

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ტაბატაძე ნინო მერაბის ასული

ქრონოსმათა რაოდენობრივ-სტრუქტურული დარღვევების სიხშირე და
ტრანსკრიპციული აქტივობის მახასიათებლები დემენციების დროს

03.00.15.-გენეტიკა

დისერტაცია

ბიოლოგიურ მეცნიერებათა კანდიდატის სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად

მეცნიერ ხელმძღვანელი:

ბიოლოგიურ მეცნიერებათა დოქტორი,

პროფესორი თ.ა. ლეჟავა

თბილისი

2005

შესავალი - - - - -

1. ლიტერატურის მიმოხილვა - - - - -

1.1 დემენციების ზოგადი დახასიათება - - - - -

1.2 დემენციების კლასიფიკაცია - - - - -

1.3 ალცჰაიმერის დაავადების სინშირე, პათოგენეზი და დიაგნოსტიკა - - - - -

1.4 ად-ს გენეტიკური ასპექტები - - - - -

1.4.1 ამილოიდის წინამორბედი ცილა (აწც) - - - - -

1.4.2 პრესენილინების როლი ად-ს პათოგენეზში - - - - -

1.4.3 tau-პროტეინი და მისი ფოსფორილირების რეგულაცია - - - - -

1.4.4 აპოლიპოპროტეინ E-ს კავშირი ად-ს გვიან ფორმასთან - - - - -

1.4.5 ად-ს განმაპირობებელი სხვა გენები - - - - -

1.5 ალცჰაიმერის დაავადება და აპოპტოზი - - - - -

1.6 ად-ს მკურნალობის სტრატეგია - - - - -

1.7 ვასკულარული დემენციის ზოგადი დახასიათება - - - - -

1.8 ად-საგან განსხვავებული ტიპის დემენციათა გენეტიკური ასპექტები - - - - -

1.7 ციტოგენეტიკური მახასიათებლების შესწავლა ად-ს დროს - - - - -

1.8 ბირთვაკმაროგანიზებული უბნების ფუნქციური მახასიათებლები ზოგიერთი პათოლოგიის დროს - - - - -

1.9 ინტერფაზური ბირთვაკმაროგანიზებული უბნების სინშირე და განაწილება ნორმასა და პათოლოგიების დროს - - - - -

2. კვლევის მასალა და მეთოდები - - - - -

2.1 კვლევის ობიექტი - - - - -

2.2 პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტების კულტივირება
და ქრომოსომული პრეპარატების მიღება - - - - -

2.3 ქრომოსომების რაოდენობრივ-სტრუქტურული დარღვევების
აღრიცხვა და მიღებული შედეგების სტატისტიკური
დამუშავება - - - - -

2.4 ლიმფოციტების ტრანსკრიპციული აქტივობის შეფასება
Ag-NOR ტესტის მიხედვით - - - - -

2.5. ქრომოსომების C-ბენდირება - - - - -

2.6. ბირთვაკმორგანიზებელი უბნების (NORs) შესწავლა
ინტერფაზურ ბირთვებში - - - - -

2.7 ცილათა ანალიზი ვესტერნ ბლოტინგის მეშვეობით - - - - -

2.8 აზოტის ნიტრიტის რაოდენობის განსაზღვრა
უჯრედულ კულტურაში - - - - -

2.9 დნმ-ის გამოყოფა და მეთილირება - - - - -

3. გამოკვლევათა შედეგები - - - - -

3.1. ქრომოსომათა სტრუქტურული და რაოდენობრივი დარღვევები
ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი სპორადიული ფორმითა და
ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში - - - - -

3.1.1. ქრომოსომული აბერაციების სიხშირე - - - - -

3.1.2. ანეუპლოიდია და პოლიპლოიდია - - - - -

3.2. ბირთვაკმორგანიზებელი უბნების ტრანსკრიპციული აქტივობა
ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი სპორადიული ფორმითა და
ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში - - - - -

3.2.1. Ag-პოზიტიური ბირთვაკმორგანიზებელი უბნების
სიხშირე და მათი განაწილება - - - - -

3.2.2. აკროცენტრული ქრომოსომების ასოციაციების

3.3. C-სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის პოლიმორფიზმი
ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი სპორადიული ფორმითა
და ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში - - - -

3.4. ინტერფაზური ბირთვაკის ორგანიზატორების სიხშირე
სენილური დემენციების დროს - - - - -

3.5. ინტერლეიკინ 1 α -ს გენის პოლიმორფიზმის როლი ალცჰაიმერის
დაავადების პათოგენეზში - - - - -

3.6 ტრანსკრიპციული ფაქტორი NF κ B და მისი აქტივობის
შეფასება ნეირონებში - - - - -

3.7. დნმ-ის მეთილირების სტატუსის შეფასება სიმსიენის სუპრესორ
გენსა (TNF- α) და ინტერლეიკინ 1 α -ს გენში ალცჰაიმერის
დაავადების დროს - - - - -

განსჯა - - - - -

დასკვნები - - - - -

ლიტერატურის სია - - - - -

შესავალი

თემის აქტუალობა. ინტენსიური კვლევების მიუხედავად ბევრი საკითხი ისეთი ნეიროპათოლოგიური მდგომარეობისათვის როგორც დემენციაა, ჯერ კიდევ ამოუცნობად რჩება. მეცნიერთა დიდი ყურადღება ამ საკითხისადმი ძირითადად განპირობებულია დაავადების საკმაოდ მაღალი სიხშირითა და ფორმათა მრავალფეროვნებით. დემენციის ერთ-ერთი ყველაზე უფრო გავრცელებული მემკვიდრული ფორმაა ალცჰაიმერის დაავადება (ად). მიუხედავად იმისა, რომ დღეისათვის უკვე კარგად არის ცნობილი აღნიშნული დაავადების ეთიოლოგია და თავის ტვინში მიმდინარე პათომორფოლოგიური ცვლილებები, მისი დიაგნოსტიკა საკმაოდ გაძნელებულია ინდივიდუალური კლინიკური ნიშნების უქონლობის გამო. დღეისათვის ერთადერთი გზა ად-ს უტყუარი დიაგნოზისათვის არის დაავადებისთვის დამახასიათებელი ამილოიდური გროვების დეტექცია ტვინის ქსოვილში, რაც შესაძლებელია მხოლოდ აუტოფისიას post mortem ტვინის ანატომებზე. იმისათვის, რომ ად გავმიჯნოთ დემენციის სხვა ფორმებისაგან ინდივიდის სიცოცხლეში აუცილებელია კლინიკურ ნიშნებს თან დაერთოს გენეტიკური ტესტი (Ballard, 2004; Cummings, 2004).

ვასკულარული დაავადება არის დემენციის ყველაზე მნიშვნელოვანი მიზეზი ალცჰაიმერის დაავადების შემდეგ. ვასკულარული დემენციის პათოგენეზში წამყვანი ადგილი უჭირავს ეგზოგენურ ფაქტორებს და ნეიროდეგენერაცია ამ შემთხვევაში ძირითადად განპირობებულია ჟანგბადის დეფიციტით რომელიც მყარდება ტვინის ქსოვილში ინსულტის ან იშემიური მდგომარეობის ფონზე. პაციენტთა უმრავლესობას შეიძლება ჰქონდეს კლინიკური და პათოლოგიური ნიშნები დამახასიათებელი როგორც ად-ს ისე ვასკულარული დემენციისათვის. დემენციის ტიპის იდენტიფიცირება დღეისათვის საკმაოდ მნიშვნელოვან პრობლემას წარმოადგენს კლინიკისთვის, ვინაიდან ალცჰაიმერის დაავადებისა და

ვასკულარული დემენციის მკურნალობის სტრატეგია სრულიად განსხვავებულია (Hentschel et al., 2004; Jindahra et al., 2004).

ამდენად აღნიშნულ პათოლოგიათა გენეტიკური შესწავლა სხვადასხვა ტესტ-სისტემების გამოყენებით, რომლებიც მოგვცემენ მათი დიფერენცირების საშუალებას, საკმაოდ აქტუალურ საკითხად მოიაზრება. ჩვენ საინტერესოდ მივიჩნიეთ იმუნოკომპეტენტური უჯრედების ციტოგენეტიკური მახასიათებლების შესწავლა ვასკულარული დემენციისა და ალცჰაიმერის დაავადების გვიან სპორადიულ ფორმაზე სავარაუდო დიაგნოზის მქონე ინდივიდებში, ვინაიდან აღნიშნული უჯრედების და მთლიანად ორგანიზმის ნორმალური ფუნქციონირება განისაზღვრება გენეტიკური პომეოსტაზით და ნებისმიერი დარღვევა გენეტიკურ სტრუქტურებში აისახება მათი ფუნქციების შეცვლაში, რაც საბოლოო ჯამში იწვევს ორგანიზმში მიმდინარე სასიცოცხლო პროცესების დარღვევებს (Ильинских и др. 1989). მართალია, ად-სა და დემენციის სხვა ფორმების ციტოგენეტიკური კვლევები ბოლო წლებში ინტენსიურად მიმდინარეობს, მაგრამ ერთი გარკვეული შეხედულების ჩამოყალიბება დაავადების ციტოპათოლოგიური სურათის შესახებ მაინც ვერ ხერხდება მონაცემთა წინააღმდეგობრივი ხასიათის გამო. ამასთან, ჩვენს კვლევებს დამატებით აქტუალობას სძენს დემენციის აღნიშნული ორი ფორმის ერთობლივად შესწავლა და მიღებული შედეგების ურთიერთშედარება რასაც საკმაოდ დიდი კლინიკურ-პრაქტიკული ღირებულება გააჩნია.

სამუშაოს მიზანი. ნაშრომის ძირითად მიზანს წარმოადგენდა ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი ფორმითა და ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში მემკვიდრულ სტრუქტურათა ფუნქციური მაჩვენებლების დახასიათება. ამასთან უნდა აღინიშნოს, რომ დემენციისა და საკუთრივ ად-ს განმაპირობებელ ძირითად რისკ-ფაქტორად ასაკი მოიაზრება. ბოლო წლებში ინტენსიურად მიმდინარეობს საუბარი იმაზე, რომ დაბერების პროცესში პროგრესული პეტეროქრომატინინზაცია ადამიანის გენომში განაპირობებს მთელი რიგი უბნების “გაჩუმებას” და ტრანსკრიპციული აქტივობის დათრგუნვას, რაც აისახება კიდევ ხანდაზმულ ინდივიდებში აკროცენტრულ ქრომოსომათა რიბოსომული ცისტრონების

დაქვეითებულ აქტივობასა და გარკვეულ ცილათა დეფიციტზე ორგანიზმში (Lezhava, 2001). ამდენად ჩვენი შედეგები ასაკთან მიმართებაში განვიხილეთ და ამ მიზნით შევადარეთ ისინი ორ საკონტროლო ჯგუფს – ხანდაზმულები (70-80წწ.) და ახალგაზრდები (20-30წწ.).

აღნიშნულიდან გამომდინარე, ჩვენს მიერ დასახული იქნა შემდეგი ამოცანები:

1. ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი ფორმითა და ვასკულარული დემენციით დაავადებულთა პერიფერიული სისხლის კულტივირებულ ლიმფოციტებში გენომის არასტაბილობის განსაზღვრა ქრომოსომათა სტრუქტურული და რაოდენობრივი დარღვევების აღრიცხვის გზით.

2. რიბოსომული გენების ტრანსკრიპციული აქტივობის განსაზღვრა Ag-ბენდირების მეთოდით ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი ფორმითა და ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში. ამ ტესტ-სისტემის გამოყენება გვაძლევს უჯრედების ფუნქციური მდგომარეობის შეფასების საშუალებას. ად-ს დროს მთელი რიგი ორგანიზმისათვის უცხო და ანომალური ცილების სინთეზი უნდა აისახოს აკროცენტრული ქრომოსომების ბირთვკ-მარგანიზებული უბნების მორფო-ფუნქციურ მახასიათებლებზეც.

3. სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის ცვალებადობის შესწავლა C-ჰეტეროქრომატინული ბლოკების პოლიმორფიზმის გამოვლენის საფუძველზე (1-ელი, მე-9 და მე-16 ქრომოსომა) ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი ფორმისა და ვასკულარული დემენციის დროს.

4. ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი ფორმითა და ვასკულარული დემენციით დაავადებული ინდივიდების პერიფერიული სისხლის არასტიმულირებულ ლიმფოციტებში უჯრედული ციკლის დინამიკის შესწავლა.

5. ალცჰაიმერის დაავადებისას თავის ტვინში მიმდინარე ანთებით პროცესზე პასუხმგებელი ინტერლეიკინ 1-ის გენის პოლიმორფიზმის შესწავლა.

6. ალცჰაიმერის დაავადების დროს ნერვულ ქსოვილში ანთების მაკროვოცირებულ ფაქტორთა გენებში დნმ-ის მეთილირების ხარისხის შესწავლა.

ნაშრომის მეცნიერული სიახლე და თეორიულ-პრაქტიკული მნიშვნელობა. ჩატარებულ იქნა დემენციის ორი სხვადასხვა ფორმით (ალცჰაიმერის დაავადება და ვასკულარული დემენცია) დაავადებულ ინდივიდთა პერიფერიული სისხლის კულტივირებულ და ინტაქტურ ლიმფოციტებში ქრომოსომათა სტრუქტურულ-რაოდენობრივი დარღვევების, ტრანსკრიპციული აქტივობისა და უჯრედული ციკლის დინამიკის ანალიზი. ასევე ჩატარებული იქნა ად-ით დაავადებული ადამიანის ასტროგლიურ უჯრედულ ხაზის (T98G), ველური და APP ტრანსგენური თაგვების კორტიკალური ნეირონებისა და მიკროგლიური უჯრედების მოლეკულური ანალიზი.

- პირველად დადგინდა, რომ ვასკულარული დემენციით დაავადებული პაციენტები ხასიათდებიან ქრომოსომათა სტრუქტურული აბერაციების სტატისტიკურად სარწმუნოდ მაღალი სიხშირით ალცჰაიმერის დაავადებისა და ხანდაზმულ ინდივიდთა საკონტროლო ჯგუფის შესაბამისი მაჩვენებლებისგან განსხვავებით.

- პირველად განისაზღვრა, რომ ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი სპორადიული ფორმითა და ვასკულარული დემენციით დაავადებული ინდივიდების ანეუპლოიდურ და პოლიპლოიდურ უჯრედთა საშუალო პროცენტული მაჩვენებლები მნიშვნელოვნად არ განსხვავდება იმავე ასაკის საკონტროლო ინდივიდთა შესაბამისი მაჩვენებლისაგან და სარწმუნოდ აღემატება ახალგაზრდა ჯანმრთელი დონორების მაჩვენებელს.

- პირველად იქნა შესწავლილი Ag-პოზიტიური ბირთვაკმაროგანიზებელი უბნებისა და აკროცენტრულ ქრომოსომათა თანამგზავრული ასოციაციების სიხშირე ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი ფორმითა და ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში. ნაჩვენებია, რომ დემენციის ორივე ფორმისას რიბოსომულ გენტა ტრანსკრიპციული აქტივობა არ განსხვავდება ხანდაზმულ ინდივიდთა საკონტროლო ჯგუფის შესაბამისი მაჩვენებლისაგან.

- პირველად განისაზღვრა C- სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის პოლიმორფიზმი ალცჰაიმერის დაავადებისა და ვასკულარული დემენციის დროს. განსხვავებული ჰეტეროგენულობა დაფიქსირდა სხვადასხვა ზომის ბლოკებთან მიმართებაში სამივე

შესწავლილი 1-ელი, მე-9 და მე-16 ქრომოსომისათვის დემენციის აღნიშნული ორი სხვადასხვა ფორმის მიმართ.

- პირველად იქნა შესწავლილი უჯრედული ციკლის დინამიკა ინტერფაზულ NOR-ებთან ასოცირებული ცილების (ნუკლეოლინი და ნუკლეოფოსმინი) რაოდენობრივი ანალიზის გზით ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი ფორმითა და ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში.

- პირველად განისაზღვრა რომ ინტერლეიკინ 1-ის გენის პოლიმორფიზმის ხარჯზე წარმოქმნილი ცილის ორი ფორმა განსხვავებულად იხლიჩება კალპეინ 1-ით ანუ განიცდის განსხვავებულ პოსტტრანსლაციურ მოდიფიკაციას.

- პირველად განისაზღვრა ბირთვული ფაქტორის NFκB-ის დამოკიდებულება p53 ცილასთან სტანდარტული აგენტის LPS-ის მოქმედების პირობებში.

- პირველად განისაზღვრა დნ-მ მეთილირების სტატუსი ად-ს დროს იმ გენებში რომლებიც პასუხისმგებელი არიან ნერვული ქსოვილის ანთებაზე.

დემენციის სხვადასხვა ფორმების გენეტიკურ და მოლეკულურ ბიოლოგიურ შესწავლას უაღრესად დიდი თეორიული და პრაქტიკული მნიშვნელობა აქვს, რაც ხელს შეუწყობს დაავადების ადრეულ დიაგნოსტიკას, პროგნოზირებასა და მის მიმართ წინასწარგანწყობის გამოვლენას მისი შემდგომი პრევენციის მიზნით.

აპრობაცია. ნაშრომი აპრობირებულ იქნა თბილისის ივანე ჯავახიშვილის სახელობის სახელმწიფო უნივერსიტეტის გენეტიკის კათედრისა და კარიოლოგიისა და ეკოლოგიური გენეტიკის სამეცნიერო-კვლევითი ლაბორატორიის გაერთიანებულ სხდომაზე 2005 წლის 22 ივნისს.

დისერტაციის მასალები მოხსენებული და განხილულია: თსუ მაგისტრანტთა 63-ე სამეცნიერო რესპუბლიკურ კონფერენციაზე (თბილისი, 2003); II სამეცნიერო კონფერენციაზე "გენეტიკის აქტუალური საკითხები" (თბილისი, 2004) ასევე ნევროლოგიის ინსტიტუტის სამეცნიერო საბჭოზე, თსუ ფიზიოლოგიის კათედრასა და გერონტოლოგთა XVIII საერთაშორისო კონფერენციაზე (რიო-დეჟანეირო, 2005).

პუბლიკაცია. სულ გამოქვეყნებულია 8 სამეცნიერო ნაშრომი, აქედან დისერტაციის მასალები 6 სამეცნიერო სტატიის და 1 თეზისის სახით.

დისერტაციის სტრუქტურა და მოცულობა. სადისერტაციო ნაშრომი მოიცავს შესავალს, ლიტერატურის მიმოხილვას, მასალისა და მეთოდების აღწერას, შედეგების განსჯას, დასკვნებს და ციტირებული ლიტერატურის სიას. ნაშრომი წარმოდგენილია 149 ნაბეჭდ გვერდზე, ილუსტრირებულია 13 ცხრილითა და 21 სურათით.

1. ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1 დემენციების ზოგადი დახასიათება

ინტელექტი განისაზღვრება როგორც ცნებათა შემეცნების, მათი ურთიერთკავშირის დადგენისა და მათზე მსჯელობის უნარი. ეს განსაკუთრებულად რთული ფსიქიკური ფუნქცია მოიცავს მრავალ კომპონენტს – გამოცდილება, მეხსიერება, დასწავლის უნარი, ყურადღება, შემეცნება, აბსტრაქტული და ასოციაციური აზროვნება, მეტყველება, მათემატიკური შესაძლებლობანი და ორიენტაცია. არსებობს ინტელექტის დაზიანების მრავალი ფორმა, რომელთაც დემენციის სახელწოდებით აერთიანებენ. დემენცია შეიძლება განისაზღვროს როგორც ინტელექტუალური ფუნქციების პროგრესული გაუარესება, რაც მნიშვნელოვნად უშლის ხელს ინდივიდის საქმიანობას. აღნიშნული ტერმინი აერთიანებს მთელ რიგ ერთმანეთთან მჭიდროდ დაკავშირებულ სინდრომებს, რომელთა მთავარ მახასიათებელს წარმოადგენს არა მარტო ინტელექტის დაზიანება, არამედ მკვეთრად გამოხატული ქცევითი ანომალიები (Zaborszky, 2002). დემენცია შეიძლება განვითარდეს ნებისმიერ ასაკში და შემდგომში პროგრესირებდეს ან დარჩეს ერთსა და იმავე დონეზე. ამ უკანასკნელის შემთხვევაში ავადმყოფს არ აღენიშნება შემეცნებითი ფუნქციის მწვავე მოშლა და ზოგიერთი ტიპის ფსიქიკური დარღვევა. ქერქის რომელიმე ფუნქციის იზოლირებული დაზიანება (მაგალითად აფაზია) არ მიეკუთვნება დემენციას, მიუხედავად იმისა, რომ ამ შემთხვევაშიც შესაძლოა თანამდევ ფაქტორს წარმოადგენდეს ინტელექტის დაქვეითება (Фернандес и др., 1993). ნეიროფსიქოლოგიური ტესტირებით დადგინდა, რომ დაბერებისას, ალცჰაიმერის დაავადების (ად) და სხვა დემენციების დროს ზიანდება ხუთი კოგნიტური სისტემა: ეპიზოდური მეხსიერება (სპეციფიური ცხოვებისეული მოვლენების დამახსოვრების უნარი), სემანტური მეხსიერება (ზოგადი ცოდნა), საბუზო მეხსიერება (ახალი ინფორმაციის ათვისებისა და დამუშავების უნარი),

შედარებითი აზროვნება და სპეციფიური ვიზუალური შესაძლებლობები (Ballard, 2004).

დემენცია წარმოადგენს მთავარ კლინიკურ ნიშანს ისეთი დაავადებისათვის, როგორცაა: ალცჰაიმერის დაავადება, პარკინსონის დაავადება (პდ), პიკის დაავადება, ჰანტინგტონის ქორეა, სტილ-რიჩარდსონ-ოლშვესკის სინდრომი, ბინსვანგერის დაავადება და სხვ. ყველა მათგანი ხასიათდება ატროფიული ცვლილებებით თავის ტვინში, თუმცა ნეირონების კარგვას ადვილი აქვს ტვინის სხვადასხვა უბანში. მიუხედავად განსხვავებული ეთიოლოგიისა აღნიშნული პათოლოგიები ხასიათდება მსგავსი კლინიკური გამოვლინებებით, რაც ართულებს მათ ურთიერთგამიჯენასა და დიაგნოსტიკას (Селко, 1992).

დემენციების სიხშირე პოპულაციაში 65 წელზე ზემოთ 5%-ს შეადგენს, ხოლო 85 წელზე ზემოთ 33-50%-ია (Ritchie et al., 2002). დემენციების დიაგნოსტიკური და სტატისტიკური ანალიზით დადგინდა, რომ 95 წლის ასაკის ქალებში დაავადების რისკი გაცილებით მაღალია (55%) ამავე ასაკის მამაკაცებთან შედარებით (37%) (Borjesson-Hanson et al., 2004). დემენციების ერთ-ერთი ძირითადი რისკ ფაქტორია მემკვიდრეობითობა. დღეისათვის მრავალი გენია იდენტიფიცირებული, რომლებიც გავლენას ახდენენ ამ მძიმე დაავადების პათოგენეზზე. აღნიშნულ ფაქტზე დაყრდნობით შემუშავებულია დემენციის ფორმათა ახლებური კლასიფიკაცია. ცხრილში 1.2 მოცემულია დაავადების გენეტიკური ფორმები, მათი სიხშირე და პასუხისმგებელი გენები (Pogaev, 1999).

