիմիական նյութերով մակաձված գենային մուտացիաները: Օգտագործվող բջջային գծերը (մարդու կամ կրծողների) թույլ են տալիս գնահատել սելեկցիայի համար անհրաժեշտ գեների՝ HPRT (կոդավորում է HGPRT ֆերմենտը) ու քսանտին-գուանին ֆոսֆոռիբոզիլ տրանսֆերազ տրանսգենի (կոդավորում է XPRT թեստում GPT գենը) մուտացիաները: Ընդ որում՝ GPT գենը ստացվել է *E. coli* բակտերիաներից:

HGPRT ֆերմենտը պուրինների վերականգման ուղու (անգլերեն՝ nucleotide salvage pathway) առանցքային սպիտակուցներից է: Դրա շնորհիվ նուկլեոտիդները սինթեզվում են ոչ թե *de novo*, այլ դրանց սինթեզի համար օգտագործվում են նուկլեոտիդների դեգրադացման միջանկյալ միացությունները, ինչն ավելի քիչ էներգիա է պահանջում: Այսպես՝ HGPRT ֆերմենտը կատալիզում է հիպոքսանտինից ինոզին մոնոֆոսֆատի ու գուանինից գուանոզին մոնոֆոսֆատի սինթեզը:

HPRT թեստում կարելի է հայտնաբերել հիմքերի փոխարինման մուտացիաներ, ֆրեյմձիվթներ, փոքր դելեցիաներ ու դուպլիկացիաներ, որոնք առաջանում են X քրոմոսոմում տեղակայված HPRT գենում, մինչդեռ XPRT թեստում GPT տրանսգենի աուտոսոմային տեղակայմամբ կարելի է բացահայտել մեծ դելեցիաներն ու քրոմոսոմային վերակառուցումները, որոնք չեն հայտնաբերվում HPRT թեստում: Սակայն ներկայումս կարգավորիչ նպատակներով առավել հաճախ կիրառվում է HPRT թեստը:

Թեստի էությունն այն է, որ գենային մուտացիաների արդյունքում HGPRT (HPRT թեստ) կամ Xprt (XPRT թեստ) ֆերմենտները դադարում են գործել, և բջիջները կայուն են լինում սելեկտիվ գործոնի՝ պուրինների անալոգ 6-թիոգուանինի ցիտոստատիկ ազդեցության նկատմամբ: HGPRT ֆերմենտը փոխարկում է 6-թիոգուանինը 6-թիոգուանոզին մոնոֆոսֆատի, որի հիման վրա առաջանում են ԴՆԹ ռեպլիկացիան արգելակող նուկլեոտիդային անալոգներ, որոնք բջջային ցիկլի S փուլում ներկառուցվում են սինթեզվող շղթայի մեջ: Եթե թեստավորվող միացությունն օժտված է մուտագեն ակտիվությամբ, ապա մուտացիայի ենթարկված բջիջներում HGPRT ֆերմենտը չի գործի, և բջիջները կկարողանան բազմանալ, մինչդեռ մուտացիա չկրող բջիջների պրոլիֆերացիան արգելակվում է:

Որպես կանոն HPRT թեստի համար կիրառվում են CHO, CHL ու V79 բջջային զծերը, որոնք ստացվել են համապատասխանաբար չինական համստերի, L5178Y մկների լիմֆոմայի ու մարդու TK6 բջիջներից: CHO բջիջներից ստացված AS52 բջջային գիծը, որը պարունակում է GPT տրանսգեն (սակայն HPRT գենը դելեցված է), օգտագործում են XPRT թեստում:

Թեստի կարևոր սահմանափակումներից է մետաբոլիկ ակտիվացման անհրաժեշտությունը, ինչի պատճառով այն զգալիորեն տարբերվում է օրգանիզմային պայմաններից: Որպես դրական ստուգիչներ օգտագործում են էթիլմեթանսուլֆոնատ (առանց ակտիվացման) ու բենզոպիրեն (ակտիվացմամբ):

7.5. ՄԿ թեստ *in vivo* (OECD TG 474)

In vivo ՄԿ թեստը կամ կաթնասունների էրիթրոցիտների *in vivo* ՄԿ թեստը կիրառվում է էրիթրոբլաստներում քիմիական միացություններով մակաձված քրոմոսոմային կամ միտոտիկ

ապարատի վնասվածքների գնահատման համար: Հետազոտման համար կիրառվում են կրծողների ոսկրածուծի կամ արյան բջիջները: Թեստի նպատակն է նույնականացնել այն միացությունները, որոնք կարող են մակածել բջջագենետիկական խաթարումներ՝ քրոմոսոմային ագենտրիկ հատվածներ կամ ամբողջական քրոմոսոմներ ունեցող ՄԿ-ներ: ՄԿ պարունակող ռետիկուլոցիտների (ոչ հասուն էրիթրոցիտ) հաճախականությունը որոշում են լուսային կամ ֆյուորեսցենտային մանրադիտակով՝ կախված ներկման մեթոդից: Կարելի է օգտագործել նաև ավտոմատացված համակարգեր, օրինակ՝ հոսքային ցիտոմետրեր, պատկերի վերլուծության հարթակներ ու լազերով սքանավորող ցիտոմետրեր:

Քանի որ ՄԿ պարունակությունը տեսանելի չէ, ապա կարելի է կիրառել տարբեր մեթոդներ՝ քրոմոսոմային հատվածները ամբողջական քրոմոսոմներից տարբերելու համար: Օրինակ՝ ՄԿ-ում կինետոխոմի կամ ցենտրոմերային ԴՆԹ նույնականացում, որոնց բացակայությունը վկայում է այն մասին, որ ՄԿ-ն պարունակում է միայն քրոմոսոմային հատվածներ (կլաստոգեն էֆեկտ), մինչդեռ դրանց առկայությունը խոսում է ամբողջական քրոմոսոմի դելեցիայի մասին (անէուգեն էֆեկտ):

Որպես կանոն ՄԿ-ների հաճախականությունը գնահատվում է ոսկրածուծի ռետիկուլոցիտներում: Սակայն կարելի է կիրառել նաև արյան էրիթրոցիտները, եթե կենդանիները թեստավորվող միացությամբ մշակվում են էրիթրոցիտների կյանքի տևողությունը գերազանցող տևողությամբ (օրինակ՝ մկների դեպքում ≥ 4 շաբաթ): Սակայն եթե կան ապացույցներ, որ թեստավորվող միացությունը կամ դրա մետաբոլիտները չեն կարող հասնել վերլուծվող հյուսվածքին, ապա այս թեստի կիրառումը խորհուրդ չի տրվում: Հետևաբար ուսումնասիրվող միացության հյուսվածքային թիրախների մասին իմացությունը խիստ կարևոր է:

Նախքան *in vivo* ՄԿ թեստի կիրառումը տվյալ լաբորատորիան պետք է ցույց տա, որ ունակ է վերարտադրելու գրականու-

թյան հրապարակված տվյալներում ստացված արդյունքները ՄԿ-ների հաճախականության վերաբերյալ՝ օգտագործելով առնվազն երկու դրական ստուգիչ (օրինակ՝ էթիլ մեթանսուլֆոնատ, մեթիլ մեթանսուլֆոնատ, միտոմիցին C և այլն): Փորձարկումը պետք է իրականացվի այնպիսի չափաբաժիններով, որոնք տալիս են վերարտադրելի չափաբաժինից կախված ՄԿ մակարդակի բարձրացում թիրախ հյուսվածքում (ոսկրածուծում կամ ծայրամասային արյան մեջ), նաև պետք է ստանալ բացասական ստուգիչի համար բնորոշ արդյունքները 10-20 փորձարկումների տվյալների հիման վրա: Ցանկալի է, որ բացասական ստուգիչում ՄԿ-ների հաճախականությունը համապատասխանի հաստատված հաճախականության 95 %-ի սահմանին:

Որպես կանոն մուտագենության թեստավորումն իրականացնում են առողջ ու երիտասարդ (6-10 շաբաթական) մկների կամ առնետների կիրառմամբ: Սակայն կարող են օգտագործվել այլ տեսակներ կամ կրծողներ՝ գիտական հիմնավորման առկայության պարագայում: Հարկավոր է հիշել, որ առնետների ուրցագեղձը հեռացնում է արյան մեջ շրջանառվող միկրոկորիզավոր էրիթրոցիտները: Ուստի այս կենդանիների կիրառման ժամանակ ավելի նպատակահարմար է ՄԿ-ների վերլուծությունը կատարել ոսկրածուծի բջիջներում:

Պինդ քիմիական նյութերի թեստավորման համար պետք է դրանք լուծել համապատասխան լուծիչում կամ ներմուծել կենդանիների սննդի կամ խմելու ջրի մեջ: Հեղուկ փորձարկվող նյութերը կարելի է կիրառել անմիջապես կամ անհրաժեշտության դեպքում նոսրացնել: Այս դեպքում միայն լուծիչով մշակված կենդանիների խումբը ծառայում է որպես բացասական ստուգիչ: Շնչառական ազդեցության համար փորձարկվող նյութը կարող է տրվել գազի, գոլորշու կամ աէրոզոլի տեսքով՝ կախված դրա ֆիզիկաքիմիական հատկություններից:

Որպես կանոն ՄԿ-ների մակարդակները տարբեր սեռերի կենդանիների միջև չեն տարբերվում, ուստի կարելի է կիրառել միայն մեկ սեռի կենդանիներ: Սակայն եթե կան տվյալներ, որոնցում հետազոտվող միացությունը կարող է ունենալ միջսեռային տարբերություններ (օրինակ՝ համակարգային թունայնության տարբերություններ, մետաբոլիզմ, կենսամատչելիություն, ոսկրածուծի հանդեպ թունայնություն և այլն), ապա պետք է կիրառել երկու սեռի կենդանիներ: Ընդ որում՝ հետազոտվող խմբերի կենդանիների մարմնի զանգվածների միջև 20 %-ից ավելի տարբերությունները չեն թույլատրվում: Խորհուրդ է տրվում կիրառելու նվազագույնը 5 կենդանի յուրաքանչյուր խմբում: Օրինակ՝ բացասական ու դրական ստուգիչների ու փորձարարական 3 չափաբաժինների դեպքում թեստավորվող կենդանիների թիվը կկազմի 25-35:

Եթե թեստավորման չափաբաժինների ընտրության համար հասանելի չեն գրականության տվյալները, ապա դրանք պետք է որոշել փորձարարական ճանապարհով՝ հիմնվելով առավելագույն հանդուրժելի չափաբաժնի (անզլերեն՝ maximum tolerated dose, MTD) վրա: MTD-ն նյութի ամենաբարձր չափաբաժինն է, որը կարող է տրվել առանց փորձարկման ընթացքը սահմանափակող թունավոր ազդեցության (օրինակ՝ մարմնի քաշի նվազում կամ հեմատոպոետիկ համակարգի ցիտոտոքսիկություն, սակայն ոչ մահ կամ ցավ, տառապանք կամ սթրես, որոնք կպահանջին կենդանու էվթանագիա): Առավելագույն չափաբաժինը կարող է սահմանվել նաև որպես այն չափաբաժինը, որը մակածում է ոսկրածուծում թունավոր ազդեցություն (օրինակ՝ ոսկրածուծում կամ ծայրամասային արյան մեջ ոչ հասուն էրիթրոցիտների հարաբերակցությունը ընդհանուր էրիթրոցիտների նկատմամբ նվազեցնում է ավելի քան 50 %-ով, բայց ոչ պակաս, քան ստուգիչի արժեքի 20 %-ը):

Չափաբաժնից կենսաբանական պատասխանի կախվածության տվյալներ ստանալու համար ամբողջական փորձարկումը

պետք է ներառի բացասական ստուգիչ խումբ ու առնվազն երեք չափաբաժին՝ սովորաբար միմյանցից տարբերվող մոտ 2 անգամ, բայց ոչ ավելի քան 4 անգամ: Եթե փորձարկվող նյութը նախնական ուսումնասիրությամբ կամ առկա տվյալներով թունավորություն չի առաջացնում, ապա ≥ 14 օր կիրառման դեպքում առավելագույն չափաբաժինը պետք է լինի 1000 մգ/կգ մարմնի քաշ/օր, իսկ 14 օրից պակաս կիրառման դեպքում՝ 2000 մգ/կգ/օր: Եթե փորձարկվող նյութը թունավորություն է առաջացնում, առավելագույն հանդուրժելի չափաբաժինը պետք է ընտրվի որպես ամենաբարձր չափաբաժին: Եթե թիրախ հյուսվածքում (ոսկրածուծ) թունավորություն դիտվում է բոլոր չափաբաժիններով, խորհուրդ է տրվում շարունակելու ուսումնասիրությունը ոչ թունավոր չափաբաժնով:

Նյութի թեստավորման փորձի ընթացքը մշակելիս պետք է հաշվի առնել մարդու համար կանխատեսվող ազդեցության ուղին, օրինակ՝ սննդի, խմելու ջրի միջոցով, այնպես էլ տեղային ենթամաշկային, ներերակային, շնչառական, ինտրատրախնեալ կամ իմպլանտացիայի ուղիներով: Ամեն դեպքում ուղին պետք է ապահովի թիրախ հյուսվածքի(քների) բավարար ազդեցություն: Ինտրապերիտոնեալ ներարկումը սովորաբար խորհուրդ չի տրվում, քանի որ դա մարդու համար բնորոշ ուղի չէ և կարելի է կիրառել միայն հատուկ գիտական հիմնավորմամբ: Եթե փորձարկվող նյութը խառնվում է սննդին կամ խմելու ջրին, հատկապես միանվագ չափաբաժնի որոշման դեպքում, անհրաժեշտ է հաշվի առնել, որ սննդի կամ ջրի ընդունումից մինչև նմուշառումը բավարար ժամանակահատված լինի՝ ազդեցությունը հայտնաբերելու համար:

Թեստավորվող միացությամբ մշակման հաճախականությունը 24 ժամվա ընթացքում կարող է լինել մեկ, երկու կամ երեք անգամ: Եթե կենդանիները մշակվում են թեստավորվող նյութով մեկ անգամ, ապա ոսկրածուծի նմուշառումը կատարվում է առնվազն երկու անգամ (կենդանիների տարբեր խմբերից)՝ ոչ