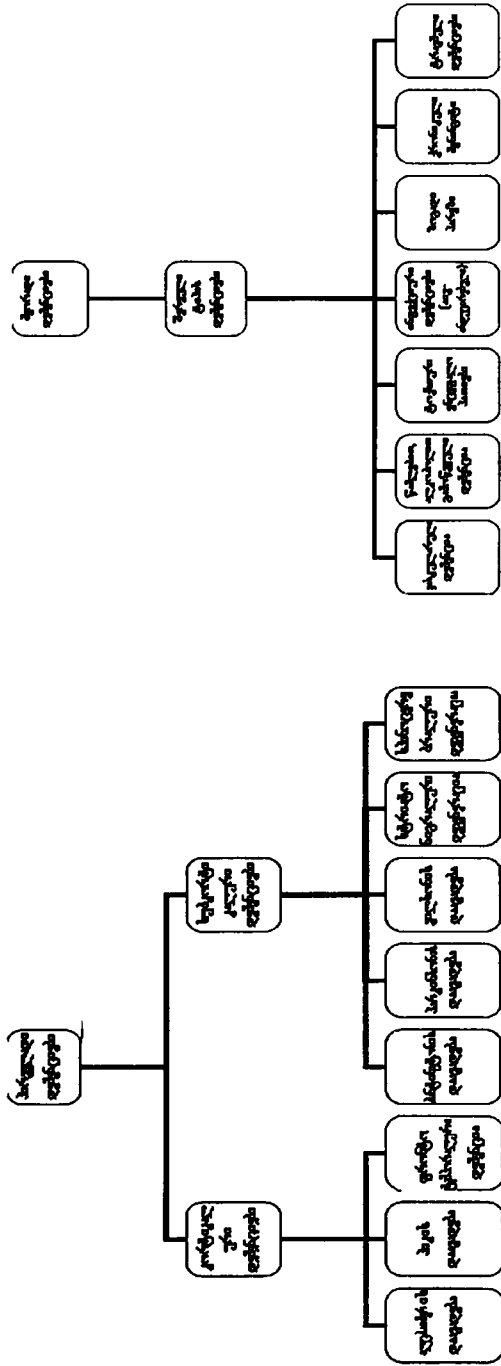
1.2 დემენციების კლასიფიკაცია

დემენციები მათ ეთიოლოგიაზე დაყრდნობით იყოფა ორ ღიდ ჯგუფად: პირველადი და მეორადი დემენციები (სურ. 1.2.). პირველადს მიეკუთვნება კორტიკალური და სუბკორტიკალური დემენციები. ტერმინი "სუბკორტიკალური დემენცია" პირველად შემოიტანა ალბერტმა 1974 წელს, პროგრესირებადი სუპრანუკლეარული პარალიზის

ალცჰაიმერის დაავადების და სხვა დემენციების კლინიკური ფორმები	მუტაციები გენებში	ქრომოსომები
1. ად-ს ადრეული ოჯახური ფორმა აუტოსომურ-დომინანტური მემკვიდრეობის ტიპით (30-50წ).	აწყ (<5%) პს-1 (>20-70%) პს-2 (<1-5%) სხვა გენები (<30%)	21 14 1
2. ად-ს ადრეული და გვიანი სპორადიული ფორმები (30-80წ).	აპოE (20-50%) სხვა გენები (>50%)	19
3. ად-ს გვიანი ოჯახური და სპორადიული ფორმები (70წ-ზე ზემოთ).	უცნობი გენი სხვა გენები	12, 9 1, 6, X
4. "პრიონული" დემენცია მულტიინფარქტული ან "შერეული" დემენციები.	tau (<1-10%) აპოE (<20%)	17 19

ცხრილი 1.2 დემენციათა გენეტიკური ფორმები, მათი სიხშირე და დაავადებაზე პასუხისმგებელი გენები.

დახასიათების მიზნით. აღნიშნული პათოლოგია ხასიათდება მეხსიერების პროგრესული დაქვეითებით. ძირითად სიმპტომატიკას წარმოადგენს ბრადიფრენია, ცვლილებები ხასიათში (სპათია და დეპრესია), ასევე შეძენილი ცოდნის გამოყენების უუნარობა. ეს კლინიკური სურათი შეადარეს ისეთ კორტიკალურ დემენციებს როგორცაა ალცჰაიმერის დაავადება, პიკის დაავადება და ფრონტოტემპორალური დემენცია. მათთვის ძირითადი დამახასიათებელი ნიშანია აშკარა ამნეზია, აფაზია (მეტყველების დარღვევა), აგნოზია (დარღვევები ნივთების შეცნობის პროცესში) და აპრაქსია (მოტორული ქმედებების დარღვევა). ვაითჰაუსი თავის შრომებში მიუთითებს, რომ ტერმინები "სუბკორტიკალური" და "კორტიკალური" ხაზს უსვამს



სურათი 1.2. დემენციების კლასიფიკაცია.

თავის ტვინში ამ უბნების დამოუკიდებლობას. უნდა აღინიშნოს, რომ ნეირონული კავშირების სიმრავლის გამო ტვინის ფუნქციური ორგანიზაცია თავის თავში არ გულისხმობს ანატომიური და ტოპოგრაფიული ერთეულების გამოყოფას. ცხოველებზე ჩატარებული ექსპერიმენტების თანახმად, დარღვევები იმ ფუნქციურ სისტემებში, რომლებიც აკავშირებს სუბკორტიკალურ და კორტიკალურ უბნებს, ნებისმიერ ღონეზე განაპირობებს იდენტური ქცევითი დეფექტების პროვოცირებას (Zaborszky, 2002).

მიუხედავად იმისა, რომ დემენციის სხვადასხვა ფორმები ხასიათდება მსგავსი კლინიკური გამოვლინებებით, მაინც არსებობს რიგი ინდივიდუალური ნიშნები. სუბკორტიკალური დემენციები ჩვეულებრივ მიმდინარეობს მკვეთრად გამოხატული მოტორული დარღვევებით (პარკინსონიზმი, კუნთების რიგიდულობა, ბრადიკინეზია, ატაქსია, ტრემორი), მაშინ როცა კორტიკალური დემენციები ავლენენ მოტორული სისტემის დეფექტებს განვითარების მხოლოდ გვიან ეტაპზე.

მეორადი დემენციების პათოგენეზში წამყვანი როლი ევზოგენურ ფაქტორებს ეკუთვნის. მათგან აღსანიშნავია ვასკულარული დემენცია, რომლის დროსაც წარმოდგენილია კორტიკალურ და სუბკორტიკალურ სიმპტომთა ერთობლიობა. მეორადი დემენციების გამომწვევ ძირითად ფაქტორებს მიეკუთვნება სხვადასხვა ტიპის იშემიები, ჰიპერტენზია, ალკოჰოლი, სხვადასხვა ფარმაკოლოგიური აგენტები, ინფექციები (აივ, პრიონები), მძიმე მეტალები (ტყვია, დარიშხანი, ვერცხლისწყალი, მანგანუმი) და სხვ. (Rostasy et al., 2003; Cosentino et al., 2004; Malaguamera et al., 2004).

|

1.3 ალცჰაიმერის დაავადების სიხშირე, პათოგენეზი და

დიაგნოსტიკა

დემენციის ყველაზე გავრცელებული ფორმაა ალცჰაიმერის დაავადება (მთელი დემენციების 55%-ს შეადგენს), რომელიც 1907 წელს აღწერა გერმანელმა ფსიქიატრმა და ნევროპათოლოგმა ალოის ალცჰაიმერმა. ეს მძიმე ნეიროფსიქიატრიული მდგომარეობაა, რომლის დროსაც შემეცნებითი ფუნქციის პროგრესული გაუარესება აღინიშნება, რასაც ემოციური და ქცევითი დარღვევებიც სდევს თან. ამ დროს ხდება ატროფიული ცვლილებები თავის ტვინში, რომლებიც თავს იჩენს სიბერეში და განაპირობებს ტოტალურ ჭკუასუსტობას (Фернандес и др., 1993). დაავადების კლასიკური კლინიკური ნიშნებია: მეხსიერების დაქვეითების ამნეზიური ტიპი, მეტყველების დარღვევა, ვიზუალური დეფიციტი, მოტორული და სენსორული ანომალიები. ადრეულ ეტაპზე ვითარდება ხასიათის ცვლილებები და პროგრესირებადი აპათია. ფსიქოზი და ავტაცია დამახასიათებელია დაავადების შუა და გვიანი ფაზებისათვის (Cummings, 2004).

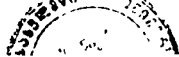
ავადყოფობა ჩვეულებრივ იწყება 65 წ-ის შემდეგ, თუმცა შეიძლება 40 წლის ასაკშიც განვითარდეს. ამაზე დაყრდნობით გამოყოფენ ად-ს ადრეულ და გვიან ფორმებს, თუმცა ისინი პათანატომიური ცვლილებებითა და კლინიკური გამოვლინებებით მსგავსია. თუმცა ად-ს ადრეული ფორმით დაავადებული ინდივიდები ჩვეულებრივ ხასიათდებიან უფრო მწვავე კლინიკური, პისტოპათოლოგიური და ნეიროქიმიური ანომალიებით (Zaborszky, 2002). 65 წლის ინდივიდებში დაავადების სიხშირეა 10,3%, ხოლო 85 წლის ზემოთ – 47,2%. იმ შემთხვევაში თუ არ შემუშავდა ახლებური თერაპიული მიდგომა, ნავარაუდევია, რომ 2050 წლისათვის მარტო აშშ-ში ად-ით დაავადებულთა რიცხვი 13.2 მილიონამდე გაიზრდება (Cummings, 2004; Bird, 2005).

სიცოცხლის ხანგრძლივობა მერყეობს 2-დან 20 წლამდე. პირველი ნიშანია მეხსიერების დაკარგვა და ის შუუქცევადად პროგრესირებს. ად-ს დროს ნეიროდეგენერაციის პროცესში ძალზედ მცირე ნაწილი ნეირონებისა იკარგება

ჰიპოთალამუსში და პირიქით, მნიშვნელოვანი რაოდენობის ნერვული უჯრედები იჩენს ტენდენციას დეგენერაციისაკენ შავ სუბსტანციასა (Substantia nigra) და ლურჯ ლაქაში (Locus coeruleus). საკმაოდ დიდი ზომის ნეირონები იკარგება ჰიპოკამპსა და ტვინის ქერქში (Rang et al., 1996). სამეცნიერო კვლევებმა აჩვენა, რომ ად-ს დროს ადგილი აქვს უპირატესად კორტიკალური ქოლინერგული ნეირონების კარგვას (50-80%) სეროტონინერგულ (40-50%) და ნორადრენერგულ (30%) ნეირონებთან შედარებით (Zaborszky, 2002; Ikonovic et al., 2005).

ად-ს დროს შეიმჩნევა 3 ტიპის სტრუქტურული ცვლილებები: (1) ნეირონების დიფუზური კარგვა უმთავრესად ჰიპოკამპსა და ახალ ქერქში; (2) უჯრედგარე ცილების დეპოზიტების დაგროვება, რომელთაც ამილოიდური ანუ სენილური გროვები – ლაქები ეწოდებათ; ისინი გარშემორტყმულია დისტროფიული ნეირიტებით; (3) უჯრედშიდა ცილების დეპოზიტების დაგროვება ნეიროფიბრილური გორგლების სახელწოდებით, რომლებიც წარმოიქმნება მიკრომილაკებთან ასოცირებული ცილის (მაგ) – tau-პროტეინის ჰიპერფოსფორილირებული ფორმისაგან. ამილოიდის დანალექები ხშირია მცირე ზომის სისხლძარღვებშიც. ტერმინი “ამილოიდი” ასახავს მრავალრიცხოვანი უჯრედგარე ცილოვანი დანალექების ჯგუფს, რომლებიც სხვადასხვა დაავადების დროსა აღმოჩენილი (სოლომონია, 2000). მაგალითად, ამილოიდური ანგიოპათიის შემთხვევაში, როცა ამილოიდური დანალექები გვხვდება მენინგოცერებრალურ სისხლძარღვებში. აღსანიშნავია, რომ ად-ს დროს ამილოიდური β -ცილის დეპოზიტები ნერვული ქსოვილის გარდა მრავლად არის წარმოდგენილი კანში, სუბკუტანურ ქსოვილსა და ნაწლავების ეპითელიუმში (Joachim et al., 1989).

ად-ს დიაგნოსტიკება საკმაოდ რთულია მისი გამომწვევი მიზეზების მრავალფეროვნებისა და ინდივიდუალური კლინიკური ნიშნების უქონლობის გამო. დაავადება კომპლექსურია და მას განაპირობებს არაერთი გენეტიკური ფაქტორი. იმისათვის, რომ ის გავმიჯნოთ დემენციის სხვა ფორმებისაგან აუცილებელია კლინიკურ ნიშნებს დაერთოს გენეტიკური ტესტი. კლინიკური თვალსაზრისით კი პირველადია მეხსიერების დაქვეითება, რომელიც შეუქცევადი პროგრესირებს და



შესაძლოა მეხსიერების სრულ დაკარგვამდეც მიგვიყვანოს. ამავე დროს ადგილი აქვს ინტელექტუალური აზროვნების გაუარესებას. თანამდევ სიმპტომებს წარმოადგენს ერთი ან მეტი ფსიქიკური დარღვევა, ღებორინტაცია და სხვ. დღეისათვის უტყუარი დიაგნოზის დასმა შესაძლებელია მხოლოდ post mortem ტვინის ანათლების ანალიზის შედეგად როცა უკვე ხერხდება ამილოიდური დანალექებისა და ნეიროფიბრილური გორგლების დეტექცია, ვინაიდან მათი აღმოჩენა ნეიროდიაგნოსტიკური აპარატურით საკმაოდ გაძნელებულია. თუმცა სპეციალისტები ცდილობენ სულ უფრო სრულყოფილ და დახვეწონ სადიაგნოსტიკო ტექნიკა და ტესტ-სისტემები (Dubler et al., 1986; Katzman, 2004). განვითარებადი სადიაგნოზო მეთოდები, რომლებიც დაფუძნებულია ბიოქიმიურ და ბიომარკერულ ანალიზზე შესაძლებლობას იძლევა მოვახდინოთ ად-ს დიაგნოსტიკა მისი განვითარების ადრეულ ეტაპზე ანუ მაშინ, როცა დაავადების მამოდიფიცირებელი მკურნალობა გაცილებით ეფექტურია და კარგ შედეგს იძლევა (Clark et al., 2003).

ალცჰაიმერის დაავადების დიაგნოზი უმეტესწილად ეფუძნება ნევროლოგიური და კომუნიკაციური დაავადებების ეროვნული ინსტიტუტისა და ალცჰაიმერის დაავადებისა და მასთან დაკავშირებული პათოლოგიების კვლევითი ასოციაციის (NINCDS-ADRDA) მიერ დადგენილ კრიტერიუმებს, რომელთა თანახმად დიაგნოზი კლასიფიცირდება როგორც: განსაზღვრული (კლინიკური დიაგნოზი ჰისტოლოგიური დასაბუთებით), სავარაუდო (ტიპური კლინიკური სინდრომი ჰისტოლოგიური დასაბუთების გარეშე) და შესაძლო (ატიპური კლინიკური ნიშნები ჰისტოლოგიური დასაბუთების გარეშე) (Cummins, 2004). დღეისათვის ერთადერთი გზა ად-ს უტყუარი დიაგნოზისათვის არის ამილოიდური გროვების დეტექცია ტვინის ქსოვილში, რაც შესაძლებელია მხოლოდ აუტოფსიით. სპეციალიზირებულ ცენტრებში ექიმი-ნევროლოგები იყენებენ სხვადასხვა საშუალებებს ად-ს სავარაუდო დიაგნოსტიკისათვის: სრულყოფილი სამედიცინო ისტორია, სამედიცინო ტესტები, ნეიროფსიქოლოგიური ტესტები და ტვინის სკანირება (Ballard, 2004).

ზოგიერთი ნეიროდეგენერაციული დაავადების მსგავსად ალცჰაიმერის დაავადებაც არის მულტიფაქტორული გამოწვეული გენეტიკური და არაგენეტიკური

მიზეზებით (St George-Hyslop et al., 2005). ად-ს რისკის უმთავრეს ფაქტორებს წარმოადგენს ასაკი, მემკვიდრულობა და ქალა-ტვინის ტრამვა. შესაძლო რისკის ფაქტორებს მიეკუთვნება ქრონიკული სტრესი, ფარისებრი ჯირკვლის დაავადებები, სასმელ წყალში ალუმინის მაღალი შემცველობა, ასევე მეტალებიდან თუთია, რკინა, სპილენძი და ვერცხლისწყალი (Godfrey et al., 2005). დებრესია, ეპილეპსია, დღის დიდი ასაკი, ვირუსული ინფექციები – მაგალითად, ჰერპესის ვირუსი (Poraeb, 1999; House et al., 2004; Becaria et al., 2005).

აღმოჩნდა, რომ ად ქალებში უფრო მაღალი სიხშირით არის წარმოდგენილი მამაკაცებთან შედარებით. დაავადების სიხშირის ასეთი სქესობრივი დიმორფიზმი ჯერჯერობით აუხსნელ პრობლემად რჩება (Ritchie et al., 2002).

1.4 ად-ს გენეტიკური ასპექტები

ბოლო ათეული წლის მანძილზე დადგინდა, რომ აღნიშნული დაავადების პათოგენეზში მონაწილეობენ გენეტიკური, მოლეკულური, უჯრედული და სისტემური ცვლილებები. ნეიროპათოლოგიურ დონეზე ად-ს ოჯახური და უფრო ხშირი სპორადიული ფორმების გამოიყვანა შეუძლებელია. უმთავრესი ფაქტორი, რომელიც ამ ფორმათა დიფერენცირების საშუალებას იძლევა არის ასაკი. ად-ს ადრეული ფორმის (30-50წ) აუტოსომურ-დომინანტური ოჯახური შემთხვევების გენეტიკური საფუძვლების შესწავლამ მკვლევარები მიიყვანა რამოდენიმე გენეტიკური ლოკუსის იდენტიფიკაციაზე (Frank, 2000; Panza et al., 2004).

1.4.1¹ ამილოიდის წინამორბედი ცილა (აწც)

პირველად იდენტიფიცირებული იქნა ლოკუსი 21-ე ქრომოსომაზე, რომელიც ამილოიდის წინამორბედ ცილას აკოდირებს. ეს გენი მოთავსებულია 21q 11.2-21.05 უბანში და მისი შესაბამისი საიდენტიფიკაციო მარკერებია D21S16, D21S13, და FB68L (Pulst et al., 1991). აღნიშნული გენი მოთავსებულია 21-ე ქრომოსომის იმ უბანთან ახლოს, რომელიც განიცდის ზემოქმედებას დაუნის სინდრომის დროს.

ამიტომ დაუნის სინდრომიან ავადმყოფებს, რომლებიც 50 წლამდე აღწევენ ალცჰაიმერიც ემართებათ. ამის საილუსტრაციოდ Migliore-მ და სხვ. ჩაატარეს 21-ე ქრომოსომის დაუნის სინდრომზე პასუხისმგებელი უბნის (21q 22.2) ანალიზი ორფერიანი ფლუორესცენტული *in situ* ჰიბრიდიზაციის(FISH) მეთოდის გამოყენებით. კვლევამ აჩვენა ანუპლოიდიის მაღალი სიხშირე 21-ე ქრომოსომასთან მიმართებაში ად-ს მქონე ინდივიდთა ლიმფოციტებში. შედეგები მიუთითებს, რომ ად-ს მქონე პაციენტებში 21-ე ქრომოსომის ტრისომიის მიხედვით მოზაიციზმი ავითარებს დემენციით განსაზღვრულ ფენოტიპს (Migliore et al., 1999).

ამილოიდის წინამორბედი ცილა არის ტრანსმემბრანული დომენის მქონე პროტეინი მრავლობითი ალტერნატიული ტრანსკრიპტებით, რომელთა ექსპრესია ხდება დენდრიტებში, უჯრედის სხეულებსა და აქსონებში. უჯრედული კულტურების კვლევამ აჩვენა, რომ აწც მონაწილეობს უჯრედთა გადარჩენაში, ნეირიტების ზრდაში, ნეიროპროტექციასა და უჯრედ-სუბსტრატულ ურთიერთქმედებაში. მისი ორი იზოფორმა (751 და 770) შეიცავს დომენს, რომელიც მოქმედებს როგორც სერინ-პროტეაზული ინჰიბიტორი. აწც-ს ნორმალური მეტაბოლური პროცესინგით მიიღება ამილოიდოგენური და არაამილოიდოგენური პროდუქტები. α-სეკრეტაზა მოქმედებს 612-ე უბანში. შედეგად მიიღება არაამილოიდოგენური 10-11 კდა მასის C-ტერმინალური პროდუქტი. β-სეკრეტაზა აწც-ს ხლეჩს 597-ე უბანში და წარმოიქმნება მემბრანასთან ასოცირებული 8-12 კდა მასის C-ტერმინალური ფრაგმენტი (Rutten et al., 2003). γ-სეკრეტაზული გახლეჩით მიიღება ექსტრაუჯრედული 39-43 ამინომჟავას შემცველი ამილოიდოგენური დომენი (Zaborszky, 2002).

ად-ს განმაპირობებელი ნეიროდეგენერაციისა და სინაფსების კარგვის პროცესების ასახსნელად საჭიროა გავარკვიოთ ამილოიდის წინამორბედი ცილის, მისი Aβ-ამილოიდური დომენისა და თავისუფალი Aβ პეპტიდის ფიზიოლოგიური ფუნქციები. ეს უკანასკნელი წარმოადგენს აწც-ს ნორმალურ მეტაბოლურ პროდუქტსა და ად-სთვის დამახასიათებელი ამილოიდური გროვების ძირითად სუბერთეულს. ტრანსგენური *Drosophila melanogaster*-ის და პირველადი ნეირონების

კვლევამ აჩვენა, რომ ნეირონებში აწც-ს ფიზიოლოგიური ფუნქცია უკავშირდება სინაფსური პროცესების რეგულაციას, მაშინ როცა, არანეირონულ უჯრედებში აწც არეგულირებს უჯრედ-უჯრედულ და უჯრედ-მატრიქსულ ადჰეზიას. აწც-ს აქსონური ტრანსპორტი დამოკიდებულია მის AB ღომენზე, რაც იმაზე მიუთითებს, რომ AB უბანს შეუძლია დაუკავშირდეს მოლეკულებს, რომლებიც აკონტროლებენ აქსონის გასწვრივ ტრანსპორტირებული ვეზიკულების ავსებას აწც-ით (Beyreuther, 2002). აწც-ს ინტრაუჯრედული ღომენი არეგულირებს ასევე γ -სეკრეტაზა დამოკიდებულ სასიგნალო სისტემაში ფოსფოინოზიტიდით გააქტივებულ კალციუმის სიგნალს. აწც-ს ინტრამემბრანულ პროტეოლიზს აქვს სასიგნალო ფუნქცია რაც ანალოგიურია Notch რეცეპტორული სისტემისა (Frank, 2000).

AB პეპტიდი წარმოიქმნება სხვადასხვა ნეირონულ კომპარტმენტებში, გრძელი ფორმა AB42 ებ/ცის გოლჯში უჯრედის ზედაპირზე ან მის მახლობლად, ხოლო მოკლე ფორმა კი წარმოიქმნება ენდოსომებში. AB42 აგრეგირდება და წარმოქმნის ოლიგომერებს გაცილებით უფრო სწრაფად ვიდრე AB40, ვინაიდან 42 ამინომჟავას შემცველი პეპტიდი შეიცავს ორით მეტ ჰიდროფობულ ამინომჟავას ნაშთს (Rachakonda et al., 2004). ჭარბ ინტრაუჯრედულ და ექსტრაუჯრედულ AB-ს შეუძლია ამ უკანასკნელის ფიზიოლოგიური ფუნქციის გარდაქმნა პათოგენურში რის შემთხვევაშიც ინჰიბირებას განიცდის ყველა იმ ცილის აქსონური ტრანსპორტი, რომლებიც იმავე სატრანსპორტო სისტემას იყენებენ რასაც აწც (Lu et al., 2003).

ამილოიდის წინამორბედი ცილის გენი მულტიგენების სუპეროჯახის წარმომადგენელია. მათგან ცნობილია 16 ჰომოლოგი ამილოიდის წინამორბედი ცილების ტიპის და აწც-ს ჰომოლოგები. აწც-ს სუპეროჯახის ყველა წევრს გააჩნია უჯრედთა ადჰეზიის უნარი. სხვადასხვა სახეობის ინდივიდთა კვლევამ აჩვენა, რომ აწც-ს AB ღომენი ხასიათდება მაღალი კონსერვატულობით, რაც მიუთითებს მის დიდ მნიშვნელობაზე. AB-ს პროდუცირება განპირობებულია აწც-ს β და γ სეკრეტაზული გახლეჩვით. გახლეჩვის შედეგად მიიღება AB40 და AB42 ნაშთები. ცნობილია, რომ უხსნადი AB42-ის მცირედ გაზრდილი რაოდენობაც კი საკმარისია

ად-ს გასავითარებლად. AB-ს ინტრაუჯრედული წარმოქმნის დონე მაღალია მხოლოდ ნეირონებში, რადგან არანერვულ უჯრედებში მნიშვნელოვანი რაოდენობა AB40 და AB42-ისა წარმოიქმნება მხოლოდ უჯრედის ზედაპირზე (Beyreuther, 2002; Marks et al., 2003).

β-სეკრეტაზა განაპირობებს აწც-ს გახლეჩვას 597-ე ამინომჟაგურ საიტზე. β-სეკრეტაზული გახლეჩვა ამზადებს საფუძველს შემდეგი γ-სეკრეტაზული გახლეჩვისათვის, რომელიც წარმოადგენს კრიტიკულ საფეხურს ად-ს პათოგენეზში. ამ ტიპის გახლეჩვას შეიძლება ორ მდგომარეობაში ჰქონდეს ადგილი. შესაბამისად წარმოიქმნება 40 და 42 ამინომჟაგური ნაშთის შემცველი AB. ნორმაში გვხვდება ორივე, თუმცა AB40 ბევრად სჭარბობს მეორეს, ამასთან AB42 *in vitro* სისტემაში უფრო ადვილად წარმოქმნის ფილამენტებს. საკმაოდ პრობლემურია საკითხი, თუ რა განაპირობებს γ-სეკრეტაზას მიერ გახლეჩვის საიტის არჩევას. მუტაციები 670-ე და 692-ე მდგომარეობაში ზრდიან მთლიანი AB-ს რაოდენობას, ხოლო მუტაციები 717-ე მდგომარეობაში AB42-ის რაოდენობას. თუმცა ყველა ეს მუტაციები განაპირობებენ ად-ს განვითარებას, რაც განპირობებულია ალბად, γ-სეკრეტაზასათვის სუბსტრატის მოჭარბებული რაოდენობით მიწოდებით. AB-ს გაძლიერებულმა ანაბოლიზმმა შეიძლება გამოიწვიოს მისი დეპოზიტების რაოდენობის გაზრდა. მიმდინარე კვლევები მიუთითებს გენეტიკური ფაქტორების პირდაპირ კავშირზე AB-ს ფიბრილოგენეზთან. *in vitro* სისტემაში AB42-ის და არა AB40-ის მონომერები წარმოქმნიან პენტამერულ/ჰექსამერულ ერთეულებს - პარაბირთვებს, რომელთაც შესწევთ უნარი უფრო დიდი ზომის სტრუქტურებად ოლიგომერიზაციისა (Kowalska, 2004; Schmechel et al., 2003). ამასთან, სათანადო ექსპერიმენტებით დადგინდა, რომ სასუნთქი ანესთეტიკები, ისეთი როგორცაა ჰალოთანი და იზოფლურანი, აძლიერებენ ად-სთან ასოცირებული პეპტიდების ოლიგომერიზაციასა და ციტოტოქსიურობას (Eckenhoff et al., 2004). სათანადო კვლევებმა აჩვენა, რომ AB-ს პროტოფიბრილები და ფიბრილები ტოქსიურია ისეთი ნეირონებისათვის რომელთა ზედაპირზეც ხდება AMPA (ამინო-3-ჰდროქსი-5-მეთილ-4-იზოქსაზოლპროპიონის მჟავა) რეცეპტორების ექსპრესია (Blanchard et al., 2004;

Foguel et al., 2004). როგორ არის დაკავშირებული AB-ს პროდუცირება ნეიროდეგენერაციის პროცესთან რჩება სადავო. ყველაზე ცნობილი მტკიცებულებაა ის, რომ AB არის მემკვიდრულად ნეიროტოქსიური და შეუძლია აგრეთვე გააძლეროს სხვა ნეიროტოქსინების აქტივობაც გლუტამატის ჩათვლით. არსებობს მონაცემები, რომ ნეირონების AB-სთან მოთავსება ზრდის Ca^{+2} -ის უჯრედშიდა კონცენტრაციას ამ ნეირონებში, ამცირებს გლუკოზის შესვლას უჯრედებში, განაპირობებს ოქსიდაციურ სტრესს. მისი მოქმედების ერთგვარი მექანიზმი კი აპოპტოზის გაძლიერებაა (სოლომონია 2000). AB-ს ტოქსიურობის შესაძლო მექანიზმებია: 1) Ca-ის ჰომეოსტაზის შეფერხება (იზრდება მემბრანის განვლადობა); 2) ხდება ხანგრძლივი პოტენციალის ინჰიბირება; 3) მცირდება ატფ-აზური აქტივობა; 4) იცვლება რედოქს პოტენციალი; 5) AB ურთიერთქმედებს p75 ნეიროტროფინის რეცეპტორებთან; 6) ფერხდება აცეტილქოლინის დაკავშირება G-ცილებთან; 7) ფერხდება გლუკოზისა და გლუტამატის ტრანსპორტი (Zaborszky, 2002).

ად-ით დაავადებულთა კვლევამ აჩვენა, რომ მულტიფუნქციური სერინ-პროტეაზული ცილა თრომბინი ავლენს ნეიროტოქსიურ ეფექტს *in vitro* და *in vivo*. ეს მონაცემები იმაზე მიუთითებს, რომ ენდოთელიალური უჯრედების დაზიანებას ად-ით დაავადებულთა თავის ტვინში შედეგად მოყვება ანთებითი და ნეიროტოქსიური ცილების გამოთავისუფლება როგორცაა თრომბინი. მაშასადამე, ტვინში არსებული მიკროცირკულაციის პროცესი შეძლება თვითონ იყოს წყარო ნეიროტოქსიური ფაქტორების პროდუცირებისთვის ად-ს დროს (Grammas et al., 2004).

ალცჰაიმერის დაავადების პათოგენეზში მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ოქსიდაციური სტრესი, განსაკუთრებით ად-ს ამილოიდოგენეზის ადრეულ სტადიაზე. აღმოჩნდა, რომ ექსპერიმენტულად გამოწვეული Zn(II)-ისა და Cu (II)-ის ჰომეოსტაზის დარღვევა აზიანებს აწც-ს მეტაბოლიზმს (Cherny et al., 2001; Multhaup et al., 2002; Barger, 2004).

აწც-ს გააჩნია სპილენძის დამაკავშირებელი დომენი. აწც-ს გენის ნოკაუტირების შემთხვევაში თავის პირველად კორტიკალურ ნეირონებსა და ემბრიონულ ფიბრობლასტებში ხდება სპილენძის ჭარბად აკუმულაცია და პირიქით, აწც-ს ზეექსპრესია იწვევს სპილენძის დონის შემცირებას, რაც მიუთითებს აღნიშნული ცილის როლზე სპილენძის ჰომეოსტაზში (Barnham et al., 2003; Bellingham et al., 2004). აწც-ს ქრონიკულმა ზეექსპრესიამ ტრანსგენური თავკვების ტინში განაპირობა სუპეროქსიდ-დისმუტაზა 1-ის აქტივობის შემცირება რაც შეიძლება დაექვემდებაროს რევერსიას Cu-ის მიწოდების შემდეგ. Cu-ით დამუშავებამ შეამცირა ცნს-ში ენდოგენური Aβ-ს რაოდენობა ამილოიდური გროვების შესამჩნევ რედუქციამდე (Strausak et al., 2001; Bayer et al., 2003). ნოკაუტირებულ თავკვებზე ჩატარებულმა ანალიზმა აჩვენა აწც-ს და მისი Aβ დომენის როლი რიგი მეტალების (სპილენძი, თუთია, რკინა) ფიზიოლოგიურ რეგულაციაში (Maynard et al., 2002).

1.4.2 პრესენილინების როლი ად-ს პათოგენეზში

პოზიციური კლონირებით იდენტიფიცირებული იქნა კიდევ ორი ლოკუსი, რომლებიც აპირობებენ ად-ს აუტოსომურ-დომინანტური ოჯახური შემთხვევების განვითარებას. ერთი მათგანი ლოკალიზებულია მე-14, ხოლო მეორე კი 1-ულ ქრომოსომაზე. ორივე გენი აკოდირებს ჰომოლოგიურ ცილებს: პრესენილინ-1 (პს-1) და პრესენილინ-2-ს (პს-2). მათში დადგენილია ამინომჟავათა 60%-ის იდენტურობა. ეს ცილები ხასიათდება მემბრანის გამჭოლი 8 უბნის არსებობით. პს-1 და პს-2 უცნობი პროტეაზათი 2-ჯერ იხლიჩება და თითოეული მათგანისაგან ორი პოლიპეპტიდი წარმოიქმნება. ორივე პრესენილინი ენდოპლაზმური ლოკალიზაციისაა, გარკვეული მონაცემები მიუთითებს მათ არსებობაზე პლაზმურ მემბრანებსა და ბირთვშიც. ად-ს ადრეული ფორმის გამოწვევი 120-ზე მეტი მუტაციაა აღწერილი პს-1-ში და მხოლოდ 2 პს-2-ში. ყველა ეს მუტაციები განაპირობებს ისევ და ისევ Aβ-ს კონცენტრაციის ფარდობით ზრდას. ამ პროცესზე დაკვირვების თვალსაზრისით Duff-მა და სხვ. მიიღეს ტრანსგენური თავკვები,

რომლებშიც ხდებოდა ადამიანის ველური ტიპის *პს-1-სა* და *პს-1 მუტანტების* – მეთ¹⁴⁶–გალ და მეთ¹⁴⁶–ლეი-ის ზეექსპრესია PDGF პრომოტორის კონტროლის ქვეშ. ამ ექსპერიმენტებში აკვირდებოდნენ ენდოგენური აწც-ს პროცესინგის პროცესში მომხდარ ცვლილებებს. აღმოჩნდა, რომ ველური ტიპის *პს-1-ის* ზეექსპრესია მნიშვნელოვნად არ ცვლის *Ab42-ის* რაოდენობას ტრანსგენური თავების თავის ტვინში, მაშინ როცა მუტანტური *პს-1* სამჯერ ზრდის მის კონცენტრაციას, ამიტომ უარესად დიდი მნიშვნელობა ენიჭება *პს-1* გენის ექსპრესიის დათრგუნვას ად-ს თერაპიაში. ამ მიზნით გამოიყენება *S-* ადენოზილმეთიონინი, რომელიც იწვევს *პს-1* გენის "გაჩუმებას" მისი მეთილირების გზით (Bajaj et al., 1998; Scarpa et al., 2003). აღმოჩნდა, რომ პრესენილინების ანომალური ექსპრესიით განპირობებული ნეიროპათოლოგიური ეფექტები არ მიმდინარეობს აპოპტოზის ინდუცირების გზით (Gamliel et al., 2003).

ად-ს გამომწვევი ლოკუსი *FAD3* იდენტიფიცირებული იქნა მარკერით *D14S43*. ის მდებარეობს მე-14 ქრომოსომის 14q24.3 უბანში *SPA* (პარაპლევის განმაპირობებელი) და *MJD/SCA3* (ზურგის ტვინოვანი ატაქსია) ლოკუსების გვერდით. 14q24.3-ის ანალიზმა აჩვენა, რომ ამ კარტირებული სეგმენტის მხოლოდ 10% უჭირავს კოდირებად დნმ-ს. მე-14 ქრომოსომის ეს უბანი შეიცავს 25-მდე გენს, მხოლოდ 3 მათგანი აღმოჩნდა ცნობილი გენები: *c-fos* გენი, დიჰიდროლიპოამიდსუქცინილტრანსფერაზას გენი და ცილა-ასოცირებული მატრანსფორმირებელი ფაქტორ-2-ის გენი. მხოლოდ მოგვიანებით *S182* მარკერის გამოყენებით მოხერხდა 13 ეკზონის შემცველი გენის სეკენირება, რომელიც აკოდირებს 467 ამინომჟავას ან უფრო ნაკლების შემცველ ცილოვან პროდუქტს ალტერნატიული სპლაისინგის გამო. ამ ცილას ეწოდა პრესენილინ-1. ადამიანში არსებობს მისი ჰომოლოგიური ცილის მაკოდირებელი გენი, რომლის იდენტიფიკაციაც მოხდა ოლიგონუკლეოტიდური პრაიმერებით. ის აკოდირებს 448 ამინომჟავიან პოლიპეპტიდს, რომელიც ამჟღავნებს მაღალ ჰომოლოგიას *პს-1-ის* ჰიდროფობულ უბანთან. *FAD4* გენი ლოკალიზებულია 1-ელ ქრომოსომაზე (1q). პრესენილინების გენებში ადგილი აქვს მისენს-მუტაციებს. *პს-2-ში* პირველად

აღმოაჩინეს მეთიონინ²³⁹—ვალინი მუტაცია იტალიური წარმოშობის ოჯახებში, ხოლო მოგვიანებით ასპარიგინის მჟავა¹⁴¹—იზოლეიცინი მუტაცია გერმანული წარმოშობის ოჯახებში (Poraeb, 1998). Bertoli-მ და სხვ. შეისწავლეს პრესენილინური დემენციით დაავადებული 281 ინდივიდი კუბელთა პოპულაციაში, საშუალო ასაკს შეადგენდა 59 წელი. სეკენირებამ აჩვენა პს-1 გენში ფუძეთა ცვლილება, ცილაში კი ლეიცინი იცვლებოდა მეთიონინით. ლეიცინი 174-ე მდგომარეობაში მაღალი კონსერვატულობით გამოირჩევა სახეობებს შორის და იდენტურია პს-1-სა და პს-2-ში. მეცნიერთა ამავე ჯგუფმა აღმოაჩინა ახალი ტიპის მუტაცია — ლეი¹⁷⁴—მეთ პს-1 გენში, რომელიც იწვევს ცილის N და C-ტერმინალური ფრაგმენტების ანომალურობას (Bertoli et al., 2001).

ვეოლუციურ ასპექტში პს-1 და პს-2 გენები წარმოიქმნა დუბლიკაციის შედეგად. პს-2 გენის მაღალი ექსპრესია აღინიშნება ასევე კუჭქვეშა ჯირკვალსა და კუნთებში. პს-1-ის ექსპრესია საკმაოდ მაღალია და 4-5-ჯერ აჭარბებს პს-2-ისას ადამიანის ემბრიონის თავის ტვინში, შემდეგ ის თანდათან მცირდება და არ იცვლება მთელი სიცოცხლის მანძილზე. ფიქრობენ, რომ პრესენილინების და განსაკუთრებით პს-1-ის ექსპრესია საკმაოდ მნიშვნელოვანია ადრეულ სტადიებზე ორგანიზმის განვითარებისა და უჯრედთა დიფერენცირებისათვის. აღმოჩენილია, რომ პს-2 გენში მუტაციები არსებობენ უსიმპტომო ადამიანებშიც 80 წელზე ზემოთ. ამასთან, ნებისმიერ შემთხვევაში როცა პს-1-ში აღმოჩნდება მუტაცია უკვე 60 წლამდე ვითარდება ად. მიზეზი პს-2 გენის არასრული პენეტრანტულობისა უცნობი რჩება (Poraeb, 1998).

გარდა აწც-ს გახლჩვიის რეგულაციისა, პრესენილინები სხვა პროცესებშიც ღებულობენ მონაწილეობას. მათ განეკუთვნება ე.წ. Notch რეცეპტორებით გააქტივებული სასიგნალო გზების რეგულაცია. Notch რეცეპტორები ახორციელებენ უჯრედ-უჯრედულ კონტაქტებს, რომლებიც განვითარების პერიოდში უჯრედის ბედს განსაზღვრავენ. Notch რეცეპტორები მეზობელ უჯრედზე არსებული ლიგანდებით აქტივდებიან, რასაც თან სდევს სამიზნე გენების აქტივაცია. პრესენილინები აუცილებელია Notch რეცეპტორის სასიგნალო აქტივობის მქონე

პროტეოლიზური პროდუქტების წარმოქმნისათვის. პრესენილინები ან თვითონ წარმოადგენენ პროტეაზებს (γ-სეკრეტაზებს), ან აიოლებენ გარკვეული პროტეაზების მოქმედებას. ნავარაუდევია, რომ პს-1 და პს-2 წარმოადგენენ ასპარტატულ პროტეაზებს (სოლომონია, 2000).

1.4.3 tau-პროტეინი და მისი ფოსფორილირების რეგულაცია

აღ-სთვის ასევე დამახასიათებელია თავის ტვინში ნეიროფიბრილური გორგლების არსებობა, რომელთა მთავარი კომპონენტია tau-ცილოვანი ბუნების დაწყვილებული სპირალური ფილაამენტები (დსფ), რომელთა მთავარ კომპონენტს წარმოადგენს tau-ს ანომალურად ფოსფორილირებული დერივატები – A68 ცილები. უნდა აღინიშნოს, რომ tau-ცილისათვის არ არის აღმოჩენილი დაავადებასთან დაკავშირებული მუტაციები გარკვეულ გენებში (Bramblett et al., 1992; Burack et al., 1996). აღ-სთან ერთად სპორადიულ ტაუპათიებს მიეკუთვნება კორტიკობაზალური დეგენერაცია, ფრონტოტემპორალური დემენცია, პიკის დაავადება და არგიროფილურ-მარცვლოვანი დაავადება (Hasegawa, 2004; Tolnay et al., 2004). tau-ცილა ასტაბილიზებს ნეირონულ მიკრომილაკებს და არეგულირებს მათ გასწვრივ ვეზიკულებისა და სხვა ორგანელების გადაადგილებას, წარმოადგენს მრავალი ფერმენტის მიმაგრების საიტს. tau-ცილის 6 იზოფორმა გვხვდება, რომლებიც ერთი გენის ალტერნატიული სპლაისინგით მიიღება. ემბრიონები მხოლოდ ერთ იზოფორმას შეიცავენ, ხოლო დიდი მასის მქონე იზოფორმების სინთეზს ადგილი აქვს ნეირონების დიფერენციაციისას და აქსონებისა და დენდრიტების წარმოქმნისას. არაფოსფორილირებული ან ნორმალურად ფოსფორილირებული tau-ცილები დსფ-ს ვერ წარმოქმნიან, მათ ძალუძთ მიკრომილაკებთან ნორმალური ასოციაცია. ჰიპერფოსფორილირებული tau-ცილა ვერ ურთიერთქმედებს მიკრომილაკებთან, წარმოქმნის აგრეგატებს და განაპირობებს ნეირონების დეგენერაციას (Smith et al., 2003). ნორმალურად ფოსფორილირებულია 8-10 საიტი, ჰიპერფოსფორილირების დროს მათი რიცხვი 20-მდე იზრდება, ამიტომ ფოსფორილირების პროცესის

ინჰიბირება წარმოადგენს ერთ-ერთ ბიოქიმიურ სტრატეგიას დაავადების პროგრესირების წინააღმდეგ (Rang et al., 1996). ალცჰაიმერის დაავადებისთვის დამახასიათებელი სენილური გროვების დისტროფიულ ნერიტებში tau-ს ფოსფორილირება ხდება სტრესული კინაზების (SAPK/JNK და p38) აქტივაციის ხარჯზე (Battaini et al., 1999; Ferrer, 2004; Bodles et al., 2005).

tau-ცილის ერთ-ერთ მაფოსფორილირებელ კინაზას ციკლინ-დამოკიდებული კინაზა წარმოადგენს, კერძოდ Cdk5. ეს კინაზები სპეციფიურია იმ სერინისა და ტრეონინის ნაშთების მიმართ, რომელთა მეზობელს პროლინის წარმოადგენს და მათ ხშირად პროლინ-მიმართულ კინაზებადაც მოიხსენიებენ. ნაჩვენებია იქნა, რომ ად-ით დაავადებულ პირებში Cdk5 კინაზა აქტივდება p53 ცილის დაკავშირებით, რომელიც მირისტინის მექავას ლუზით პლაზმურ მემბრანაზე მიმაგრებულია. Cdk5 კინაზა p53-ის საშუალებით ემაგრება მემბრანას, მათი კომპლექსი მემბრანაზე აქტიური და ლოკალიზაციის შესაბამისად აპირობებს მთელი რიგი ცილების ფოსფორილირებას. P53 ცილა სწრაფად განიცდის დეგრადაციას უბიკვინ-პროტეასომული გზით, რითაც Cdk5 კინაზას აქტივობა ითრუნება. როცა p53 ცილა იხლიჩება უცნობი პროტეაზათი p25(25კდა) და p10 (10კდა) სუბერთეულებად, p25-ის კარბოქსი-ბოლო პლაზმურ მემბრანას უკვე აღარ ემაგრება, თუმცა ამავე დროს p25 Cdk5 კინაზას აქტივაციის ყველა აუცილებელ დომენს შეიცავს. ამ დეფექტურ პროტეოლიზურ გახლეჩვას თან სდევს p25-Cdk5 კომპლექსის ჩამოყალიბება. ეს კომპლექსი მოცილებულია პლაზმურ მემბრანას, მუდმივად, შეუზღუდავად გააქტიურებულია და ახორციელებს ცილების ფოსფორილირებას განსხვავებულ შიდაუჯრედულ სივრცეში. p25 ფრაგმენტი გეხვდება ად-ით დაავადებულებშიც. ჰიპერფოსფორილირებულ tau-ცილის არსებობას ადგილი აქვს პარკინსონიზმით და გვერდითი ამიოტროფული სკლეროზით დაავადებულ ინდივიდებშიც, ვინაიდან Cdk5 კინაზას ერთ-ერთ სუბსტრატს ნეიროფილამენტებიც წარმოადგენს. გარკვეული მონაცემების თანახმად tau-ცილის ფიბრილებად ჩამოყალიბებისათვის საჭიროა დამატებითი ფაქტორის, გლიკოამინოგლიკანები (გაგ) არსებობა, რომელიც ასოცირებულია როგორც ამილოიდის გროვებთან, ისე

ნეიროფიბროზული გორგლებთან. ნაჩვენებია, რომ არაფოსფორილირებული tau-ს იზოფორმები წარმოქმნიან დსფ-ს *in vitro*, თუ ხდება მათი ინკუბაცია გაგ-ებთან (ჰეპარინი ან ჰეპარინ სულფატი), ე.ი. სულფატირებული გაგ-ებიც წარმოადგენენ გარკვეულ რისკ ფაქტორს ად-სთვის (Poraeb, 1999).