շուտ, քան մշակման պահից 24 ժամ անց, բայց ոչ ավելի ուշ, քան 48 ժամ հետո: 24 ժամից շուտ նմուշառում կատարելն անհրաժեշտ է հիմնավորել (օրինակ՝ արագ կիսաքայքայումը): Եթե իրականացվում են օրական երկու մշակումներ (օրինակ՝ երկու մշակում՝ 24-ժամյա ընդմիջմամբ), ապա ոսկրածուծի նմուշառումը պետք է իրականացվի մեկ անգամ՝ վերջին մշակման պահից 18-24 ժամ անց: Եթե իրականացվում է երեք կամ ավելի օրական մշակում (օրինակ՝ երեք կամ ավելի մշակում՝ 24-ժամյա ընդմիջմամբ), ապա ոսկրածուծի նմուշառումը պետք է կատարվի ոչ ուշ, քան վերջին մշակման պահից 24 ժամ անց: Նշված նմուշառման ժամանակները պայմանավորված են ոսկրածուծում միկրոկոորիզների առաջացման ու անհետացման կինետիկայով:

Ոսկրածուծի բջիջները ստանում են կենդանիների ազդրոսկրերից կուլտիվացման միջավայրով կամ ֆոսֆատային բուֆերով լվացման ուղիով: Ստացված բջիջներն անմիջապես կարելի է օգտագործել կենսունակության գնահատման համար կամ ֆիքսել ու ներկել անհրաժեշտ ներկերով, օրինակ՝ ակրիդին օրանժով (տե՛ս Գլուխ 5.6): Մուտազեն ազդեցությունը բացահայտելու համար գնահատում են ՄԿ-ների հաճախականությունը 4000 ոչ հատուն էրիթրոցիտներում (յուրաքանչյուր կենդանու մոտ):

7.6. ԴՆԹ կոմետների թեստ *in vivo* (OECD TG 489)

Կաթնասունների *in vivo* հիմնային ԴՆԹ կոմետ մեթոդը կամ առանձին բջիջների ժել-էլեկտրոֆորեզը կիրառվում է պոտենցիալ գենաթույների ազդեցությանը ենթարկված կենդանիների, որպես կանոն կրծողների, տարբեր հյուսվածքներից անջատված բջիջներում ԴՆԹ վնասվածքների մակարդակի գնահատման նպատակով:

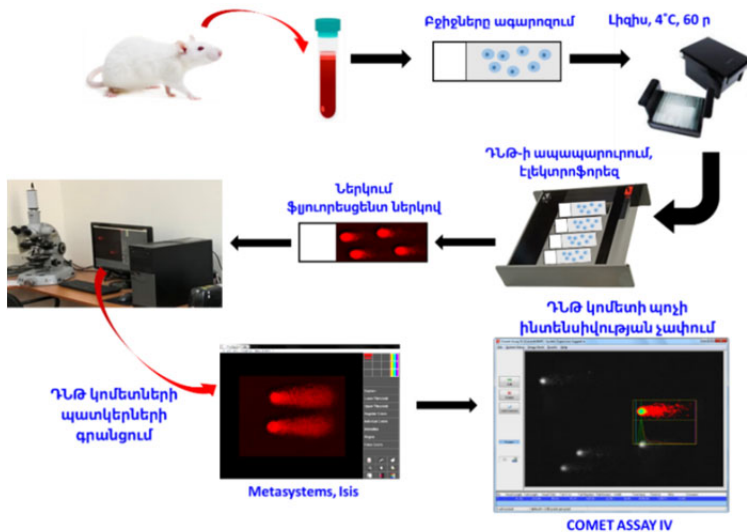
Բարձր հիմնային պայմաններում (>pH 13), ԴՆԹ կոմետ մեթոդը թույլ է տալիս հայտնաբերել ԴՆԹ միաշղթա ու երկշղթա

վնասվածքները, հիմնային զգայուն տեղամասերը կամ ԴՆԹ ռեպարացիայի ազդեցությամբ առաջացած կտրվածքները: ԴՆԹ վնասվածքները կարող են ռեպարացվել ու չունենալ զգալի ազդեցություն բջջի վրա, նաև կարող են ունենալ լետալ էֆեկտ կամ էլ կարող են դառնալ մուտացիայի պատճառ: ԴՆԹ վնասվածքները կարող են հանգեցնել նաև քրոմոսոմային վնասվածքների, որոնք կապված են մարդու տարբեր հիվանդությունների, այդ թվում՝ քաղցկեղի հետ:

ԴՆԹ կոմետ մեթոդի համար անհրաժեշտ են առանձին բջիջներ կամ կորիզներ, որոնք ազարոզի շերտի մեջ դետերգենտի ու աղային բարձր կոնցենտրացիայի պայմաններում ենթարկվում են լիզիսի: Դրա արդյունքում քայքայվում են բջիջների թաղանթները և թույլ տալիս ԴՆԹ փաթեթավորված պարույրներին ու ԴՆԹ հատվածներին առանձնանալ՝ ձևավորելով նուկլեոիդ: Իսկ հիմնային պայմաններում էլեկտրոֆորեզը հանգեցնում է մի կառույցի առաջացմանը, որի տեսքը հիշեցնում է գիսաստղի, քանի որ էլեկտրոֆորեզի ժամանակ տարբեր չափ ունեցող հատվածները շարժվում են «գլխից» դեպի «պոչ» (տե՛ս Գլուխ 5.3): ԴՆԹ վնասվածության մակարդակը որոշվում է կոմետի պոչի ֆլյուորեսցենտոման ինտենսիվությամբ, որն արտահայտում է ԴՆԹ տոկոսային պարունակությունը պոչում (% tail DNA կամ % tail intensity) և հարաբերական է ԴՆԹ կտրվածքների քանակին ([Նկ. 103](#)): *In vivo* հիմնային ԴՆԹ կոմետ թեստը հատկապես կարևոր է գենաթունային ռիսկի գնահատման համար, քանի որ դրա արդյունքները կախված են *in vivo* ADME (անգլերեն՝ absorption, distribution, metabolism and excretion) գործոններից՝ կլանումից, բաշխումից, մետաբոլիզմից ու արտազատումից, նաև կախված է ԴՆԹ ռեպարացիայի գործընթացներից, որոնք կարող են տարբերվել՝ կախված կենդանիների տեսակից, հյուսվածքների ու ԴՆԹ վնասվածքների տեսակներից:

Նախքան թեստավորման մեկնարկը տվյալ լաբորատորիան պետք է մշակի ստանդարտ պայմաններ, որոնց դեպքում բացա-

սական ստուգիչի առնետների լյարդի բջիջներում «% tail DNA» չափանիշը միջինում (խմբի մեդիանաների միջինը) չի գերազանցի 6 %-ը:



Նկար 103. ԴՆԹ կոմետ մեթոդի սխեման: ԴՆԹ կոմետների պատկերները գրանցվում են ֆյուորեսցենտային մանրադիտակին միացած «MetaSystems» համակարգի «Isis» ծրագրով, իսկ կոմետների պոչում ԴՆԹ պարունակությունը չափվում է «Comet Assay IV» կոմերցիոն ծրագրով (ԵՊՀ գենետիկայի և բջջաբանության ամբիոն):

Որպես դրական ստուգիչ ու չափաբաժնից էֆեկտի կախվածության կորերի ստացման համար կիրառում են էթիլ մենթանսուլֆոնատ (ցանկացած հյուսվածքի համար առավել հաճախ կիրառվող մուտագեն), մեթիլ մեթանսուլֆոնատ (լյարդի, երիկամների, թոքերի, միզապարկի, ստամոքսի, ոսկրածուծի և այլ օրգանների համար) և այլն: ԴՆԹ կոմետների վերլուծության համար առավել հաճախ կիրառվում են լյարդի բջիջները, սակայն այլ հյուսվածքների բջիջները ևս կարելի է օգտագործել գիտական հիմնավորման պարագայում:

Կենդանիների խմբերի կազմումը, դրանց մշակման ու չափաբաժինների ընտրության սկզբունքները բերված են նախորդ գլխում (տե՛ս Գլուխ 7.5): ԴՆԹ կոմետների դեպքում յուրաքանչյուր թեստավորման ժամանակ դրական ստուգիչի խմբում պետք է ներառել նվազագույնը երեք կենդանի (միննույն սեռի կամ յուրաքանչյուրից երեքական):

Կենդանիներին թեստավորվող միացությունը պետք է ներարկվի առնվազն 2 օր տևողությամբ (այսինքն՝ երկու կամ ավելի մշակում՝ 24-ժամյա ընդմիջմամբ), և նմուշառումը պետք է կատարվի մեկ անգամ՝ վերջին մշակումից 2–6 ժամ անց: Ընդլայնված չափաբաժնի որոշման (դոզավորման) սխեմաներով նմուշառումը (օրինակ՝ 28-օրյա օրական դոզավորում) նույնպես ընդունելի է: Հաջողությամբ հաստատվել է կոմետ թեստի ու էրիթրոցիտների միկրոկորիզային թեստի համատեղ կիրառումը, որոնց արդյունքները կոռելացվում են միմյանց հետ: Այլ չափաբաժնի որոշման ու նմուշառման սխեմաների կիրառումը պետք է հիմնավորվի: Օրինակ՝ կարող է օգտագործվել միանվագ մշակում բազմակի նմուշառմամբ, սակայն պետք է հաշվի առնել, որ նման սխեմայի դեպքում ավելի շատ կենդանի է պահանջվում նմուշառման բազմակի ժամանակների պատճառով: Որոշ դեպքերում դա կարող է նախընտրելի լինել, օրինակ՝ փորձարկվող նյութը կրկնակի կիրառման դեպքում առաջացնում է չափազանց մեծ թունավորություն: Բջջիների նմուշառման հյուսվածքի ընտրությունը առանցքային նշանակություն ունեցող գործոն է, որի ժամանակ պետք է նկատի ունենալ թեստավորվող միացության հավանական թիրախները, ֆարմակոկինետիկան ու դրա մետաբոլիտների հնարավոր էֆեկտները:

Բջջիների ու ցածր հալման ջերմաստիճան ունեցող ազարոզի ծավալները որոշվում են փորձնականորեն, մինչդեռ լիզիսի ու մնացած փուլերի պայմանները պետք է լինեն հաստատուն ողջ թեստավորման ընթացքում: Պատրաստուկները պետք է նվազա-

գույնը 20 p պահվեն էլեկտրոֆորեզի բուֆերում ԴՆԹ ապապարուրման համար, իսկ էլեկտրոֆորեզը պետք է իրականացնել 0.7 Վ/սմ 20 p նվազագույն տևողությամբ: Էլեկտրոֆորեզի տևողությունը կարելի է կարգավորել՝ հիմնվելով դրական ու բացասական ստուգիչներում ԴՆԹ վնասվածքների մակարդակների վրա: Էլեկտրոֆորեզի ընթացքում կարևոր է պահպանել վոլտաժի կայունությունը, իսկ մյուս չափանիշները, ինչպիսիք են ամպերաժն ու բուֆերի խորությունը, պետք է կարգավորել ու պահպանել միանման բոլոր թեստավորումների ժամանակ: Էլեկտրոֆորեզից հետո պատրաստուկներում հիմնային պայմանները պետք է չեզոքացնել, իսկ ստացված պատրաստուկները կարելի է անմիջապես ներկել կամ դեհիդրատացնել էթանոլով 5 p ու ներկել 1-2 շաբաթ անց:

Յուրաքանչյուր նմուշից պետք է վերլուծել նվազագույնը 150 կոմետներ, ինչը բավական է 5 կենդանուց բաղկացած թեստավորման տարբերակների վիճակագրական վերլուծության համար: Հարկավոր է հիշել, որ հայտնի գենաթույների ցածր կամ միջին չափաբաժինները կարող են մակածել ԴՆԹ վնասվածքներ առաջացնող բջջաթունային էֆեկտներ, որոնք թույլ չեն տալիս տարբերել գենաթունային էֆեկտներից, եթե կիրառվում է միայն ԴՆԹ կոմետ թեստը: Ուստի այն խմբերում, որոնցում դիտարկվում է գենաթունային էֆեկտ, նաև բջիջների կենսունակության մակարդակը գնահատելու խորհուրդ է տրվում (օրինակ՝ TUNEL մեթոդը, անեքսին V-ի ներկումը և այլն):

Վիճակագրական վերլուծության համար յուրաքանչյուր պատրաստուկից հաշվում են «% tail DNA» չափանիշի մեդիանն ու յուրաքանչյուր կենդանու համար մեդիանների միջինը: Այնուհետև առանձին կենդանիների միջինների հիման վրա որոշվում է խմբի միջինը: Սակայն կարելի է կիրառել նաև տվյալների փոխակերպման (տրանսֆորմացիայի) մոտեցումը (օրինակ՝ քառակուսի արմատ բարձրացնելը) կամ զրոներից խուսափելու համար դրանք շատ փոքր թվերով փոխարինումը (օրինակ՝ 0.001):

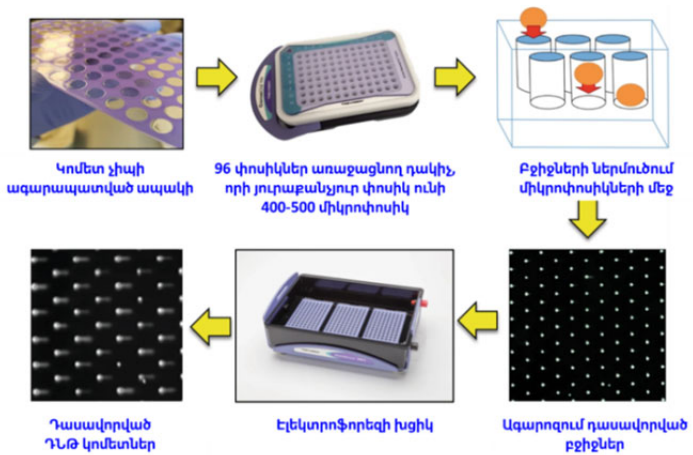
Ներկայումս մշակվել են հաջորդ սերնդի կամ բարձր թողունակությամբ ԴՆԹ կոմետ մեթոդի տարբերակներ: Օրինակ՝ ուղղահայաց ԴՆԹ կոմետների ժամանակ կիրառվում են պատրաստուկների կրիչներ ու տարաներ, որոնք թույլ են տալիս կոմետների մշակման փուլերում օգտագործել մինչև 50 պատրաստուկների խմբեր: Ուղղահայաց ԴՆԹ կոմետ մեթոդի համար կիրառվող պարագաներն ու էլեկտրոֆորեզի խցիկը բերված են Նկար 104-ում:



Նկար 104. Բարձր թողունակությամբ ԴՆԹ կոմետ մեթոդի համար կիրառվող պարագաներն ու էլեկտրոֆորեզի խցիկը (Ji et al., 2022):

Մշակվել են նաև 96 ու 300-խցիկանի անոթներ, որոնք թույլ են տալիս միաժամանակ էլեկտրոֆորեզի ենթարկել ավելի մեծ թվով նմուշներ (կոմետ չիպ): Այսպիսի չիպերի յուրաքանչյուր փոսիկ մեկ պատրաստուկ է, որում կաթեցվում են համապա-

տասխան նմուշի բջիջները՝ ենթարկելով ԴՆԹ կոմետ վերլուծության (Նկ. 105): Այսպիսի մոտեցմամբ կոմետները նկարահանվում են ավտոմատացված ցիտոմետրերով: Սակայն հաջորդ սերնդի ու բարձր թողունակությամբ կոմետների ստանդարտացումն ու դրանց հետագա ներառումը OECD ուղեցույցներում դեռևս ապագայի խնդիր են:



Նկար 105. Հաջորդ սերնդի ԴՆԹ կոմետ մեթոդի սխեման (Sykora et al., 2018):

Գրականության ցանկ

1. Ji Y, Karbaschi M, Abdulwahed A, Quinete NS, Evans MD, Cooke MS. A High-Throughput Comet Assay Approach for Assessing Cellular DNA Damage. J Vis Exp. 2022;(183):10.3791/63559. doi:10.3791/63559.
2. Sykora P, Witt KL, Revanna P, et al. Next generation high throughput DNA damage detection platform for genotoxic compound screening. Sci Rep. 2018;8(1):2771. doi:10.1038/s41598-018-20995-w.

Ամփոփում

Այս աշխատությունը թույլ է տալիս ընթերցողին պատկերացում կազմել մեր շրջակա միջավայրի բազմաբնույթ գործոնների գենաթունային ազդեցությունների ու դրանց կենսամարկերների առաջացման մոլեկուլային մեխանիզմների (պատճառների) մասին: Նաև բնութագրվում են գենաթույների խմբերը, դրանց դասակարգման խնդիրներն ու սկզբունքները: Ներկայացված են քիմիական միացությունների պոտենցիալ գենաթունային ակտիվության գնահատման համար վալիդացված ու OECD-ի կողմից ստանդարտացված մեթոդներն ու դրանց կիրառման առանձնահատկությունները:

Հակիրճ ներկայացված է նաև մարդու անհատական գենետիկական առանձնահատկությունների ու միջավայրի գործոնների նկատմամբ կենսաբանական պատասխանի կապը: Դրա հիման վրա ձևավորվում են ֆարմակոգենոմիկայի ու անհատականացված կենսաբժշկության արդի սկզբունքները:

Այսպիսով՝ գենետիկական թունաբանությունը մշտապես զարգացող ոլորտ է, որի անհրաժեշտությունը բխում է մարդու կենսակերպից և շրջակա միջավայրի ու մարդու միջև բարդ փոխհարաբերությունների թունաբանական մեխանիզմները ըմբռնելու անհրաժեշտությունից: Ուստի յուրաքանչյուր երկրի, հատկապես Հայաստանի համար ռազմավարական նշանակություն ունի մարդու վրա ճառագայթային, քիմիական ու կենսաբանական, ինչպես նաև բարձր սթրեսային գործոնների գենաթունային ազդեցության գնահատման համար ենթակառուցվածքի ստեղծումը: Այդ նպատակով անհրաժեշտ է ձևավորել գենաթունաբանության, գենոմիկայի, մոլեկուլային կենսաբանության, քիմիայի, բժշկության ու ճառագայթային անվտանգության ոլորտների մասնագետներից կազմված աշխատանքային խմբեր ու համակարգված իրականացնել գիտափորձարարական հետազոտու-

թյուններ: Այսպիսի բազմակողմանի մոտեցումը թույլ կտա նույնականացնել մարդկանց այն խմբերը, որոնք առավել հակված կլինեն ախտաբանական տարբեր երևույթների զարգացման նկատմամբ, ու ապագայում դրանք նվազեցնել կամ կանխարգելել:

Գենետիկայի ու արհեստական բանականության ոլորտների համակցումն ունի կիրառական նշանակություն առողջապահության ոլորտի տարբեր մակարդակներում: Արհեստական բանականության ոլորտի սրընթաց զարգացումն ու դրա ինտեգրումը գենոմային հետազոտություններում թույլ են տվել բարձրացնել գենաթունային ու կանցերոզեն հատկություններով միացությունների հայտնաբերման ու դրանց կենսաբանական թիրախների կանխատեսման հնարավորությունները:

Կենսաբանական պատասխանը կանխատեսող մոդելների մշակումը ներկայումս առանձին գիտաճյուղերից է, որը Պարացելսի գործունեության տարիներին կարող էր համարվել հերետիկոսություն: Հենրի Զիգերիստը (պատմաբան, Կանադայի առողջական ապահովագրության հիմնադիրներից մեկը), նկարագրելով Պարացելսին իր գրքում, նշում է. **«Բավականին հեշտ է լինել ուղղափառ ու ստանալ դափնիներ՝ կրկնելով այն, ինչ մարդիկ ակնկալում և ցանկանում են լսել: Սակայն առաջընթացը տեղի է ունենում գաղափարների բախման շնորհիվ, և Պարացելսի նման հերետիկոսները այն ֆերմենտներն են, առանց որոնց կյանքը հնարավոր չէր լինի»:**

Հետաքրքիր կլինի պարզել՝ ինչպիսի նոր «հերետիկոսություններ» կկատալիզեն մեր հետագա զարգացումը:

Резюме

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНОТОКСИКОЛОГИЯ

Тигран Арутюнян

Книга позволяет читателю сформировать представление о генотоксическом воздействии многообразных факторов окружающей среды и о молекулярных механизмах (причинах) формирования соответствующих биомаркеров. Также характеризуются группы генотоксикантов, рассматриваются проблемы и принципы их классификации и стандартизированные методы тестирования.

Кратко представлена связь между индивидуальными генетическими особенностями человека и биологическим ответом на факторы окружающей среды. На этой основе формируются и развиваются современные направления персонализированной биомедицины. Кроме того, обсуждается значение сочетания методов генетики и искусственного интеллекта для сферы здравоохранения, включая выявление потенциально канцерогенных соединений и прогнозирование биологических мишеней.

Таким образом, генетическая токсикология является постоянно развивающейся областью, необходимость которой обусловлена образом жизни человека и важнейшей задачей понимания токсикологических механизмов сложных взаимоотношений между человеком и окружающей средой. Поэтому для каждой страны, особенно для Армении, стратегическое значение имеет создание инфраструктуры для оценки генотоксического воздействия радиационных, химических и биологических, а также высокострессовых факторов на человека.

Такой многоплановый подход позволит идентифицировать группы людей, предрасположенных к развитию патологических процессов, что даст возможность предотвратить или уменьшить негативные последствия для здоровья и общую нагрузку на систему здравоохранения.

Summary

MOLECULAR GENETIC TOXICOLOGY

Tigran Harutyunyan

This book enables the reader to gain an understanding of the genotoxic effects of diverse environmental factors and the molecular mechanisms (causes) underlying the formation of their biomarkers. It also describes the major groups of genotoxic factors, the problems and principles of their classification, and standardized testing methods.

The relationship between individual genetic characteristics and the biological response to environmental factors is presented in brief. On this basis, modern fields of personalized biomedicine are being formed and developed. The book also discusses the importance of integrating genetics and artificial intelligence methods in healthcare, including the identification of potentially carcinogenic compounds and the prediction of biological targets.

Thus, genetic toxicology is a continuously evolving field, the necessity of which arises from human lifestyle and from the critical need to understand the toxicological mechanisms underlying the complex interactions between humans and the environment. Therefore, for every country, especially for Armenia, it is of strategic importance to establish infrastructure for assessing the genotoxic effects of radiation, chemical, biological, and high-stress factors on humans.

Such a comprehensive approach will make it possible to identify groups of individuals who are more susceptible to the development of various pathological conditions, thereby helping to prevent or reduce adverse health effects and the overall burden on the healthcare system.

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ՏԻԳՐԱՆ ԱՇՈՏԻ ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

ՄՈԼԵԿՈՒԼԱՅԻՆ
ԳԵՆԱԹՈՒՆԱԲԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

Համակարգչային ձևավորումը՝ Կ. Չալարյանի
Կազմի ձևավորումը՝ Ա. Պատվականյանի
Հրատ. խմբագրումը՝ Մ. Հովհաննիսյանի

Հեղինակը հաստատում է, որ ծանոթ է «ԵՊՀ գրահրատարակչական քաղաքականությանը», և գրքում առկա փաստերը, դիրքորոշումները, կարծիքները շարադրված են հեղինակային իրավունքի ու էթիկայի միջազգայնորեն ընդունված սկզբունքների պահպանմամբ:

Տպագրված է «ՄՌԱՎ ՊՐԻՆՏ» ՍՊԸ-ում:
Կոտայքի մարզ, Ջրվեժ, գ. Ջորաղբյուր, 99 թաղ, 41:

Հրատարակվել է՝ 15.06.2026:
Չափսը՝ 60x84 ¹/₁₆: Տպ. մամուլը՝ 25.75:
Տպաքանակը՝ 100:

ԵՊՀ հրատարակչություն
ք. Երևան, 0025, Ալեք Մանուկյան 1
www.publishing.yu.am



publishing.y-su.am