1.4.4 აპოლიპოპროტეინ E-ს კავშირი ად-ს გვიან ფორმასთან

ასოციაცია აპოლიპოპროტეინ E-სა და ად-ს რისკს შორის პირველად აღწერილ იქნა 1993 წელს და დადგინდა, რომ APOE გენოტიპი არის უმნიშვნელოვანესი გენეტიკური მახასიათებელი ამ დაავადების სპორადიული და გვიანი ოჯახური ფორმების დროს (Nielsen et al., 2005). აქედან მოყოლებული APOE გენოტიპირება არის უკვე შესაძლებელი და ათასობით პაციენტი იტარებს წინასწარ ტესტირებას დაავადების განვითარების რისკის დასადგენად (Cutler, 2003). APOE ცილა ნაპოვია პლაზმაში, სადაც მას დიდი მნიშვნელობა აქვს ქოლესტერინის ტრანსპორტსა და ათეროგენული ლიპოპროტეინის მეტაბოლიზმის მოდულაციაში. ის ასევე სინთეზირდება ტვინში ასტროციტების მიერ, სადაც მისი ფიზიოლოგიური როლი უცნობია. თუმცა ფიქრობენ, რომ APOE ჩართულია ნერვული სისტემის რეპარაციის პროცესში მისი ემბრიონალური განვითარების ან ცნს-ის დაზიანების შემდეგ (Rachakonda et al., 2004).

ადამიანის apoE გენი ნაპოვია მე-19 ქრომოსომის გრძელ მხარზე 19q13.2 უბანში და გვხვდება ჩვეულებრივ სამი ალელური ფორმით— E2; E3 და E4. ეს ალელები აკოდირებენ აპოლიპოპროტეინის იზოფორმებს, რომლებიც განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან ამინომჟავური შედგენილობით. ყველაზე უფრო გავრცელებულია apoE3 იზოფორმა. ის შეიცავს ცისტეინს 112-ე მდგომარეობაში და არგინინს 158-ში. apoE2 ორივე ამ მდგომარეობაში ცისტეინს შეიცავს, ხოლო apoE4 – ორივეში არგინინს. ალელთა გავრცელების სიხშირეა: E2 - 5,9%; E3 - 90,1% და E4 - 4% (Bertoli et al., 2001). იმ ინდივიდებში, რომლებიც თუნდაც ერთ ასლ apoE-E4 ალელს შეიცავენ, ძლიერ მომატებულია ად-ს რისკი. კომოზიგოტების შემთხვევაში

კი დაავადება საკმაოდ ადრე შეიძლება განვითარდეს და რისკი 90%-ია (Bird, 2005). ყველაზე უსაფრთხოა apoE-ε2 და ეს ალელი შეიძლება ε4-ის მოქმედების ოპოზიციური იყოს, უფრო მეტიც, მას გააჩნია პროტექტორული თვისებები (Hsiung et al., 2004; Dodart et al., 2005). APOE გენოტიპი ღვინდება სისხლის ტესტით. გამოიყენება ლეიკოციტების დნმ და PCR მეთოდი. ასევე გენოტიპი ისაზღვრება არაპირდაპირ ფენოტიპის შეფასებით. კერძოდ, ხდება პლაზმაში APOE-ს განსაზღვრა იზოელექტრული ფოკუსირებით. APOE-სთან დაკავშირებული რისკი შესაძლოა მოდიფიცირებულ იქნას ასაკით, სქესით, ეთნიკურობით, თავის ქალას ტრამვით, სხვა გარემო და ეპიგენეტიკური ფაქტორებით. ნაჩვენებია, რომ თეთრი რასის წარმომადგენლებს გაცილებით მაღალი აქვთ ε4 ალელის შემცველობა სხვებთან შედარებით (Tanzi et al., 1996).

როგორ შეიძლება ApoE დაკავშირებული იყოს ად-ს განვითარებასთან? შესაძლო მექანიზმები ApoE რეცეპტორების მონაწილეობისა ად-ს პათოგენეზში უკავშირდება შემდეგ ფაქტორებს: აწც-ს პროტეოლიზური პროცესინგის მოდულაცია, მ-ამილოიდის გამოთავისუფლების რეგულაცია და tau-ცილის ფოსფორილირების მოდულაცია. ამ უკანასკნელთან დაკავშირებით წარმოდგენილია შემდეგი მტკიცებულება: თუ apoE3 (ან apoE2) არის მოთავსებული tau-ცილასთან შესაბამის პირობებში წარმოიქმნება პრეციპიტატი, მაშინ როცა ApoE4 იზოფორმა ასეთ ნაღვეს არ წარმოქმნის, მისი კავშირი tau-ცილასთან ფაშარია. ამდენად თუ წარმოდგენილია ApoE4, tau-ცილა თავისუფლად ურთიერთქმედებს tau-ს სხვა მოლეკულებთან, რასაც მიეყვართ დაწყვილებული სპირალური ფილამენტების წარმოქმნამდე (Frank, 2000). როგორც ცნობილია tau-ცილის დიფერენციალური ფოსფორილირება უჯრედის მოთხოვნილებების შესაბამისად განაპირობებს მიკრომილაკების აწყობას, დაშლას და მათ ხელახლა ასოციაციას. ApoE3 უკავშირდება tau-ს და ხელს უშლის ფოსფატების მასთან კავშირს. ApoE4-ის შემთხვევაში კი ხდება tau პროტეინის თანდათანობით აკუმულაცია ფოსფატებთან ერთად, რომლებიც აიბულებენ tau-ს დატოვოს თავისი დაკავშირების საიტი მიკრომილაკების საბოლოო მომწიფებამდე (Zaborszky, 2002).

ApoE-ს აწც ცილის პროცესინგთან კავშირის დასადგენად ექსპერიმენტები ჩატარდა ვირთაგვების ჰიპოკამპალურ ნეირონებზე, რომლებიც დაინფიცირეს ველური ტიპის აწც-სა და აწც მუტანტების შემცველი Semliki Forest ვირუსით. ქოლესტერინის ბიოსინთეზის ინჰიბირება და მისი ექსტრაქცია ნეირონების მემბრანებიდან მოხერხდა სტატინითა და მეთილ-მ-ციკლო-დექსტრინით დამუშავების ხარჯზე. სტატინები – ლოვასტატინი და სიმვასტატინი მეველონატიის დაბალი კონცენტრაციისას აკონტროლებენ ქოლესტერინის სინთეზს 3-ჰიდროქსი-3-მეთილგლუტარული CoA რედუქტაზას ინჰიბირების ხარჯზე. მეველონატი საჭიროა არასტეროიდული პროდუქტების სინთეზისათვის და ის ხელს უშლის პროტეასომების ინჰიბირებას ლოვასტატინით. ამგვარმა დამუშავებამ გამოიწვია ინტრაუჯრედული AB-ს პროდუცირებისა და სეკრეციის შემცირება, თუმცა აწც-ს დონე ნორმალური რჩებოდა. ექსპერიმენტულად შემოწმდა თუ რომელი ფორმის AB-ს გახლეჩვა ინჰიბირდა ამ პრეპარატებით. აღმოჩნდა, რომ ეს არის γ -სეკრეტაზული გახლეჩვა, რაც მიუთითებს ქოლესტერინის როლზე AB-ს ფორმირების პროცესში. მემბრანაში ქოლესტერინის ბიოსინთეზის ცვლილება განაპირობებს იმას, რომ აწც-ს ინტრაუჯრედული ტრანსპორტისას ის ვეღარ აღწევს უჯრედის საიტებს, სადაც β და γ -სეკრეტაზულ გახლეჩვას აქვს ადგილი. მეორეს მხრივ შესაძლოა β და γ სეკრეტაზები საჭიროებენ აქტივობისათვის ქოლესტერინს (Beyreuther, 2002). მრავალი სამეცნიერო შრომა მიუთითებს ესტროგენის ნეიროპროტექტორულ ეფექტზე რაც ემყარება APOE-დამოკიდებულ მექანიზმს. Wang-მა და სხვებმა განსაზღვრეს უკავშირდება თუ არა ესტროგენის მეტაბოლიზმში მონაწილე გენების პოლიმორფიზმი ად-ს რისკს APOE-ს $\epsilon 4$ ალელის არსებობის პირობებში. შესწავლილ იქნა სამი გენის პოლიმორფიზმი - CYP17, CYP11A1 და COMT. ად-ს განვითარებასთან დადებითი კორელაცია არ გამოვლინდა, თუმცა უნდა აღინიშნოს, რომ COMT გენოტიპსა და $\epsilon 4$ ალელს გააჩნიათ სინერგისტული ეფექტი ად-ს რისკთან მიმართებაში (Kowalska, 2004; Blanchard et al., 2004).

აპოლიპოპროტეინ E-ს მაკოდირებელი გენი ად-ს გარდა განაპირობებს ქოლესტერინის ბიოსინთეზთან დაკავშირებულ სხვა პათოლოგიებსაც. მათ განეკუთვნება გულის კორონალური დაავადება და მაკულარული დეგენერაცია. ამ უკანასკნელთან დაკავშირებით საინტერესოა, რომ მისი რისკის შემცირება უკავშირდება ად-სგან განსხვავებით $\epsilon 4$ ალელს, მაშინ როცა რისკის გაზრდა ასოცირდება $\epsilon 2$ ალელთან (Caroline et al., 1998).

დღეისათვის ფიქრობენ, რომ თუ გამოუმუშავდა სპეციფიკური თერაპია ApoE4-ის საწინააღმდეგოდ, ამან შეიძლება გადაწიოს ად-ს დაწყების ასაკი 90 წლამდე. ად-ს გვიანი ფორმის 50%-ში არ აღმოჩნდა $\epsilon 4$ ალელი, რაც იმის მაჩვენებელია, რომ შეიძლება ადგილი ჰქონდეს სხვა დამატებითი რისკ ფაქტორების მონაწილეობას.

1.4.5 ად-ს განმაპირობებელი სხვა გენები

ად მიეკუთვნება მულტიფაქტორულ დაავადებას, რომელსაც განაპირობებს მრავალ გენში მომხდარი მუტაცია. მასზე პასუხისმგებელი გენების იდენტიფიკაცია დღემდე გრძელდება. მგრძობიარე ლოკუსების აღმოჩენის მიზნით ტარდება ადამიანის გენომის სრული სკრინინგი. სათანადო მარკერების გამოყენებით აღმოჩნდა, რომ ერთ-ერთი ასეთი ლოკუსი მდებარეობს მე-10 ქრომოსომის გრძელ მხარზე ინსულინის დეგრადაციის განმაპირობებელი ფერმენტის მაკოდირებელი გენის გვერდით კერძოდ, 10q23-q25 უბანში. ამ ლოკუსის პოლიმორფიზმი ხელს უწყობს ად-ს გვიანი ფორმის განვითარებას APOE გენოტიპისაგან დამოუკიდებლად. აღნიშნული გენი ზრდის დაავადების რისკს ისევე და ისევე Aβ42-ის მეტაბოლიზმის მოდიფიცირების გამო (Bertram et al., 2000).

ად-ს გვიანი ფორმა გენეტიკურად ჰეტეროგენულია და APOE გენოტიპთან ერთად მის პათოგენეზში სხვა გენებიც იღებენ მონაწილეობას. Luedeking-Zimmer-მა და სხვ. მოახდინეს მე-12 ქრომოსომაზე 50 სანტიმორგანის პერიცენტრომერული უბნის იდენტიფიცირება 12p12 და 12q13 ლოკუსებს შორის APOE- $\epsilon 4$ -ის

არამატარებლებში. არის ვარაუდი, რომ ოქსიდირებული LDL რეცეპტორ-1-ის გენი (OLR1) არის შესაძლო კანდიდატი ად-ს გასავითარებლად. მოხერხდა OLR1 გენის ყველა ეკზონისა და ინტრონის სკრინინგი, რის შედეგადაც გამოვლინდა ნუკლეოტიდთა თანმიმდევრობის ცვლილება მე-4, მე-5 ინტრონსა და 3'-არატრანსლირებად უბანში. სამივე ტიპის პოლიმორფიზმი ასოცირდება ად-სთან. აღნიშნული მონაცემები მიუთითებს, რომ OLR1 გენის გენეტიკური ვარიანტობა განაპირობებს ად-ს რისკის მოდიფიცირებას (Luedecking-Zimmer et al., 2001; Cheng et al., 2005).

ად-სთვის დამახასიათებელი ამილოიდური გროვების ერთ-ერთ კომპონენტს წარმოადგენს α -1-ანტიქიმოტრიფსინი, რომელსაც შეუძლია A β -სთან დაკავშირება და მისი მაკოდირებელი გენი არის კანდიდატი გენი ად-ს განვითარებასთან მიმართებაში. Wang-მა და სხვ. PCR-SSCP სეკვენირების საშუალებით დაადგინეს, რომ ად-ს რისკის გაზრდას განაპირობებს ქიმოტრიფსინის გენის პოლიმორფიზმი და განსაკუთრებით 17A ალელი APOE- ϵ 4 ალელთან კომბინაციაში (Wang et al., 2003).

სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორის რეცეპტორთა სუპეროჯახის მე-6 ნეკროსის გენი მოთავსებულია მე-10 ქრომოსომაზე (10q) ად-ს განაპირობებელი მგრძობიარე საიტის მახლობლად. Feuk-ის და სხვ. მონაცემებით აღნიშნული გენის პრომოტორი მნიშვნელოვან როლს თამაშობს დაავადების ეთიოლოგიაში, თუმცა რისკის მამოდიფიცირებლად კვლავ APOE- ϵ 4 რჩება (Feuk et al., 2003).

CYP46 გენი, რომელიც აკოდირებს ქოლესტერინ-24-ჰიდროქსილაზას, მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ქოლესტერინის ჰიდროქსილირებასა და ტვინიდან მის გამოტანაში. ექსპერიმენტულად იქნა შესწავლილი CYP46 გენის პოლიმორფული საიტების ასოციაცია ად-ს პირველად ნიშნებთან. აღმოჩნდა, რომ გენის პოლიმორფიზმი უკავშირდება ტვინში β -ამილოიდური გროვების რაოდენობის გაზრდას, ასევე ცერებროსპინალურ სითხეში იზრდება β -ამილოიდის პეპტიდებისა და ფოსფორილირებული tau-ცილის რაოდენობა. CYP46-ის პოლიმორფიზმი განსაკუთრებით განაპირობებს ად-ს გვიანი სპორადიული ფორმის რისკის გაზრდას.

დამატებით თუ დაავადებულთა კარიოტიპში აღინიშნება APOE-ε4 ალელი ჰომო- ან ჰეტეროზიგოტულ მდგომარეობაში, ად-ს რისკი კიდევ უფრო იზრდება (Papassotiropoulos et al., 2003). Bertram-ისა და მისი კოლეგების მიერ აღმოჩენილი იქნა ერთეული ნუკლეოტიდის პოლიმორფიზმი უბიკვილინ 1-ის მაკოდირებელ გენში, რომელიც უკავშირდება ალცჰაიმერის დაავადების განვითარების რისკს. აღნიშნული გენი მდებარეობს მე-9 ქრომოსომაზე 9q22 უბანში (Bertram et al., 2005). UBIQLN 1 არის ად-ს კანდიდატი გენი, ვინაიდან ის მონაწილეობს ცილების პროტეოსომურ დეგრადაციაში და ასევე ურთიერთქმედებს პრესენილინებთან (Bird, 2005).

ად-ს ადრეული ოჯახური ფორმით დაავადებულ ინდივიდებში აღმოჩნდა მისენს მუტაცია (N417Y) ნიკასტრინის მაკოდირებელ გენში (Confaloni et al., 2003). სათანადო ექსპერიმენტებით ნაჩვენებია იქნა, რომ ად-ს დროს ადგილი აქვს p97-ის ანუ მელანოტრანსფერინის ექსპრესიის გაზრდას რაც ერთ-ერთ ბიოქიმიურ მარკერს წარმოადგენს აღნიშნული პათოლოგიისთვის.

დადგენილია ასევე, რომ მწვავე ფაზის ცილა α-2-მაკროგლობულინი უკავშირდება დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინულ რეცეპტორულ ცილას როგორცაა ApoE4 და ხელს უშლის ნეიროტოქსიური უხსნადი β-ამილოიდური ფიბრილების წარმოქმნას. ზოგიერთი ინდივიდი იმ შემთხვევაშიც კი როცა ის ApoE4-ს მიმართ ჰომოზიგოტურია, დაცულია ად-ს განვითარების რისკისაგან "ჯანმრთელი" α-2-M გენის არსებობისას (Zaborszky, 2002; Kolsh et al., 2004).

მიტოქონდრიის მორფოლოგიური ცვლილებები შეიძლება უკავშირდებოდეს მეტაბოლურ და ენერჯის დეფიციტს ად-ით დაავადებულთა ნეირონებში. ელექტრონული მიკროსკოპიით გამოვლინდა მიტოქონდრიების მორფოლოგიური და მორფომეტრული ცვლილებები ჰიპოკამპში, ფრონტალურ კორტექსსა და ნათხეში. დიდი რაოდენობის ნეირონების ულტრასტრუქტურულმა ანალიზმა თალამუსსა და წითელ ბირთვებში აჩვენა, რომ მიტოქონდრიულ ცვლილებებს არ ახლავს თან ციტოჩონჩხის პათოლოგია და ამილოიდური დეპოზიტების აკუმულაცია. მიუხედავად ამისა, ეს ცვლილებები ვლინდებოდა იმ ნეირონებში რომლებშიც ხდება გოლჯის

აპარატის ცისტერნების ფრაგმენტაცია. ამიტომ მიტოქონდრიების მორფოლოგიური ცვლილებები იწვევს ნეირონთა ოქსიდაციურ დაზიანებას ად-ით დაავადებულ ინდივიდთა თავის ტვინში (Baloyannis et al., 2004).

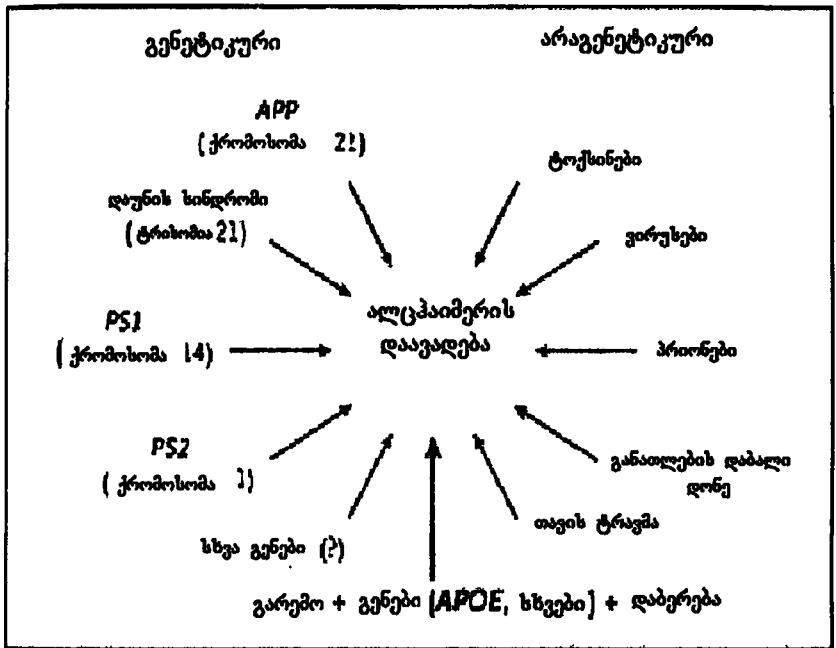
სხვადასხვა ექსპერიმენტული მონაცემები მიუთითებს ად-ს კავშირზე მიტოქონდრიულ დეფექტებთან. ეს დეფექტები შეიძლება იყოს სტრუქტურული, ბიოქიმიური ან გენეტიკური ტიპის. მიტოქონდრიული დნმ-ის მუტაციების მონაწილეობა დაავადების განვითარებაში ჯერ კიდევ სადავოა (Rodriguez et al., 2001; Sorensen, 2004). Aliev-მა და სხვ. შეისწავლეს ად-ით დაავადებულთა მიტოქონდრიული დნმ ტვინის ბიოფსიის შედეგად მიღებულ თხელ ანათლებზე. *in situ* პიბრიდიზაციის მეთოდით გამოვლინდა ნკბ-ის ფრაგმენტის დელეცია. მ-დნმ-ის ნკბ-ის მარკერები პოზიტიურ სიგნალს იძლევა მიტოქონდრიის დაზიანებასთან დაკავშირებით იმ ვასკულარულ და პერივასკულარულ ენდოთელიალურ უჯრედებში, რომლებიც დიდი რაოდენობით ამილოიდური დეპოზიტების შემცველ უბნებთან ახლოს მდებარეობენ. ამ მ-დნმ-ის დელეციებს თან ახლდა იმუნორეაქტიული ანც-ს რაოდენობის გაზრდა. ექსპერიმენტების შედეგები მიუთითებს, რომ ვასკულარული კედლის უჯრედები და განსაკუთრებით მათი მიტოქონდრიები ცენტრალურ სამიზნეს წარმოადგენენ ოქსიდაციური სტრესით ინდუცირებულ ანომალიებში (Aliev et al., 2002).

როგორც ცნობილია საკმაოდ მჭიდრო კავშირი არსებობს იმუნურ და ნერვულ სისტემებს შორის. დადგენილ იქნა, რომ იმუნურად აქტიურ ციტოკინებს უაღრესად დიდი მნიშვნელობა აქვს ცენტრალური ნერვული სისტემისათვის, სადაც ისინი ექსპრესირდებიან ზოგიერთი ტიპის პარენქიმულ უჯრედებში. ნეიროდეგენერაციული მდგომარეობა თავის ტვინში კავშირშია ანთების გამოშვებულ მედიატორებთან. ცნობილია, რომ ანთებით პრეპარატებს შესწევთ უნარი შეაფერხონ ან შეანელონ ალცჰაიმერის დაავადების პროგრესირება (Rogers et al., 1993; Breitner, 1996). ერთ-ერთი აღმოჩენა რომელიც უკავშირდება ანთებითი მექანიზმების მონაწილეობას ად-ს პათოგენეზში მდგომარეობს იმაში, რომ სენილურ გროვებში არსებულ მიკროგლიაში მიმდინარეობს IL-1-ის ზეექსპრესია (Griffin et al., 1989). ად-სთვის

დამახასიათებელი ამილოიდური გროვები წარმოადგენს კომპლექსურ სტრუქტურებს, რომლებიც შეიცავენ არაუჯრედულ დეპოზიტებს (კონდენსირებული A β) და უჯრედულ კომპონენტებს (აქტივირებული მიკროგლია, რეაქტიული ასტროციტები და დისტროფიული ნეირიტები). დემენციის მძიმე ფორმების დროს პაციენტთა ტვინის ქსოვილში არსებული სენილური გროვები შეიცავენ ანთებითი პროცესის მარკერებს, მაგალითად როგორცაა IL-1 α (Lue et al., 1996). ასეთი ანთებითი მარკერების არსებობა მჭიდრო კავშირშია სინაპსების კარგვასთან, რაც ლოგიკურ კორელატს წარმოადგენს დემენციისათვის (De Kosky, 1990; Terry et al., 1991). აღსანიშნავია, რომ აქტივირებულ მიკროგლიას შესწევს უნარი ჭარბად წარმოქმნას ნეიროტოქსიური მოლეკულები. კერძოდ, თავისუფალი რადიკალების წყარო (ROS), როგორცაა პეროქსიდი, სუპეროქსიდი, აზოტის მონოოქსიდი და მათი შუალედური პროდუქტები (Banati et al., 1993). ად-ით დაავადებულ პაციენტებში საკმაოდ ხშირია პოლიმორფიზმი IL-1 α და IL-1 β გენებში (Du et al., 2000; Grimaldi et al., 2000; Licastro et al., 2000; Nicoll et al., 2000), რაც იმაზე მიუთითებს, რომ აღნიშნული ციტოკინები მონაწილეობენ დაავადების პათოგენეზში.

დაბოლოს, ვასკულარული წარმოშობის რამდენიმე გენეტიკური რისკ ფაქტორი (ანგიოტენზინის გარდამქმნელი ფერმენტი, მეთილტეტრაჰიდროფოლატ-რედუქტაზა და სხვ.) შესაძლებელია განაპირობებდეს ვასკულარული დემენციისა და ად-ს განვითარებას (Panza et al., 2002). ყოველივე ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარეობს, რომ ად-ს ეთიოლოგია საკმაოდ რთულია, რასაც კიდევ უფრო კარგად ასახავს სურათი 1.4.5.1.

|



სურათი 1.4.5.1. ალცჰაიმერის დაავადების რისკ ფაქტორები.

1.5 ალცჰაიმერის დაავადება და აპოპტოზი

აპოპტოზი განიხილება როგორც უჯრედთა კვლომის აქტიური ფორმა განპირობებული ცილებით, რომლებიც იწვევენ უჯრედთა სიკვდილს ძუძუმწოვართა ნორმალური განვითარებისა და ქსოვილთა ჰომეოსტაზის პროცესში. აპოპტოზისას უჯრედთა სიკვდილი გამოწვეულია აღმასრულებელი კასპაზების აქტივაციით, რომლებიც უჯრედთა დეზინტეგრაციის შემდეგ განაპირობებენ უჯრედული ცილებისა და ღნმ-ის ფრაგმენტაციას. ფიზიოლოგიური ნეირონული აპოპტოზის დროს ნერვული სისტემიდან ელიმინირდება ზედმეტი ნეირონები. უჯრედთა აპოპტოზურ კვლომას ადგილი აქვს ისეთი ნერვული დაავადებებისას, როგორიცაა ად, პდ და სხვ. Heese-მ და სხვ. აღმოაჩინეს და შეისწავლეს კასპაზების მიტოქონდრიული აქტივატორი ცილა, რომელიც შესაძლოა განაპირობებდეს ნეიროდეგენერაციის პროცესს ად-ს დროს. მიზეზი არის ნეირონთა ზრდის ფაქტორის ინჰიბირება, რასაც მიყვას ნერვული უჯრედი სიკვდილამდე (Heese et al., 2003). ექსპერიმენტულად განისაზღვრა post mortem ტვინის ანათლებზე სხვადასხვა ტიპის კასპაზების (-1; -2L; -3; -5; -6; -7; -8; და -9) ექსპრესიის ინტენსივობა მათი ი-რნმ-ის რაოდენობის შეფასების გზით. კვლევებში გამოიყენეს კოგნიტურად ნორმალური, ად-სადმი მიღრეკილი და ად-ს მქონე ინდივიდები. შედეგად აღმოჩნდა, რომ კასპაზების ი-რნმ-ის ექსპრესია მჭიდროდ უკავშირდება ნეიროფიბრილური გორგლების არსებობას. მაშასადამე, პროაპოპტოზურ ცვლილებებს მიყავთ ნერვული უჯრედები პროგრამირებულ კვლომამდე. ეს მონაცემები ავითარებს ად-ს თერაპიის პოტენციურ შესაძლებლობას კასპაზების სელექტიური ინჰიბიტორების გამოყენებით (Pompl et al., 2003).

ნეირონული ცილების ოქსიდაციურ სტრესს ცენტრალური ადგილი უჭირავს ად-სას ნეირონებზე ტოქსიურ მოქმედებაში. Choi-მ და სხვ. შეისწავლეს ჰიპოკამპალური ნეირონები თავების HT-22 ხაზში. აპოპტოზის ინდუცირება ხდებოდა ოქსიდაციური სტრესით. ოქსიდაციურად მოდიფიცირებული ცილების

არსებობა ისაზღვრებოდა ორგანოზომილებიანი გელ-ელექტროფორეზით. ოქსიდაცია განიცადა სამმა ძირითადმა ცილამ, რომელთა არსებობა გამოვლინდა სპექტრომეტრით. ესენია: შოკის ცილა-60, ვიმენტინი და ჰემოგლობინის α -ჯაჭვის ჰომოლოგი. პირველი ორი მათგანი ანტიპოპტოზურ ფუნქციას ასრულებს. საინტერესოა, რომ როდესაც ხდებოდა უჯრედების წინასწარი დამუშავება ვიტამინ E-თი, ეს ცილები არ ოქსიდირდებოდა და უჯრედები აღარ განიცდიდნენ აპოპტოზს (Choi et al., 2002). Kim-ი და სხვ. მივიდნენ იმ დასკვნამდე, რომ A β თავის ნეიროტოქსიურობას ავლენს მიტოქონდრიებთან ურთიერთქმედების ხარჯზე, რასაც თან სდევს ციტოქრომ C-ს გამოთავისუფლება. ეს უკანასკნელი კი იწვევს ნერვული უჯრედების აპოპტოზს კასპაზა-3-ის აქტივაციის გზით და შედეგად აღ-ს განმაპირობებელ ნეიროდეგენერაციის პროცესს (Kim et al., 2002).

1.6 აღ-ს მკურნალობის სტრატეგია

მიუხედავად იმისა, რომ აღ-სას ნეიროდეგენერაციის მექანიზმი უკვე კარგად არის შესწავლილი, ეფექტური თერაპიული მიდგომა დაავადების განვითარებისა და პროგრესირების წინააღმდეგ მაინც ვერ შემუშავდა. გამოიყენება საშუალებები, რომლებიც მოქმედებენ ქოლინერგულ პროცესებზე, მონოამინერგულ პროცესებსა და გლუტამატერგული სისტემის გააქტივებაზე, პეპტიდერგული პრეპარატები, ნეირომუნომოდულატორები და ანთების საწინააღმდეგო პრეპარატები, ნოოტროპები, ანტიოქსიდანტები, ვიტამინები და ფსიქოტროპული სიმპტომატური საშუალებები. ამ ვრცელი ჩამონათვალიდან ყველაზე დიდი უპირატესობა აქვს ვაზოდილატორებს (დიჰიდროერგოტამინი), მუსკარინულ აგონისტებს (არეკოლინი, პილოკარპინი) და ანტიქოლინესთერაზებს (ტაკრინი, დონეპეზილი და გალანთამინი).

ქოლინესთერაზული ინჰიბიტორი – ტაკრინი საკმაოდ ფართოდ გამოიყენება კლინიკაში, იმის საფუძველზე, რომ ქოლინერგული გადაცემის სისტემის გაძლიერება ერთგვარი კომპენსატორული მექანიზმია ქოლინერგული დეფიციტის პირობებში, რაც აღ-ს შედეგად მყარდება ორგანიზმში (Rang et al., 1996). თუმცა ეს პრეპარატი ხასიათდება გენოტოქსიური ეფექტით და მისი მიღების შემთხვევაში

აუცილებელია დვიდლის ფუნქციაზე კონტროლი ორგანიზმში ბილირუბინის კონცენტრაციის განსაზღვრით (Фернандес и др., 1992).

ად-ს მკურნალობაში გამოყენებული ქოლინესთერაზული ინჰიბიტორები როგორცაა დონეპეზილი და გალანთამინი, აინჰიბირებენ მხოლოდ აცეტილქოლინესთერაზას და არა ბუტირილქოლინესთერაზას მოქმედებას (Brangman, 2003). ეს უკანასკნელიც საკმაოდ მნიშვნელოვან როლს თამაშობს დაავადების პროგრესირებაში. ამიტომ პრეპარატი რომელსაც გააჩნია ორმაგი ინჰიბირების უნარი გაცილებით ეფექტურ საშუალებად აღიქმება ამ ნეიროდეგენერაციული დაავადების მკურნალობისას. აღმოჩნდა, რომ ასეთ პრეპარატს წარმოადგენს ექსელონი ანუ რივასტიგმინი (Moretti, 2002).

დღეისათვის შემუშავებულია საკმაოდ გონივრული მიდგომა ად-ს მკურნალობისადმი. კერძოდ, ჩატარდა ექსპერიმენტები იმუნიზაციის ახალი მეთოდის გამოყენებით. ანტიგენს წარმოადგენდა ეპიტოპ-EFRH პეპტიდი, რომელიც მოათავსეს ფილაპენტური ფაგის ზედაპირზე. EFRH-ფაგმა გამოიწვია ეფექტური ავტოიმუნური ანტისხეულების გამომუშავება აწც-ტრანსგენურ თაგვებში. ანტისხეულებმა მოახერხეს ამილოიდური გროვების რეკაპიტულაცია და ად-ს ვასკულარული პათოლოგიის აღმოფხვრა. იმუნიზაციამ ტრანსგენური თაგვების ტვინში მნიშვნელოვნად შეამცირა A β ამილოიდური გროვების რაოდენობა, რის საფუძველზეც შესაძლებელია რომ დამზადდეს ანტი-A β ვაქცინა (Frenkel et al., 2003; Barger, 2005; Moir et al., 2005).

ანტიამილოიდური თერაპია ჯერჯერობით არ არის შესაძლებელი. აქტიურად მიმდინარეობს β და γ -სეკრეტაზების ინჰიბიტორების კვლევა (Lemere et al., 2003). როგორც ცნობილია A β -ს გენერაციაში ჩართულია ქოლესტერინის მეტაბოლიზმიც, ამიტომ სტატინებმა შესაძლოა მნიშვნელოვნად შეამცირონ A β -ს აკუმულაცია. ამ პეპტიდის აგრეგაციის შეფერხება შეუძლიათ ასევე ოქსიდაციური დაზიანების საწინააღმდეგოდ მიმართულ მეტალებთან დაკავშირების უნარის მქონე ნაერთებს, მაგალითად როგორცაა კლიოქვინილი. ად-ს მკურნალობაში ჩართული ანტიოქსიდანტური სტრატეგია გულისხმობს α -ტოკოფეროლის (ვიტამინი E)

გამოყენებას (Metcafe et al., 1989). დღეისათვის საკმაოდ აქტუალურ კვლევის საგნად რჩება პრეპარატი მემანტანინი, რომელსაც შესწევს უნარი ჰიპოკამპალურ ნეირონებზე ზემოქმედების გზით ად-ს სიმპტომატიკის გაუმჯობესებისა. ად-ს თერაპიაში ასევე ინტენსიურად გამოიყენება ანთების საწინააღმდეგო სტეროიდული და არასტეროიდული პრეპარატები (Hestiantoro et al., 2004; Cummings, 2004).

N-მეთილ-D-ასპარტატული (NMDA) რეცეპტორის ანტაგონისტებს აქვთ ცნს-ის ზოგიერთი დაავადების თერაპიის პოტენციალი, მათ შორისაა ქრონიკული ნეიროდეგენერაციული პათოლოგიების ნეიროპროტექტორული მკურნალობა და სხვა ნევროლოგიურ დაავადებათა სიმპტომატური მკურნალობა. მემანტანინი - NMDA ანტაგონისტი, განიხილება მნიშვნელოვან ნეიროპროტექტორულ საშუალებად ალცაიმერის დაავადების გვიანი სტადიის და ვასკულარული დემენციის სამკურნალოდ (Molinuevo, 2003; Molinuevo et al., 2004).

ახლახანს აღმოჩენილი იქნა საკმაოდ ეფექტური ნაერთი 4,5-დიანილინოფტალიმი-დი (DAPI), რომლის მიკრომოლარული კონცენტრაციები საკმაოდ ამცირებს ფორმირებული Aβ42-ის ფიბრილების რაოდენობას ნერვულ ქსოვილში, შედეგად რჩება ამორფული მასალა ფიბრილების გარეშე. როცა მოხერხდა Aβ42 პეპტიდის ინკუბაცია DAPI-ის საკმაოდ დაბალი კონცენტრაციის თანაობისას, ნეირონული ტოქსიურობა მნიშვნელოვნად შემცირდა. ამიტომ DAPI ერთ-ერთი საგულისხმო კანდიდატია ად-ს თერაპიაში (Blanchard et al., 2004).

მიმდინარე ექსპერიმენტებში საკმაოდ აქტიურად განიხილება გენური თერაპიის როლი ად-ს მკურნალობაში. პროფესორმა ტუსზინსკიმ გამოიკვლია 8 მონათესაე ინდივიდი ად-ს განვითარების ადრეულ სტადიაზე. მოხერხდა მათი კანის უჯრედების გენეტიკური მოდიფიცირება კულტურალურ არეში ისე, რომ აღნიშნული უჯრედები წარმოქმნიდნენ ზრდის ფაქტორს, რომელიც იცავს ნერვულ უჯრედებს და განაპირობებს მათ რეგენერაციას დეფექტის შემთხვევაში. მიღებული ქსოვილის გადატანა მოხდა პირდაპირ დაავადებულთა თავის ტვინში. კლინიკური სურათი გაცილებით გაუმჯობესდა. ეს ყოველივე წარმოადგენს სრულად ახლებურ მიდგომას ად-ს თერაპიაში, რომელიც გულისხმობს ზრდის ფაქტორების, ღეროვანი

უჯრედების და რიგი გენების გამოყენებას რათა მოხდეს ნერვულ უჯრედებში მიმდინარე ძირითადი სასიცოცხლო პროცესების მოდიფიცირება ჩვენს სასარგებლოდ (Tuszynski, 2004).

1.7 ვასკულარული დემენციის ზოგადი დახასიათება

ვასკულარული დაავადება არის დემენციის ყველაზე მნიშვნელოვანი მიზეზი ალცაიმიერის დაავადების შემდეგ. პაციენტთა უმრავლესობას შეიძლება ჰქონდეს კლინიკური და პათოლოგიური ნიშნები დამახასიათებელი როგორც ად-ს ისე ვასკულარული დემენციისათვის. ვასკულარული დემენციის კლინიკურ გამოვლინებათა სპექტრი საკმაოდ ფართოა. სხვა დეგენერაციული დემენციების მსგავსად ამ შემთხვევაშიც პაციენტებს აღენიშნებათ კოგნიტური დეფიციტი და ქცევითი ანომალიები (Rasquin et al., 2004; Brown et al., 2005). კლინიკური მახასიათებლებიდან ასევე მნიშვნელოვანია ემოციური ლაბილურობა, დიზართრია და დიზფაგია, გარდამავალი დეპრესია და ქცევითი ცვლილებები (Reed et al., 2004). კლინიკურ ნიშნებზე დაყრდნობით ვასკულარული დემენცია ძირითადად იყოფა სამ ქვეჯგუფად: კოგნიტური დეფიციტი ერთეული ინფარქტების საფუძველზე, მულტიინფარქტული დემენცია და პროგრესირებადი მცირე სისხლძარღვებით განპირობებული დემენცია (ბინსვანგერის დაავადება). ვასკულარული დემენცია ხასიათდება გეოგრაფიული და რასობრივი ვარიანტობით. ამიტომ გასაკვირი არ არის რომ ის ჩვეულებრივ მოვლენას წარმოადგენს იაპონიაში, სადაც ვასკულარული დაავადებების რისკი საკმაოდ დიდია. ვასკულარული დემენციის სიხშირე მაღალია მამაკაცებში ქალებთან შედარებით და ასაკთან მიმართებაში იზრდება. დემენციის ამ ფორმის განვითარება უკავშირდება სხვადასხვა დაავადებებს, როგორცაა ჰიპერტენზია, დიაბეტი, ჰიპერლიპიდემია, ჰომოცისტინურია, ნამგლისებურუჯრედოვანი ანემია, კოაგულოპათიები და გულის სარქველოვანი დაავადება (Brown et al., 2005; Meshia et al., 2005). ვასკულარული დემენციის ძირითადი მიზეზი არის ინსულტი, რასაც ადგილი აქვს თავის ტვინში

ვასკულარული დემენციის რისკის შემცირება ან პრევენცია შესაძლებელია შემდეგი ფაქტორებით: ალკოჰოლის ზომიერი რაოდენობით მიღება, საკვებში მარილისა და ნაჯერი ცხიმების შემცირება, რეგულარული ვარჯიში, სისხლის წნევის კონტროლი. ამასთან, დაავადება გაცილებით ხშირია მწვევლებში არამწვევლებთან შედარებით (Addae et al., 2005).

ვასკულარული დემენციის პროგნოზი უფრო ცუდია ვიდრე ალცჰაიმერის დაავადების შემთხვევაში. პაციენტების უმეტესობა იღუპება დიაგნოზიდან რამოდენიმე წელში. ხშირად კოგნიტური დეფექტი გრძელდება სხვა რისკ ფაქტორების მკურნალობის მიუხედავად. ცუდი პროგნოზი ავითარებს პრევენციული ზომების მიღების აუცილებლობას (Ballard, 2004; Hanon et al., 2004).

1.8 აღ-საგან განსხვავებული ტიპის დემენციათა გენეტიკური ასპექტები

აღ-ს შემდეგ მნიშვნელოვანი ადგილი უჭირავს დევენერაციულ დემენციას ლევის სხეულებით, რომელიც თავისი ნიშნებით პარკინსონის დაავადების მსგავსია. მისთვის დამახასიათებელია კოგნიტური ფუნქციის დარღვევა და კორტიკალური ლევის სხეულების არსებობა. ჯერჯერობით ვერ იქნა აღმოჩენილი გენეტიკური ლოკუსები ამ დაავადებისათვის და მხოლოდ კლინიკური ნიშნების გათვალისწინებით მისი დიაგნოსტიკა საკმაოდ გაძნელებულია (McKeith et al., 2003).

ბრიტანული ოჯახური დემენციის ძირითად მახასიათებელს წარმოადგენს ამილოიდური დეპოზიტები ცერებრალურ სისხლძარღვებსა და პარენქიმაში, ასევე ლიმბურ არეებში ვითარდება ნეიროფიბრილური გორგლები. ამილოიდის სუბერთეული 266 ამინომჟავასაგან შემდგარი 4კდა-ის ფრაგმენტია, რომელიც კოდირდება მე-13 ქრომოსომაზე ლოკალიზებული BR1 გენით. დემენცირებულ პაციენტებში აღინიშნა ერთი ფუძის ცვლილება ამ გენის სტოპ-კოდონში, რის შედეგად წარმოიქმნება 277 ნაშთიანი წინამორბედი ცილა, რომლის C-

ტერმინალური უბნის ფურინის მსგავსი ფერმენტით პროცესინგის შედეგად მიიღება 34 ამინომჟავას შემცველი ამილოიდური სუბერთეული. ეს უკანასკნელი კი განიცდის სწრაფ აგრეგაციასა და ფიბრილიზაციას. აღნიშნული სუბერთეული სტრუქტურულად არ არის დაკავშირებული ად-ს ძირითად კომპონენტთან (A β), რაც იმაზე მოუთხოვს, რომ A β -სგან განსხვავებული ამილოიდური მოლეკულების დაგროვება თავის ტვინში იწვევს მის მსგავს ნეიროპათოლოგიურ ცვლილებებს რასაც მიყვართ ნეირონების კარგვასა და დემენციამდე (Ghisso et al., 2000).

ამ ტიპის დემენციების გარდა მემკვიდრულ ფორმებს მიეკუთვნება: ად-სთან დაკავშირებული ამილოიდური ანგიოპათია, ფრონტოტემპორალური დემენცია და მასთან დაკავშირებული ტაუპათიები, ოჯახური პრიონული დემენცია, დანიური ოჯახური დემენცია და ცერებრალური აუტოსომურ-დომინანტური არტერიოპათია. აღნიშნულ დაავადებათა განმაპირობებელი ლოკუსების იდენტიფიკაცია ადამიანის გენომში დღემდე გრძელდება (Hedera et al., 2002).

1.7 ციტოგენეტიკური მახასიათებლების შესწავლა ად-ს დროს

მას შემდეგ რაც აღმოჩენილი და შესწავლილი იქნა ად-ს მემკვიდრული ბუნება, ციტოგენეტიკური კვლევები ინტენსიურად დაიწყო. თუმცა უნდა ითქვას, რომ დღეისათვის არსებული უამრავი მასალის მიუხედავად ერთი აზრის ჩამოყალიბება საკმაოდ რთულია მონაცემთა წინააღმდეგობრივი ხასიათის გამო. საკმაოდ მნიშვნელოვან საკითხს წარმოადგენს ანეუპლოიდიის სიხშირის განსაზღვრა ად-ს შემთხვევაში. Smith-მა და სხვ. წარმოადგინეს ციტოგენეტიკურ კვლევათა შედეგები ანეუპლოიდიასთან მიმართებაში. მასალად გამოყენებული იყო ად-ით დაავადებულთა პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტები. ჰიპოპოდალურ უჯრედთა რიცხვი 4,5%-ს შეადგენდა, ხოლო კონტროლში 5,5% იყო. ჰიპერპოდალური უჯრედები ად-ს ჯგუფში საერთოდ არ აღინიშნა. სტატისტიკური ანალიზით გაკეთდა დასკვნა, რომ ად-ით დაავადებულთა ანეუპლოიდიის მაჩვენებელი არ განსხვავდება საკონტროლო ჯგუფისაგან, ამასთან, უფრო მკვეთრად გამოვლინდა

C ჯგუფის ქრომოსომების კარგვა, რაც მკვლევარებმა დაბერების პროცესით ახსნეს (Smith et al., 1983). საწინააღმდეგო შედეგები მიიღო მეცნიერთა სხვა ჯგუფმა. მათ შეისწავლეს 1) ად-ს სპორადიული ფორმები; 2) ოჯახური ფორმები და 3) დაავადებულთა ჯანმრთელი ნათესავები. ექსპერიმენტულმა ანალიზმა აჩვენა ანეუპლოიდიის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი მომატება კონტროლთან შედარებით ად-ს ოჯახური ფორმის შემთხვევაში (Ward et al., 1989). პიზას უნივერსიტეტში შეისწავლეს სპონტანური და ინდუცირებული ანეუპლოიდიის სიხშირე ად-ით დაავადებულთა პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტებში. ანალიზს დაუქვემდებარეს შემდეგი ციტოგენეტიკური პარამეტრები: ცენტრომერთა ნაადრევი დაცილება და მიკრობირთვების სიხშირე. გამოყენებული იყო FISH მეთოდი ცენტრომერული უბნის დეტექციის მიზნით. ანეუპლოიდოგენური აგენტის სახით გამოყენებული იქნა გრიზოფულვინი, პრეპარატი რომლის სამიზნეს წარმოადგენს მიკრომილაკებთან ასოცირებული ცილა. ორივე მახასიათებლის სპონტანური სიხშირე მნიშვნელოვნად მაღალი აღმოჩნდა დაავადებულებში კონტროლთან შედარებით. FISH-მა გამოავლინა, რომ მიკრობირთვების უმეტესობა შედგებოდა მთლიანი ქრომოსომებისაგან. გრიზოფულვინისადმი მგრძობიანობის შესწავლამ აჩვენა, რომ მიკრობირთვების ინდუცირება უფრო დაბალი სიხშირით ხდება დაავადებულებში, ვიდრე ჯანმრთელ ინდივიდებში. სპონტანური ანეუპლოიდიის დონის მომატება ად-ს შემთხვევაში ადასტურებს ჰიპოთეზას, რომ მიკრომილაკების დაზიანება და დისფუნქცია შესაძლოა ასოცირებული იყოს დაავადების განვითარებასთან (Migliore et al., 1997; Trippi et al., 2001).

ად-ს სპორადიული ფორმით დაავადებული პაციენტების პერიფერიული სისხლის ფიტოკჰემაგლუტინინით სტიმულირებულ ლიმფოციტებში ჩატარდა X ქრომოსომის ციტოგენეტიკური ანალიზი. გამოყენებული იქნა ორი მეთოდი: 1) მეტაფაზური ქრომოსომების ანალიზი G-ბენდირებით; 2) ინტერფაზურ ბირთვებში X ქრომოსომის ცენტრომერული უბნის დეტექცია FISH მეთოდით. შედეგებმა აჩვენა X ქრომოსომის შემთხვევაში ცენტრომერთა ნაადრევი დაცილების მნიშვნელოვანი

მომატება ად-ით დაავადებულ ინდივიდებში საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (Spremo-Potparevic et al., 2004).

ად-ით დაავადებულთა პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტებში შესწავლილ იქნა ასევე შვილეულ ქრომატიდთაშორისი გაცვლები (შქგ) და ლიმფოციტთა პროლიფერაციული აქტივობა. საკონტროლო ჯგუფს წარმოადგენდა როგორც მოხუცები, ისე ახალგაზრდები. აღმოჩნდა, რომ ეს პარამეტრები მნიშვნელოვნად არ იცვლება ად-ს ჯგუფსა და საკონტროლო მოხუცებს შორის, თუმცა ორივე მათგანში აღირიცხა შქგ-ს მაღალი სიხშირე და ლიმფოციტთა პროლიფერაციის ნაკლები ინტენსივობა ახალგაზრდა დონორებთან შედარებით (Melaragno et al., 1991). Petrozzi-მ და სხვ. აღრიცხეს ციტოგენეტიკური დარღვევები ად-ით და პარკინსონიზმით დაავადებულთა სისხლის ლიმფოციტებში. ქრომოსომათა სტრუქტურული და რაოდენობრივი ცვლილებების სპონტანური დონე შეფასდა მიკრობირთვების ანალიზით FISH მეთოდის გამოყენებისას. მიკრობირთვების სპონტანური სიხშირე ად-სა და პდ-ით დაავადებულთა ლიმფოციტებში მნიშვნელოვნად მაღალი იყო ვიდრე კონტროლში, რასაც საფუძვლად უდევს საკმაოდ რთული მოლეკულური მექანიზმები (Petrozzi et al., 1999).

შესწავლილი იქნა მაალკილირებელი ნაერთებით გამოწვეული დნმ-ის დაზიანებათა რეპარაციის ინტენსივობა ად-ით დაავადებულებში. მასალად გამოიყენეს კანის ფიბრობლასტები, ლიმფოციტები და ლიმფობლასტები, ხოლო ნაერთებად – მეთილმეთანსულფონატი და N-მეთილ-N'-ნიტრო-N-ნიტროზოგუანიდინი. ფიბრობლასტებში მნიშვნელოვნად დაქვეითებული აღმოჩნდა დნმ-ის დაზიანებათა რეპარაციული აქტივობა აღნიშნულ აგენტთა სხვადასხვა კონცენტრაციის ხსნარებით მოქმედების პირობებში. მსგავსი შედეგები იქნა მიღებული დომინანტური დამემკვიდრების მქონე ად-ს ლიმფობლასტების მაგალითზეც. ეს მონაცემები ადასტურებს ჰიპოთეზას დნმ-ის რეპარაციის დეფიციტის შესახებ ად-ს ოჯახური ფორმის დროს (Bradley et al., 1989).

აქტიური კვლევის საგანს წარმოადგენს ბირთვაკაორგანიზებელი უბნები ად-ს დროს. Payao-მ და სხვ. შეისწავლეს სატელიტური ასოციაციების სიხშირე Ag-

ბენდილების მეთოდით. მასალად გამოყენებული იყო 10 ად-ით დაავადებულის, 10 ჯანმრთელი ხანდაზმულისა და 10 ჯანმრთელი ახალგაზრდას სისხლის ლიმფოციტები. შედეგებმა აჩვენა ასოციაციების სისშირის მნიშვნელოვნად დაკლება 21-ე ქრომოსომულ წყვილთან მიმართებაში საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (Payao et al., 1994). განსხვავებული შედეგები იქნა მიღებული ად-ით დაავადებულთა ჰიპოკამპალური ნეირონების ბირთვაკაოროგანიზებული უბნების შესასწავლად წარმოებულ ექსპერიმენტებში. ბირთვაკათა ტრანსკრიპციული აქტივობა შემცირებული აღმოჩნდა ად-სა და ხანდაზმულთა საკონტროლო ჯგუფში ახალგაზრდებთან შედარებით, თუმცა უნდა აღინიშნოს, რომ ად-ს ჯგუფში ეს პარამეტრი გაცილებით გაუმჯობესებული იყო ვიდრე ჯანმრთელ მოხუცებში, რაც უფრო ძლიერი უჯრედული დამცველობითი სისტემის არსებობით შეიძლება აიხსნას (Lu et al., 1998).

დნმ-ის მეთილირების პროცესი განიხილება როგორც გენთა აქტივობის მაკონტროლებელი გენეტიკური მექანიზმი. დემეთილირების მაინდუცირებელ ცნობილ აგენტს წარმოადგენს 5-აზაციტიდინი. შეისწავლეს ად-ით დაავადებულთა პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტებში აღნიშნული ნაერთით მოქმედების პირობებში კონსტიტუციური ჰეტეროქრომატინის მდგომარეობა 1, 9 და 16 ქრომოსომებზე. აღმოჩნდა, რომ 5-აზაციტიდინი ხასიათდება გენთა დიფერენციალური აქტივაციით ად-ით დაავადებულთა ჯგუფში საკონტროლო ინდივიდებთან შედარებით (Kormann-Bortolotto et al., 1992; Payao et al., 1998).

ყოველივე ზემოთ თქმულიდან გამომდინარეობს, რომ საჭიროა დამატებითი ციტოგენეტიკური კვლევა, რომ აღნიშნულ ფლუქტუაციებს ახსნა მოეძებნოს და უკეთ გამოიკვეთოს ის ციტოპათოლოგიური სურათი, რომელსაც ადგილი აქვს ად-ს შემთხვევაში. განსაკუთრებით საინტერესოა უჯრედთა ტრანსკრიპციული აქტივობის შეფასება ამ დროს. ამასთან დაკავშირებით მნიშვნელოვანი შედეგები იქნა მიღებული da Silva-სა და სხვების მიერ. ცნობილია, რომ აქტიური ტრანსკრიპციის დროს რიბოსომული რნმ-ის გენები ლოკალიზირებულია ბირთვაკებში და ტრანსკრიბირდება რნმ-პოლიმერაზა I-ით. გენთა ეს ჯგუფი ჩართულია

ტრანსკრიპციისა და ტრანსლაციის პროცესებში, რომელთაც შეუძლიათ გენთა ექსპრესიის მოდულაცია. აღწერილია რ-რნმ-ის დონის კავშირი დაბერებასთან. ექსპერიმენტულად შეისწავლეს მომწიფებული რ-რნმ-ის 28S და 18S სუბერთეულების თანაფარდობა ად-ით დაავადებულთა პერიფერიულ სისხლში. საკონტროლოდ გამოიყენეს ზანდაზმული და ახალგაზრდა იდივიდები. შედეგებმა აჩვენა ამ თანაფარდობის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი შემცირება ად-ს შემთხვევაში ორივე საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით ApoE4 გენოტიპისაგან დამოუკიდებლად. აქედან შესაძლოა გაკეთდეს დასკვნა, რომ ად-ს დროს ადგილი აქვს ცვლილებებს რ-რნმ-ის ტრანსკრიპციის ან მომწიფების პროცესებში (da Silva et al., 2000; Tavares et al., 2004).

Percy-მ და სხვებმა დაახასიათეს უჩვეულო 22p+ მარკერული ქრომოსომა ორმაგი ბირთვაკმაორგანიზებული უბნით, რომლის იდენტიფიცირებაც მოხდა ად-ს გვიანი ფორმით დაავადებულ ინდივიდებში. G-ბენდირებამ და მორფოლოგიურმა ანალიზმა აჩვენა, რომ მარკერის q მხარი იყო ნორმალური. მიუხედავად ამისა, p+ მხარს ჰქონდა ტერმინალური ციტოლოგიური სატელიტი. ქრომოსომათა C-ბენდირებამ, R-ბენდირებამ და უი დენატურაციამ აჩვენა, რომ აღნიშნული მარკერის p მხარის უდიდესი ნაწილი მეთილირებულია (Percy et al., 1993).

1.8 ბირთვაკმაორგანიზებული უბნების ფუნქციური მახასიათებლები

| ზოგიერთი პათოლოგიის დროს

D და G ჯგუფის ქრომოსომების მოკლე მხრები წარმოდგენილია სამი უბნით: მოკლე სეგმენტით, რომელიც უშუალოდ ემიჯნება ცენტრომერულ რაიონს, მოკლე მხრის მეორეული ჭიმით და მცირე ზომის კომპაქტური სხეულაკით – თანამგზავრით (სატელიტით), რომელიც მოიცავს აკროცენტრული ქრომოსომის მოკლე მხრის ტელომერას.

მეორეული ჭიმები შეიცავენ გენებს, რომლებიც აკოდირებენ 18S და 28S რიბოსომულ რნმ-ს (Evans et al., 1974). ტრანსკრიბირებული რნმ, უკავშირდება რა ცილას, საბოლოოდ ბირთვაკის ნაწილი ხდება, რის გამოც ამ ლოკუსებს ბირთვაკის ორგანიზატორები ან ბირთვაკწარმოქმნელი რაიონები (NOR) უწოდეს. რესტრიქციულმა ანალიზმა აჩვენა (Maden et al., 1987), რომ 45S რ-რნმ-ის მაკოდირებელი უბნის სიგრძე ადამიანში დაახლოებით 13 ათასამდე ნუკლეოტიდური წყვილის ტოლია. რიბოსომული ცისტრონების ტრანსკრიპცია ზორციელდება ენდოგენური დნმ-დამოკიდებული რნმ-პოლიმერაზა I-ით (Grummt et al., 1982; Sandberg, 1985).

აღმოჩნდა, რომ NOR შერჩევითად იღებება აზოტმჭავა ვერცხლით (Bloom, Goodpasture, 1976). ქრომოსომები კარგავენ შეღებვის უნარს მათი პროტეოლიზური ან ჟანგვითი დამუშავებისას, რაც იძლევა საფუძველს ვივარაუდოთ, რომ Ag-შეღებვისას იღებებიან აკროცენტრული ქრომოსომების არაპისტონური ცილები, რომლებიც აღადგენენ ვერცხლის იონებს (Matsui et al., 1986). თანამედროვე წარმოდგენებით Ag-დადებითი NOR-ის რაოდენობა და ზომები, აგრეთვე მათი შეღებვის ინტენსიობა დამოკიდებულია მიტოზის წინამორბედ ინტერფაზაში რიბოსომული ცისტრონების ფუნქციური აქტივობის ხარისხზე (Schwarczacher, 1983; Rocci et al., 1986).

ცნობილია, რომ ადამიანის აკროცენტრული ქრომოსომები შედიან ერთმანეთთან თანამგზავრულ ასოციაციებში (Ferguson-Smith, 1963; Прокофьева-Бельговская и др., 1966). აკროცენტრიკები, რომლებიც მონაწილეობენ ინტერფაზის და პროფაზის დროს ბირთვაკის ორგანიზაციაში, შესაძლოა შეერთებული დარჩნენ სატელიტურ ასოციაციებში მეტაფაზის სტადიაზე ბირთვაკის გაქრობის შემდეგაც (De Capoa et al., 1987). ასოციაციებში შედიან მხოლოდ ის ქრომოსომები, რომელთაც გააჩნიათ წინამორბედ ინტერფაზაში აქტიურად ფუნქციონირებადი NOR-ები (Verma et al., 1983).

ადამიანში 10 აკროცენტრული ქრომოსომიდან ასოციაციების ფორმირებაში მონაწილეობას ღებულობს როგორც ჰომოლოგიური, ისე არაჰომოლოგიური

ქრომოსომები. ქრომოსომების უნარი, შეერთდნენ და წარმოქმნან ასოციაციები, განისაზღვრება ორი ქრომატიდული თანამგზავრული ძაფის არსებობით. ე.ი. ქრომოსომები ითვლებიან ასოცირებულად, როდესაც შეერთებულია მათი თანამგზავრი ძაფების რომელიმე წყვილი (Heliot et al., 2000). ამ ფაქტზე დაყრდნობით ლეჟავამ და სხვ. (Lezhava et al., 1972) შექმნეს მათემატიკური “ასოციაციების თანამგზავრული მოდელი”, რომელიც წარმოადგენს პოლინომინალური განაწილების მოდელს და საშუალებას იძლევა დაწვრილებით შევისწავლოთ 2-ზე მეტი ქრომოსომით წარმოდგენილი ასოციაციები. გაირკვა, რომ G ჯგუფის ქრომოსომები D-სთან უფრო მაღალი სიხშირით შედიან თანამგზავრულ ასოციაციებში (Лежава и др., 1977; Lezhava, 1992).

აკროცენტრული ქრომოსომების მეორეული ჭიმები წარმოდგენილია პეტეროქრომატინით (Прокофьева-Бельговская и др., 1986). ძაფების სიგრძე ძლიერ ვარირებს, რაც დაკავშირებულია მათი სპირალიზაციის ხარისხთან (Lezhava, 1984; Verma, Rodriguez, 1985).

ქრომოსომათა ასოციაციის სიხშირე კორელაციაშია მათი ვერცხლით შეღებვის უნართან. ნაჩვენებია, რომ ასოციაციაში შემავალი ქრომოსომების NOR-ები თითქმის ყოველთვის იღებება ვერცხლით და რაც უფრო მსხვილია NOR-ის Ag-სეგმენტები, მით უფრო ხშირად შედიან ქრომოსომები ასოციაციებში (Miller, 1992).

რ-რნმ-ის გენური სისტემა ხასიათდება მაღალი პლასტიურობით და მგრძობელობით შინაგანი (Schmiady et al., 1979; Sigmund et al., 1979) და გარეგანი (Baldini et al., 1985) ფაქტორების მიმართ. ნაჩვენებია NOR-ის ტრანსკრიპციული აქტივობის დამოკიდებულება სქესზე (Лежава, 1984), ასაკზე (Kadotani et al., 1978; Lezhava, 1999), ეთნიკურ ჯგუფზე (Mikelsaar, 1979), ასევე უჯრედების ტიპზე (Созанский и др., 1983; De Capoa et al., 1985), მიტოზური დაყოფების რიცხვზე კულტურაში (Фролов, 1986), უჯრედების მალიგნიზაციაზე (Грабовская и др., 1986) და სხვ.

ორმაგი თანამგზავრები D ჯგუფის ქრომოსომებზე აღწერილი იყო ინდივიდებში მრავლობითი სიმახინჯეებით (Groushy et al., 1964), ავადმყოფში კლინიფელტერის

სინდრომით (Stahl et al., 1966); ორმაგი თანამგზავრები G ჯგუფის ქრომოსომებზე აღწერილ იქნა ჰიპოსპადიით დაავადებულ ავადმყოფში Turjin et al., 1965), აგრეთვე შტეინ-ლევენტალის სინდრომოს მქონე ინდივიდში (Левава, 1966). G ჯგუფის აკროცენტრულ ქრომოსომებზე ორმაგი თანამგზავრების წარმოქმნას, ლეჟავას მონაცემებით შეიძლება ჰქონდეს შემდეგი ახსნა: ეს არის “კლასიკური ტიპის” თანამგზავრი ძაფის გამსხვილებული ნაწილის ნაწილობრივი დესპირალიზაციის, რეციპროკული ტრანსლოკაციის ან G ჯგუფის ერთი ქრომოსომის თანამგზავრული რაიონის დუბლიკაციის შედეგი. ორმაგი თანამგზავრები გადაეცემა თაობებს და შეუძლიათ გამოიწვიონ აკროცენტრული ქრომოსომების გაუთიშველობა მიტოზსა და მეორე მეიოზური გაყოფის ანაფაზაში.

კოენსა და სხვ. (Coens et al., 1988) ტერნერის სინდრომის კლასიკური და მოზაიკური ფორმით დაავადებულ ინდივიდებში გამოავლინეს გაორმაგებული ბირთვაკის ორგანიზატორები აკროცენტრულ ქრომოსომებზე. ავტორები მიუთითებენ ამ მოვლენასა და ქრომოსომების განურიდებლობას შორის კავშირზე.

ასოციაციებში ჩართვის მომატებული ტენდენცია 21-ე ქრომოსომისათვის აღმოჩენილია დაუნის სინდრომით დაავადებულებსა და მათ მშობლებში. როდესაც ბერნშტეინი და სხვ. (Bernstein et al., 1981) აკვირდებოდნენ მარკერულ 22-ე ქრომოსომას გაორმაგებული Ag-პოზიტიური უბნით, შენიშნეს, რომ ეს ქრომოსომა ხასიათდებოდა ასოციაციებში შესვლის მაღალი უნარით.

მიკელსაარისა და სხვ. გამოკვლევები (Mikelsaar et al., 1977), აგრეთვე სოზანსკის კვლევები (Созанский, 1983) გვიჩვენებს, რომ აკროცენტრული ქრომოსომების ასოციაცია უჯრედში მიმდინარე ფიზიოლოგიური პროცესების ამსახველია. ამ მოსაზრების სასარგებლოდ მეტყველებს ბირთვაკის ორგანიზატორის აქტივობის საკომპენსაციო ასოციაციური მექანიზმის არსებობა. კერძოდ, დადგინდა იქნა, რომ რობერტსონული ტრანსლოკაციების მატარებელი მე-15 და 21-ე წყვილი ქრომოსომებისათვის დამახასიათებელია ასოციაციების გაზრდილი სიხშირე ნორმალური კარიოტიპის მქონე ნათესავებთან შედარებით.

საინტერესო მონაცემები იქნა მიღებული ავტორთა ჯგუფის მიერ პიგმენტური ქსეროდერმით დაავადებულთა სისხლის ლიმფოციტებში სპონტანური და მიტომიცინ C-თი ინდუცირებული ასოციაციების სიხშირის შესწავლისას (Andriadze et al., 1989). გამოკვლევებმა აჩვენა, რომ აკროცენტრული ქრომოსომების ასოციაციების სპონტანური სიხშირე თანაბარია ჯანმრთელ და პიგმენტური ქსეროდერმით დაავადებულთა სისხლის ლიმფოციტებში. მიტომიცინ C-ს მოქმედებით ასოციაციების სიხშირე გაიზარდა როგორც ჯანმრთელ, ისე დაავადებულთა სისხლის ლიმფოციტებში.

გრაბოვსკაია და სხვ. (Грабовская и др., 1986) ლეიკოზით დაავადებული ინდივიდების ძვლის ტვინის უჯრედებში და ფვა-სტამბულირებულ ლიმფოციტებში საზღვრავდნენ ვერცხლით ღებვადობის ხარისხს და სატელიტური ასოციაციების სიხშირეს. ქრონიკული მიელოლეიკოზით დაავადებული პირების ძვლის ტვინის უჯრედებში ეს მაჩვენებლები ძლიერ დაქვეითებული იყო ჯანმრთელ დონორებთან შედარებით, რასაც ავტორები ერითროპოეზის დათრგუნვით ხსნიან.

მაშავემა და სხვ. (Мамаев и др., 1986) მოვერცხლილი ბირთვაკმარგანიზებელი უბნების შემცველობის ($5,5 \pm 0,6$ ერთ მეტაფაზაზე) და აკროცენტრულ ქრომოსომული ასოციაციების რაოდენობის ($0,38 \pm 0,16$ ერთ მეტაფაზაზე) მხრივ პრაქტიკულად ვერ ნახეს განსხვავება მიელომით დაავადებულ და ჯანმრთელ ინდივიდებს შორის – საკონტროლო ჯგუფის შესაბამისი მაჩვენებლები იყო $5,1 \pm 0,2$ და $0,42 \pm 0,2$.

სიგუამ და სხვ. შეისწავლეს Ag-NOR სეგმენტების სიხშირე და ასოციაციათა რაოდენობა ისეთი შემადგენელქსოვილოვანი პათოლოგიების დროს, როგორცაა სისტემური წითელი მგლურა და რევმატიოიდული ართრიტი. რევმატიოიდული ართრიტის შემთხვევებში დადგინდა იქნა Ag-NOR სეგმენტების სიხშირის მკვეთრი დაქვეითება, განსხვავებით სისტემური წითელი მგლურის შემთხვევებისაგან, სადაც ეს სიდიდე თითქმის არ განსხვავდებოდა შესაბამისი საკონტროლო მაჩვენებლისაგან. ბირთვაკმარგანიზებულ Ag-NOR ქრომოსომათა ასოციაციების სიხშირე ასევე დაქვეითებული იყო რევმატიოიდული ართრიტის შემთხვევაში, ხოლო წითელი

მგლურით დაავადებულ ინდივიდებში კი აღინიშნა ამ მაჩვენებლის სარწმუნო გაზრდა. დაავადების ორივე ფორმის დროს განისაზღვრა D ჯგუფის ქრომოსომების და DD ტიპის ქრომატიდული ასოციაციების სიხშირის სარწმუნო დაქვეითება.

ბირთვაცისა და ბირთვაცის მარგანიზებული უბნების ფუნქციონირება, რომლებიც უჯრედის უმნიშვნელოვანეს მოლეკულურ-გენეტიკურ პროცესებში მონაწილეობენ, უჯრედის ერთ-ერთ ძირითად მახასიათებელს წარმოადგენს. აქედან გამომდინარე, ბირთვაცის ორგანიზატორების მუშაობის კანონზომიერებათა შესწავლა სხვადასხვა ხასიათის ფუნქციონალური ცვლილებების, კერძოდ, ორგანიზმის იმუნოგენეტიკური სტაბილურობის დარღვევის პირობებში, განსაკუთრებულ მნიშვნელობას იძენს.

1.9 ინტერფაზური ბირთვაცმარგანიზებული უბნების სიხშირე და განაწილება ნორმასა და პათოლოგიების დროს

ინტერფაზური ბირთვაცმარგანიზებული უბნები (NORs) წარმოადგენს ბირთვაცის სტრუქტურულ-ფუნქციურ ერთეულს, რომლებშიც ლოკალიზებულია რიბოსომული რნმ-ის სინთეზისთვის საჭირო ყველა კომპონენტი. ინტერფაზურ NOR-ებთან ასოცირებულია რ-რნმ-ის ტრანსკრიპციისა და პროცესინგისათვის საჭირო არგროფილური ცილები - ნუკლეოლინი (C23 - 105კდა) და ნუკლეოფოსმინი (B23 - 39კდა), რომლებიც პასუხისმგებელნი არიან NOR-ების ვერცხლით ღებვადობაზე და საშუალებას გვაძლევენ მოვახდინოთ ინტერფაზური AgNOR-ების ვიზუალიზაცია სინათლის მიკროსკოპში რუტინულ ციტო-ჰისტოპათოლოგიურ პრეპარატებზე (Derenzini, 2000). ტერმინი "AgNOR ცილები" აერთიანებს სხვადასხვა არგროფილურ ბირთვაცულ ცილებს, რომლებიც აკუმულირდება მაღალპროლიფერირებად უჯრედებში, მაშინ როცა მათი ექსპრესიის ინტენსივობა ძალიან დაბალია გაყოფის უნარს მოკლებულ უჯრედებში. ზოგიერთი ეს ცილა ასოცირებული რჩება ბირთვაცმარგანიზებულ უბნებთან მთელი მიტოზის განმავლობაში.

in situ AgNOR-ცილების ექსპრესიის განსაზღვრა ხდება ვერცხლით ღებვადობის დონის შეფასების საშუალებით რისთვისაც გამოიყენება NOR-ების მორფომეტრული ანალიზი. (Sirri et al., 2000). Ag-NOR მეთოდის არსი იმაში მდგომარეობს, რომ ხდება იმ არაპისტონური, არგროფილური, ბირთვაკული ცილების სპეციფიკურად შეღებვა, რომლებიც ასოცირებულია რიბოსომული დნმ-ის ტრანსკრიპციულად აქტიურ უბნებთან. ისინი შეიძლება განვიხილოთ როგორც ცილის სინთეზისა და მოცემული უჯრედის პროლიფერაციული აქტივობის მახასიათებელი (Ruschoff et al., 1989). ხდება AgNOR-ებთან დაკავშირებული შემდეგი პარამეტრების ანალიზი: ცილათა კლასტერებისა და წერტილების (dots) რიცხვი, ერთი კლასტერის შემცველი უჯრედთა რაოდენობა (უჯრედები ხანგრძლივ G₁-ში), მთელ ბირთვში ვერცხლით შეღებილი უბნების პროცენტული შემცველობა, AgNOR-ების საშუალო ზომა და ლოკალიზაცია (Lorand-Metze et al., 1998).

გარდა ნუკლეოლინის და B23 ცილისა AgNOR ცილების შემადგენლობაში შედის რნმ-პოლიმერაზა I-ის სუბერთეულები, ფიბრილარინი, დნმ-ტოპოიზომერაზა I, pp135 პროტეინი და ტრანსკრიპციის ფაქტორი UBF. ეს ცილები რჩება NOR-ებთან ასოცირებულ მდგომარეობაში მიტოზის ყველა ფაზაში (Medina et al., 1995; Vandelaer et al., 1998; Sirri et al., 2000). მიტოზური უჯრედების სამგანზომილებიანმა ანალიზმა კონფოკალური მიკროსკოპიის გამოყენებით აჩვენა, რომ UBF ასოცირებული რჩება NOR-ებთან მთელი მიტოზის განმავლობაში და ადგილი აქვს მის თანაბარ გადანაწილებას შეილულ უჯრედებში (Roussel et al., 1993). ამასთან აღმოჩნდა, რომ ინტერფაზური NOR-ების ერთ-ერთი ძირითადი ცილა B23 მიტოზში გვხვდება სხვადასხვა უჯრედულ დომენებთან ასოცირებული სახით, როგორცაა ნუკლეოპლაზმა (პროფაზაში, ვიდრე მოხდება ბირთვის გარსის დაშლა), ციტოპლაზმა (პრომეტაფაზიდან შუა ტელოფაზამდე), პერიქრომოსომული უბანი (პრომეტაფაზიდან ადრულ ტელოფაზამდე), ციტოპლაზმური B23-ის შემცველი სხეულაკები (ანაფაზასა და ტელოფაზაში) და პრენუკლეოლარული სხეულები - PNBs (ტელოფაზაში) (Zatsepina et al., 1997).

არგიროფილური ბირთვაკმორგანიზებული უბნების და მათთან ასოცირებული ცილების რაოდენობა ვარირებს უჯრედის აქტივობასთან მიმართებაში, ამასთან იცვლება რიბოსომათა ბიოგენეზიც, რასაც ადგილი აქვს პროლიფერირებად უჯრედებში (Pession et al., 1991; Lee et al., 1999; Morimoto et al., 2001). Ag-NOR ცილათა რაოდენობრივი ცვლილება *in situ* ციტოპათოლოგიურ პრეპარატებზე ძირითადად აისახება ნუკლეოლინისა და B23 ცილის რაოდენობრივ ცვლილებაში რაც იმაზე მიუთითებს, რომ მათი რაოდენობა უკუპროპორციულ დამოკიდებულებაშია უჯრედის გაყოფის დროსთან. უჯრედის ციკლსა და Ag-NOR ცილების რაოდენობას შორის კავშირის შესწავლის მიზნით საჭიროა გამოვლინდეს უჯრედული ციკლის ის ფაზები, რომლებშიც აღნიშნულ ცილათა ექსპრესია ვარიაციურია და ასევე მოხდეს თითოეულ ფაზაში ყველაზე ცვალებადი ცილების იდენტიფიცირება (Derenzini et al., 1995; Derenzini et al., 2001).

Sirri-მ და სხვებმა ნახეს, რომ ვირთავას ღვიძლში ნუკლეოლინისა და B23 ცილის რაოდენობის გაზრდა უკავშირდება რიბოსომული გენების ტრანსკრიპციის სტიმულაციასა და უჯრედულ ციკლის ფაზებს. სინქრონულად დაყოფად უჯრედებში ნუკლეოლინის შემცველობა სწრაფად იზრდება უჯრედთა S ფაზაში შესვლის საპასუხოდ. G₂ ფაზაში მყოფ უჯრედთა რაოდენობის გაზრდასთან ერთად ზდება B23 ცილის რაოდენობის პროგრესულად მატება. Ag-NOR ცილების რაოდენობა შესაძლოა იყოს უჯრედთა პროლიფერაციის მარკერი, ვინაიდან მათი რაოდენობა დაკავშირებულია უჯრედული ციკლის ფაზებთან, სქემატურად: დაბალი - G₁ ფაზაში და მაღალი - G₂+S ფაზებში. უნდა აღინიშნოს, რომ G₀-ში Ag-NOR ცილათა რაოდენობა განახევრებულია G₁ ფაზაში მყოფ უჯრედებთან შედარებით, ნუკლეოლინის დეტექცია ამ დროს საკმაოდ გაძნელებულია. მისი ექსპრესია იზრდება G₀- G₁ და G₁- S ფაზებს შორის (Junera et al., 1995). ეს მონაცემები შესაბამისობაშია ჰიპოთეზასთან, რომლის თანახმად Ag-NOR ცილათა რაოდენობის შესწავლით შესაძლებელია გამოვთვალოთ უჯრედული ციკლის თითოეულ ფაზაში მყოფ უჯრედთა პროცენტული შემცველობა (Hittmair et al., 1994; Sirri et al., 1997).

შესწავლილია, რომ რიბოსომული გენების ტრანსკრიპცია რნმ-პოლიმერაზა I-ის მეშვეობით მერყეობს უჯრედული ციკლის ფაზებთან მიმართებაში: მაქსიმალურია S და G₂ ფაზებში, რეპრესირებულია მიტოზში და თანდათანობით აღდგება G₁-ის პროგრესირებასთან ერთად. აღმოჩნდა, რომ ორი ძირითადი ტრანსკრიპციის ფაქტორი TIF-IB/SL1 და UBF ინაქტივირებულია მიტოზში და განიცდის რეაქტივაციას ღეფოსფორილირების გზით მიტოზიდან გამოსვლისა და G₁ ფაზის დადგომასთან ერთად (Klein et al., 1999).

მრავალი სამეცნიერო ნაშრომი მიუთითებს Ag-NOR-ების რაოდენობასა და უჯრედის კინეტიკას შორის კავშირზე. მორფომეტრული ანალიზით განსაზღვრული ინტერფაზური Ag-NOR-ების სიხშირე იზრდება ადრეული G₁ ფაზიდან გვიან S ფაზამდე. Ag-NOR-ები სიმსივნურ ქსოვილებშიც კავშირშია უჯრედულ ციკლში შესულ უჯრედთა რაოდენობასა და უჯრედთა გაორმაგების დროსთან. რაც უფრო სწრაფად ხდება უჯრედთა პროლიფერაცია, მით უფრო დიდია ინტერფაზური Ag-NOR-ების რაოდენობა (Derenzini et al., 1994; Canet et al., 2001; Smolarz et al., 2003).

აღამიანისა და ზაზუნას ინტერფაზურ უჯრედებში ძირითად Ag-NOR ცილებს წარმოადგენენ ნუკლეოლინი და B23 ცილა, ასევე 42, 40 და 29კდა მასის მქონე ცილები, რომლებზეც მოდის ვერცხლით ღებვადობის საკმაოდ მცირე წილი. მიტოზის დროს Ag-NOR ცილები იხსნება ციტოპლაზმაში, ნაწილდება ქრომოსომების ირგვლივ ან რჩება ასოცირებული რიბოსომულ გენებთან. ამ უკანასკნელებს მიეკუთვნება რნმ-პოლიმერაზა I-ის სუბერთეული, 135კდა მასის NOR ცილა, UBF და 50კდა მასის ცილა (Vandelaer et al., 1998). ნუკლეოლინის მხოლოდ 5%-ზე ნაკლები რჩება დაკავშირებული რიბოსომულ გენებთან მიტოზში, რაც იმაზე მიუთითებს, რომ ინტერფაზურ ბირთვაკებში შემავალი Ag-NOR ცილები განსხვავდება იმ ცილებისაგან, რომლებიც ასოცირებულია რიბოსომულ გენებთან მიტოზის დროს. აქედან გამომდინარე, ნუკლეოლინი და B23 ცილა პირდაპირ არ უნდა მონაწილეობდნენ რიბოსომული გენების ტრანსკრიპციაში რისგან განსხვავებითაც NOR-ების კარიოტიპირება მიტოზის დროს ეფუძნება იმ ცილებს,

რომლებიც მიეკუთვნებიან რიბოსომული გენების ტრანსკრიპციის განმაპირობებელ ფაქტორებს (Roussel et al., 1994). აღნიშნულის სასარგებლოდ მეტყველებს ის ფაქტიც, რომ კორტიზოლით სტიმულირებულ და რეგენერირებად ჰეპატოციტებში საკმაოდ იყო გაზრდილი რ-რნმ-ის სინთეზის დონე, თუმცა ნუკლეოლონისა და B23 ცილის რაოდენობრივი ცვლილება არ დაფიქსირდა (Derenzini et al., 1995; Trere et al., 1996).

ვერცხლით ღებვადი ბირთვაკის ორგანიზატორების განაწილების შესწავლას ინტერფაზურ ბირთვებში დიდი მნიშვნელობა ენიჭება სიმსივნეების დიაგნოსტიკისა და პროგნოზირებისათვის. ერთის მხრივ ხდება მალიგნიზირებული უჯრედების გამოყვანა ნორმალური უჯრედებისაგან, ხოლო მეორეს მხრივ, რაც უფრო დიდია ინტერფაზური Ag-NOR-ების რიცხვი, მით უფრო ცუდია პროგნოზი, რადგან ინტერფაზური Ag-NOR-ების სიხშირე მკაცრად არის დამოკიდებული უჯრედთა პროლიფერაციის დონეზე (Derenzini et al., 1991; Trere et al., 2004).

2. კვლევის მასალა და მეთოდები

2.1 კვლევის ობიექტი

ციტოგენეტიკური კვლევები ტარდებოდა ღემენციის ორი სახეადასხვა ფორმით დაავადებული ინდივიდებისა და ჯანმრთელი დონორების პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტებზე. სულ გამოკვლეული იყო 26 დაავადებული ინდივიდი. მათგან 15 დაავადებული იყო ვასკულარული ღემენციით, 11 კი ალცჰაიმერის დაავადების გვიან სპორადიულ ფორმაზე სავარაუდო დიაგნოზით. საკონტროლო ჯგუფს შეადგენდნენ ორივე სქესის კლინიკურად ჯანმრთელი ორი ასაკობრივი ჯგუფის დონორები (20 ინდივიდი). პირველ ჯგუფს მიეკუთვნებოდა ახალგაზრდები ასაკით 20-30წწ. (10 ინდივიდი), მეორე ჯგუფს კი ხანდაზმული ინდივიდები ასაკით 70-80წწ. (10 ინდივიდი). გამოკვლეული დაავადებული ინდივიდიდან 16 იყო ქალი და 10 მამაკაცი, რომელთა ასაკი ვარიირებდა 64-დან 86 წლამდე.

მასალის აღება ხდებოდა მოხუცთა პანსიონატიდან “საენე”. დაავადებულებს დაუდგინდათ დიაგნოზი და გადიოდნენ მკურნალობის კურსს. დაავადების სპეციფიკიდან გამომდინარე, მკურნალობა ძირითადად მიმდინარეობდა ნოოტროპული და ფსიქოტროპული საშუალებებით, ანტიქოლინესთერაზული პრეპარატებით (მაგალითად, ტაკრინი), რომელთაც ლიტერატურაში არსებული მონაცემების თანახმად არ გააჩნიათ კლასტოგენური ეფექტი.

მოჭეკულურ-გენეტიკური კვლევები ტარდებოდა ად-ით დაავადებული ადამიანების ასტროგლიურ უჯრედულ ხაზზე T98G და APP ტრანსგენური თაგვების კორტიკალურ ნეირონებსა და მიკროგლიურ უჯრედებზე. ექსპერიმენტები ჩატარდა არკანზასის უნივერსიტეტის გერონტოლოგიის დეპარტამენტის დაბერების ცენტრთან არსებულ პროფესორ სტივ ბარგერის კვლევით ლაბორატორიაში (აშშ).

2.2 პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტების კულტივირება და ქრომოსომული პრეპარატების მიღება

ციტოგენეტიკური კვლევები ტარდებოდა პერიფერიული სისხლის მცირე ლიმფოციტებზე, რომლებიც ჩვეულებრივ პირობებში არადაყოფად უჯრედებს წარმოადგენენ და იმყოფებიან G_0 ფაზაში. ვიყენებდით მოკლევადიან, 72 საათიან ქსოვილურ კულტურებს (Moorhead et. al., 1960). მიტოგენად გამოყენებული იყო ფიტოჰემაგლუტინინი (ფჰა). ლიტერატურული მონაცემების თანახმად (Miller, 1986) ფჰა მცირე ლიმფოციტების არაფრაქციონირებულ სუსპენზიაზე მოქმედებისას იწვევს ჯერ T-ლიმფოციტების დაყოფას, 2-3 დღის შემდეგ კი ბლასტტრანსფორმაციას განიცდის B-ლიმფოციტების ნაწილი.

გამოსაკვლევ ინდივიდებში სისხლს ვიღებდით ვენოპუნქციით 5 მლ-ის ოდენობით და გადაგვქონდა სტერილურ სინჯარებში, რომლებშიც წინასწარ სისხლის შედედების თავიდან აცილების მიზნით ჩასხმული იყო ჰეპარინის სამუშაო ხსნარი (1 მლ ჰეპარინის ძირითადი ხსნარი : 19 მლ საკვები არე). ერთროციტების დასალექად სისხლს ვაყოფებდით ოთახის ტემპერატურაზე 2 სთ-ის განმავლობაში. ლიმფოციტების შემცველი პლაზმის ფენა გადაგვქონდა სტერილურ საინკუბაციო ფლაკონებში (1 მლ თითოეულში); თითოეულ ფლაკონში ვამატებდით 3 მლ საკვებ არეს (RPMI-1640L-გლუტამინისა და NaHCO_3 -ის დამატებით, Sigma) და ფიტოჰემაგლუტინინს (Sigma-P) კონცენტრაციით 0,01 მლ თითოეულ ფლაკონში. ფლაკონებს პერმეტულად ვხურავდით და ვათავსებდით თერმოსტატში 37°C -ზე. 69-ე საათზე, ფიქსაციამდე 3 სთ-ით ადრე კულტურას ვუმატებდით კოლხიცინს საბოლოო კონცენტრაციით 0,5 მკგ/მლ. მასალის ფიქსაცია ხდებოდა შემდეგნაირად: კულტურა გადაგვქონდა ცენტრიფუგის სინჯარებში და ვაცენტრიფუგებდით 1000 ბრ/წთ სიჩქარით 5 წთ-ის განმავლობაში; დალექილ უჯრედებს ვამუშავებდით ჰიპოტონური ხსნარით (სამჩანაცვლებული ნატრიუმის ციტრატის 0,95%-იანი ხსნარი) 30-35 წთ-ის განმავლობაში 37°C -ზე. განმეორებით ცენტრიფუგირების შემდეგ ნალექს ვაფიქსირებდით მეთანოლ-

ყინულოვანი ძმარმჟავას ნარევი (3:1) ფიქსატორის ორჯერადი შეცვლით 30 წთ-ის განმავლობაში. შემდეგ მცირე რაოდენობის ფიქსატორში (0,2-0,3 მლ) ვახუნდით უჯრედების რესუსპენდირებას პასტერის ჰიპოქით და ვაშხეფებით ცივ სასაგნე მინაზე; პრეპარატებს ვაშრობდით ჰაერზე ფიქსატორის გამოწვის გარეშე.

ქრომოსომების რაოდენობრივ-სტრუქტურული დარღვევების შესასწავლად პრეპარატებს ვღებავდით რუტინული მეთოდით: გიმზას ან აზურ-ეოზინის 5%-იანი ხსნარით.

ქრომოსომების რაოდენობრივ-სტრუქტურული დარღვევების შეფასება ხდებოდა ციტოგენეტიკური ნომენკლატურის საერთაშორისო სისტემის (ISCM, 1985) მიხედვით. ვანალიზებდით კარგი გაბნევის მქონე 44-47 ქრომოსომის შემცველ მეტაფაზებს. აღვრიცხავდით ერთეულ და წყვილ ფრაგმენტებს, ქრომოსომულ და ქრომატიდულ ტრანსლოკაციებს, ცენტრომერების ნაადრევ დაცილებას. გვაქვს აღვრიცხავდით ცალკე და არ ვაერთიანებდით აბერაციათა ჯგუფში.

2.3 ქრომოსომების რაოდენობრივ-სტრუქტურული დარღვევების აღრიცხვა და მიღებული შედეგების სტატისტიკური დამუშავება

ქრომოსომების სტრუქტურული და რაოდენობრივი ცვლილებების ანალიზისას, ვხელმძღვანელობდით სხვადასხვა ავტორების რეკომენდაციებით (Бактон, 1975; Захаров и др. 1982; ISCM, 1985). ვანალიზებდით კარგი გაბნევის მქონე 44-47 ქრომოსომის შემცველ მეტაფაზებს. აღვრიცხავდით ერთეულ და წყვილ ფრაგმენტებს, ქრომოსომულ და ქრომატიდულ ტრანსლოკაციებს, ცენტრომერების ნაადრევ დაცილებას. გვაქვს აღვრიცხავდით ცალკე და არ ვაერთიანებდით აბერაციათა ჯგუფში.

მასალის სტატისტიკურ დამუშავებას ვახდენდით სტიუდენტის კრიტერიუმით. ქრომოსომული აბერაციების შემცველი უჯრედების პროცენტის შეცდომას (m) ვითვლიდით ალტერნატიული განაწილების ფორმულით:

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

სადაც n-აბერანტული უჯრედების პროცენტული მაჩვენებელია;

N-გაანალიზებულ უჯრედთა რაოდენობა.

100 გამოკვლეულ უჯრედზე აბერაციების რაოდენობის შეცდომას ვითვლიდით პუასონის განაწილების ფორმულით:

$$\pm \frac{100\sqrt{n}}{N}$$

სადაც n-ალრიცხული აბერაციების რიცხვია;

N-გაანალიზებულ უჯრედთა რაოდენობა.

2.4 ლიმფოციტების ტრანსკრიპციული აქტივობის შეფასება Ag-NOR ტესტის მიხედვით

ქრომოსომული პრეპარატების ვერცხლის ნიტრატით დამუშავების მეთოდი სპეციფიკურია ბირთვაკ-მაროგანიზებული უბნებისათვის (Schwarzacher, 1983). დავერცხლილი უბნები ვლინდებიან მუქი ლაქების სახით ქრომოსომების მოყვითალო-ყავისფერ ფონზე. ამასთან, იღებება მხოლოდ ის უბნები, რომლებიც აქტიურად ფუნქციონირებდნენ წინამორბედ ინტერფაზაში, ე.ი. Ag-NOR ბენდიერების მეთოდით ხდება იმ ბირთვაკის მაროგანიზებული უბნების შეღებვა, რომლებიც

ტრანსკრიპციულად აქტიურ 18S და 28S რიბოსომულ ცისტრონებს შეიცავენ. Ag-ბენდირებისათვის ვიყენებდით ბლუმისა და გუდპასტერის მეთოდს (Bloom, Goodpasture, 1976) მცირე მოდიფიკაციით.

პრეპარატებზე ვაწვეთებდით AgNO_3 -ის 50%-იანი ხსნარის 3-3 წვეთს, ზემოდან ვაფარებდით საფარ მინებს. პრეპარატებს ვათავსებდით პეტრის ჯამში დისტილატში დასველებულ ბამბის ნაჭერთან ერთად (ტენიანი კამერის რეჟიმი), პერმეტულად ვხურავდით და 48 სთ-ის განმავლობაში ვათავსებდით თერმოსტატში 37°C -ზე.

ვერცხლით დამუშავებულ პრეპარატებს ვერცხავდით დისტილირებულ წყალში და ვლებავდით აზურ-ეოზინის საღებავით. ტრანსკრიპციულად აქტიური უბნები პრეპარატებზე მოვერცხლილი წერტილების ან მოვერცხლილი ძაფების სახით ჩანდა. ამ წერტილებში ხდება ვერცხლის ნიტრატის 50%-იანი ხსნარიდან ვერცხლის იონების აღდგენა, ბირთვაკის ორგანიზატორების შერჩევითი ღებვადობა იძლევა საშუალებას შევაფასოთ საკვლევი უჯრედის ფუნქციური აქტივობა რიბოსომული ცისტრონების აქტივობის ხარისხის მიხედვით. ბირთვაკის ორგანიზატორების აქტივობას ვაფასებდით ორი კრიტერიუმით: აკროცენტრულ ქრომოსომებს შორის ასოციაციების სიხშირის აღრიცხვით და აკროცენტრული ქრომოსომების მოვერცხლილი სეგმენტების ზომით. ზომას ვაფასებდით სამქულიანი სისტემით (Lezhava et.al., 1972; Lezhava, 1984): 1. შეუღებავი უბანი; 2. მოვერცხლილ სეგმენტის ზომა ქრომატიდის სიქეზე ნაკლებია; 3. ქრომატიდის სისქის ტოლია ან მისი ზომა აღემატება ქრომატიდის სისქეს.

ასოციაციების სიხშირის შეფასებისას აღვრიცხავდით ასოციაციების შემცველი უჯრედების რაოდენობას, ერთ უჯრედზე ასოციაციების საშუალო რიცხვს, ასოციაციებში მონაწილე ქრომოსომების რაოდენობას და “ღია” ასოციაციების სიხშირეს. ”ღიად” მივიჩნევდით ასოციაციებს, რომლებშიც მონაწილე აკროცენტრულ ქრომოსომებს ჰქონდათ თავისუფლად დარჩენილი მოვერცხლილი ბოლოები (Lezhava, 1984; 1999).

შედეგების დამუშავება ხდებოდა შემდეგი ფორმულებით:

$$P_D = \frac{m}{6n}$$

(D-ჯგუფის აკროცენტრული ქრომოსომებისათვის)

$$P_G = \frac{m}{4n}$$

(G-ჯგუფის აკროცენტრული ქრომოსომებისათვის)

სადაც m - Ag^+ -პოზიტიური სეგმენტები, ხოლო

n -აკროცენტრული ქრომოსომების რაოდენობაა.

მიღებული შედეგების შედარება ხდებოდა სტიუდენტის მეთოდით.

2.5. ქრომოსომების C-ბენდირება

ზოგიერთი ავტორი C კეტეროქრომატინს ნეიტრალურ მახასიათებლად წარმოგვიდგენს, რაზეც მიუთითებს ადამიანის პოპულაციის 1, 9 და 16 ქრომოსომაში C-სეგმენტების ნორმალური განაწილება (Podugolnikova et al., 1979; Fenech, Morley, 1985). სხვა ავტორები მიუთითებენ C-სეგმენტების კავშირზე სხვადასხვა ფენოტიპურ გამოვლინებებთან, როგორცაა რეპროდუქციული ფუნქცია, ზოგიერთი ფიზიოლოგიური და ანთროპოლოგიური მარკერებლები, პათოლოგიები.

პერიცენტრული (სტრუქტურული) კეტეროქრომატინი განსხვავდება სხვა ქრომატინისაგან დაბალი იონური ძალების მქონე ხსნარებისადმი მდგრადობით. იმ პირობებში, როდესაც ქრომატინი გადადის ფიზიკურ მდგომარეობაში, პერიცენტრული უბნები ინარჩუნებენ სიმკვრივეს და რჩებიან ასეთი სტრუქტურის სახით. აღნიშნული უბნების კონდენსირებული მდგომარეობის შენარჩუნებას ავტორები ხსნიან იმ ფაქტით, რომ ქრომოსომის C-კეტეროქრომატინულ უბნებში

ფიბრილები ერთმანეთთან დაკავშირებულია უფრო მრავალრიცხოვანი და მჭიდრო კავშირებით სხვა უბნებთან შედარებით (Стефанова, Ченцов, 1990).

მეთოდი, რომლის მეშვეობით ხდება ცენტრომერის მიმდებარე უბანში ლოკალიზებული სტრუქტურული პეტეროქრომატინის შეღებვა, C-ბენდირების სახელით არის ცნობილი. C-შეღებვისას ხდება ქრომოსომების ეუქრომატინული რაიონების შერჩევითი ექსტრაქცია, მაშინ როდესაც პეტეროქრომატინი ინარჩუნებს თავის ორგანიზაციას (Jack et.al., 1984).

ქრომოსომულ პრეპარატებს თავდაპირველად 1 საათით ვამუშავებდით 0,1 N HCl-ის ხსნარით ქრომოსომების ირგვლივ არსებული ციტოპლაზმური ნარჩენების მოცილების მიზნით (Tuck-Muller et.al., 1984). დისტილირებულ წყალში პრეპარატების გავლების შემდეგ, მათ ვათავსებდით Ba(OH)₂-ის ახალდამზადებულ ნაჯერ ხსნარში (5%) 52⁰C-ზე 1 საათის განმავლობაში. დისტილირებულ წყალში გარეცხილი პრეპარატები გადაგვქონდა 2 x SSC-ს (0,03 M 3 ჩანაცვლებული ნატრიუმის ციტრატი და 0,03 ნატრიუმის ქლორიდი თანაბარი რაოდენობით) ხსნარში 1 საათით 60⁰C-ზე. გავლების შემდეგ პრეპარატებს ვღებავდით რომანოვსკი-გიმზას 2%-იანი ხსნარით (pH=6,8) 20 წუთის განმავლობაში.

C-პეტეროქრომატინის პეტერომორფიზმს ვსაწავლობდით, ერთის მხრივ, სენილური დემენციებით დაავადებულ ინდივიდებში, მეორეს მხრივ C-ბენდირებული ქრომოსომების შედარებითი ანალიზისთვის ვიყენებდით Patil, Lubs (1972) მიერ მოწოდებულ მეთოდს. C-სემენტების ზომების შეფასების მიზნით 1-ელ, მე-9 და მე-16 ქრომოსომებს C-სემენტებს ვადარებდით მე-16 ქრომოსომის მოკლე მხარს. აღნიშნული კლასიფიკაციით გამოყოფილია 5 ვარიანტი (a, b, c, d, e), სადაც

$a \leq 0,5 \times 16p$; $0,5 \times 16p \leq b \leq 1 \times 16p$; $1 \times 16p \leq c \leq 1,5 \times 16p$; $1,5 \times 16p \leq d \leq 2 \times 16p$; $e \geq 2 \times 16p$;

X²-ს ვითვლიდით ზაქსის ფორმულით (Закс, 1976)

$$x^{2(k-1)} = (n+m) \frac{n}{m} \left\{ \sum_{i=1}^k = \frac{\binom{n}{i}}{V_i + \mu_i} - 1 \right\}$$

სადაც, V_i - განსზღვრული ვარიანტების (a, b, c ან e) რაოდენობაა კონტროლში.

μ_i - განსაზღვრული ვარიანტების (a, b, c ან e) როდენობაა დემენციის მქონე ინდივიდებში.

n - C - ბლოკების როდენობაა კონტროლში.

m - C - ბლოკების როდენობაა დემენციის მქონე ინდივიდებში.

2.6. ბირთვკამორგანიზებული უბნების (NORs) შესწავლა ინტერფაზურ ბირთვებში

ინტერფაზურ NOR-ებთან ასოცირებული ცილების რაოდენობრივი შეფასების მიზნით გამოვიყენეთ AgNOR შეღებვის მეთოდი. დაავადებულთა და ჯანმრთელი დონორების პერიფერიული სისხლიდან ვახდენდით მცირე ლიმფოციტების გამოყოფას ფიკოლის გრადიენტში სტანდარტული მეთოდით. პენქსის ხსნარში ორჯერადი გარეცხვის შემდეგ ნალექს ვასუსპენდირებდით და გადაგვქონდა სასაგნე მინებზე ნაცხის სახით. ფიქსაციას ვახდენდით 96⁰-იან ეთილის სპირტში 30 წთ-ის განმავლობაში. სპირტის აორთქლების შემდეგ მინებს ვფარავდით AgNO₃-ის 50%-იანი ხსნარისა და ეულატინ-ჭიანჭველმჟავას ნარევი ხსნარით თანაფარდობით 2:1. სიბნელეში 12 წთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ მინებს ვრეცხავდით დისტილირებულ წყალში და ვაანალიზებდით სინათლის მიკროსკოპში. ინტერფაზურ ლიმფოციტებში აღვრიცხავდით AgNOR ლაქების (dots) რაოდენობას, ზომასა და ლოკალიზაციას.

2.7 ცილათა ანალიზი ვესტერნ ბლოტინგის მეშვეობით

ვესტერნ ბლოტინგის დროს ცილათა ნიმუშები იტვირთება 5-15%-იან პოლიაკრილამიდურ გელზე. ნიმუშის 50 მიკროლიტრს ემატება 12 მიკროლიტრი ბუფერი Laemmli და ხდება ცენტრიფუგის სინჯარების ინკუბირება 100°C-ზე თერმულ ბლოკში 5წთ-ით. წინასწარ მომზადებულ გელზე ნიმუშებთან ერთად იტვირთება ცილოვანი მარკერი ანუ კიბე. დატანა ხდება სპეციალური მიკროკაპილარული წვერებით. გელ-ელექტროფორეზი მიმდინარეობს IX SDS PAGE ბუფერში 100 ვოლტზე 1 სთ-ის განმავლობაში. ელექტროფორეზის დამთავრების შემდეგ ხდება ცილათა გადატანა ნიტროცელულოზის მემბრანებზე სპეციალური ბუფერის თანხლებით (10 მლ 10X SDS PAGE ბუფერი, 200 მლ მეთანოლი და 700 მლ დისტილირებული წყალი). გადატანა მიმდინარეობს 1 საათის განმავლობაში 100 ვოლტზე. მემბრანები შრება ჰაერზე 15 წუთის განმავლობაში და ირეცხება TBS ბუფერში 5 წუთით. მემბრანის ბლოკირება ხდება BSA-ის 3%-იანი ხსნარით TTBS-ში 1 საათის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე, ინიშნება ანტი-CBT ანტისხეულებით (2 მკგ/მლ ბლოკირებად ხსნარში) მთელი ღამის განმავლობაში 4°C-ზე. მემბრანები ირეცხება 4-ჯერ TTBS-ში 10 წუთის განმავლობაში, შემდეგ ხდება მათი ინკუბაცია ბოცერის პოლიკლონურ ანტისხეულებთან ერთად (1:500 ბლოკირებად ხსნარში) 1 საათის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე, 2-ჯერ ირეცხება TTBS-ში და ერთჯერ TBS ბუფერში 5 წუთით. მემბრანების გამჟღავნება ხდება BCIP/NBT kit-ის საშუალებით.

2.8 აზოტის ნიტრიტის რაოდენობის განსაზღვრა უჯრედულ კულტურაში.

ცენტრიფუგირების შემდეგ (700g) უჯრედთა ნალექს ასუსპენდირებენ MEM-ისა და 10%-იანი FBS-ის ხსნარში შემდეგი თანაფარდობით 8×10^4 უჯრედი 1

მლ-ში. $1,6 \times 10^4$ უჯრედი (200 მიკროლიტრი) თავსდება 96 კამერიან ჭურჭელში. ისეთი უჯრედული ხაზები როგორცაა N9, HAPI და BV2 საჭიროებს 2 დღეს ფსკერის სრული დაფარვისთვის. უჯრედებს აქტივაციისთვის ემატება LPS 200 ნგ/მლ კონცენტრაციით. უჯრედებს კონტროლთან ერთად აბრუნებენ თერმოსტატში 18-24 საათის განმავლობაში. თითოეული კამერიდან 100 მიკროლიტრი არე გადააქვთ ახალ ჭურჭელში რომელშიც მოთავსებულია სტანდარტული ხსნარების ნარევი. ერთმანეთს ურევენ A და B ხსნარებს 1:1 თანაფარდობით (A ხსნარი - 1%-იანი სულფანილამიდის ხსნარი 5%-იანი ფოსფორმჟავაში; B ხსნარი - ნაფთილეთილენამიდის 0,1%-იანი ხსნარი წყალში). პოზიტიური რეაქციის შემთხვევაში ხსნარი ვარდისფრად შეფერადდება. შერევისას თავიდან უნდა ავიცილოთ ბუშტების წარმოქმნა. წაკითხვა ხდება 570 ნმ სიგრძის ტალღაზე.

2.9 დნმ-ის გამოყოფა და მეთილირება.

უჯრედული კულტურები ირეცხება 1X PBS-ში და 700გ-ზე ცენტრიფუგირების შემდეგ ნალექის განზავება ხდება 200 მიკროლიტრ 1X PBS-ში. დნმ-ის გამოყოფა მიმდინარეობს QIA amp DNA Mini kit-ის საშუალებით. დნმ-ს ელუციის შემდეგ ემატება 1 მიკროლიტრი რნმ-აზა მთელი ღამის განმავლობაში -20°C -ზე. შემდეგ ხდება დნმ-ის ექსტრაქცია ანუ გაწმენდა. მოცულობის გაზრდის შემდეგ TE ბუფერით (pH 8.0) 600 მიკროლიტრამდე დნმ-ს ემატება ფენოლ-ქლოროფორმი (pH 6.7) თანაფარდობით 1:1 და ცენტრიფუგირდება მთელი სიჩქარით (14000g) 5 წუთის განმავლობაში. სუპერნატანტი ფრთხილად გადააქვთ ახალ სინჯარაში და იგივეს იმეორებენ 3-ჯერ. შემდეგ დნმ-ს ემატება ქლოროფორმ-იზოსომილOH თანაფარდობით 1:1, ცენტრიფუგირების შემდეგ სუპერნატანტს ემატება 1/10 მოცულობის ნატრიუმის ციტრატი და 2-ჯერ მეტი მოცულობის 100%-იანი ეთანოლი. ხდება ინკუბირება -20°C -ზე ≥ 2 სთ-ით ან -80°C -ზე 40 წუთის განმავლობაში. შემდეგ ხდება ცენტრიფუგირება მთელი სიჩქარით $+4^{\circ}\text{C}$ -ზე 30 წთ. ნალექს ემატება 1 მლ ცივი 70%-იანი ეთანოლი და 5 წუთიანი ცენტრიფუგირების

შემდეგ ნალექის გაშრობა ხდება ვაკუუმიან კამერაში. ხანგრძლივი შენახვის მიზნით დნმ-ის განზავება ხდება 20 მიკროლიტრ TE ბუფერში. დნმ-ის სისუფთავეს და კონცენტრაციას ითვლიან სპექტროფოტომეტრში 260 და 280 ნმ სიგრძის ტალღაზე.

დნმ-ის გლობალური მეთილირების მიზნით სუფთა დნმ-ის (1.8-2.0) 2-4 მიკროგრამს უმატებენ შემდეგ რეაგენტებს: 32 მილიმოლური S-ადენოზილმეთიონინი (SAM), ფერმენტი Sss I (4000 U/ml, რეაქციაში 1u 1 მიკროგრამზე), 10X NE ბუფერი 2 (რეაქციაში 1X) და დისტილირებული წყალი. მთლიანი რეაქციის მოცულობაა 60 მიკროლიტრი. ნარევის ინკუბაცია ხდება 18 საათის განმავლობაში წყლის აბაზანაში 37⁰C-ზე, შემდეგ ემატება 1.5 მიკროლიტრი 20X SAM და იმავე რაოდენობის Sss I. ინკუბირება ხდება იმავე პირობებში 4 სთ-ის განმავლობაში. Sss I-ის ინაქტივირება ხდება 65⁰C-ზე 20 წთ-ის განმავლობაში თერმულ ბლოკში. დნმ-ს ექსტარქციის შემდეგ ინახავენ 20 მიკროლიტრ წყალში.

დნმ-ის დამუშავებისას ნატრიუმის ბისულფატით გამოიყენება EZ DNA Methylation kit. ელუციის შემდეგ 10 მიკროლიტრი მეთილირებული დნმ მზად არის PCR-ისთვის.

3. გამოკვლევათა შედეგები

3.1. ქრომოსომათა სტრუქტურული და რაოდენობრივი დარღვევები ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი სპორადიული ფორმითა და ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში.

3.1.1. ქრომოსომული აბერაციების სიხშირე.

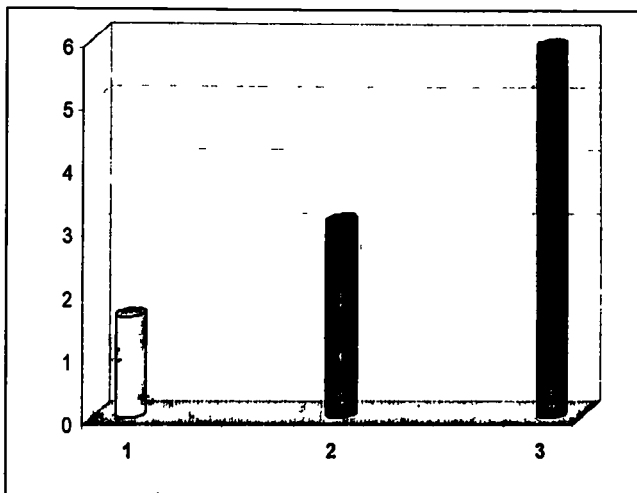
ქრომოსომათა სტრუქტურული დარღვევების განსაზღვრის მიზნით გაანალიზებულ იქნა ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი სპორადიული ფორმით დაავადებული 11 ინდივიდის 977 მეტაფაზა და ვასკულარული დემენციით დაავადებული 15 ინდივიდის 1485 მეტაფაზური უჯრედი. ანალიზის შედეგები ად-ს შემთხვევაში თითოეული ინდივიდისათვის ცალ-ცალკე მოცემულია ცხრილი 3.1.1.1.-ში, სადაც ჩანს ინდივიდთაშორისი ვარიაბელობა აბერანტული მეტაფაზებისა და ქრომოსომული აბერაციების რიცხვის მიხედვით. საკმაოდ მაღალი მაჩვენებელი აბერანტული მეტაფაზების რაოდენობის მხრივ დაფიქსირდა ერთი ინდივიდის შემთხვევაში $-17,5 \pm 4,18\%$, ხოლო მინიმალური მაჩვენებელი კი სამი ინდივიდისათვის შეადგენდა შესაბამისად $4,0 \pm 1,95\%$ -ს. ქრომოსომული აბერაციების შემცველ უჯრედთა საშუალო სიხშირე ად-ით დაავადებულთა ჯგუფში $(6,9 \pm 2,63\%)$ სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ განსხვავდებოდა პირველი საკონტროლო ჯგუფის ანუ ხანდაზმულ ინდივიდთა შესაბამისი მაჩვენებლისაგან $(3,1 \pm 0,55\%)$ და აღემატებოდა საკონტროლოდ აღებულ ახალგაზრდა ინდივიდთა მაჩვენებელს $(1,6 \pm 0,4\%)$, რაც კარგად ჩანს სურათი 3.1.1.1.-ზე.

ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდთა ანალიზის შედეგები მოცემულია ცხრილი 3.1.1.2.-ში. უნდა აღინიშნოს, რომ აბერანტული მეტაფაზების შემცველ უჯრედთა სიხშირე ცალკეულ ინდივიდთა შორის ვარირებდა $7,0 \pm 2,55\%$ - $11,0 \pm 3,12\%$ -ის ფარგალში. ად-ის ჯგუფისაგან განსხვავებით ქრომოსომული

ქრონოსობათა სტრუქტურული დარღვევების სიხშირე ალცჰაიმერიით დაავადებულ ინდივიდებში.

ცხრილი 3.1.11.

ინდივიდი №	ასაკი	სქესი	განალიზებული მეთაფაზების რაოდენობა	აგერანტული მეთაფაზების რაოდენობა %±m	ა ბ ე რ ა ც ი ბ ი		მეტაფაზები		გ ე კ ე ბ ი	
					სულ	%	მეტაფაზები	%±m	სულ	ერთ უჯრედზე
1	64	♂	75	4,0±1,95	3,0	4,0±1,95	2,6±1,86	2,0	0,02	
2	72	♂	100	7,0±2,55	7,0	7,0±2,55	6,0±2,37	6,0	0,06	
3	78	♀	100	4,0±1,95	4,0	4,0±1,95	5,0±2,28	5,0	0,05	
4	72	♂	63	17,5±4,18	12,0	19,0±4,36	6,4±2,45	4,0	0,04	
5	70	♂	68	5,8±2,37	4,0	5,8±2,37	4,4±2,05	3,0	0,03	
6	79	♀	100	8,0±2,71	8,0	8,0±2,71	6,0±2,37	6,0	0,06	
7	83	♂	100	8,0±2,71	8,0	8,0±2,71	5,0±2,18	5,0	0,05	
8	84	♀	84	7,2±2,55	6,0	7,2±2,55	4,7±2,12	4,0	0,04	
9	84	♀	87	5,7±2,39	5,0	5,7±2,39	5,7±2,32	5,0	0,05	
10	79	♀	100	5,0±2,18	5,0	5,0±2,18	2,0±1,4	2,0	0,02	
11	76	♀	100	4,0±1,95	4,0	4,0±1,95	7,0±2,55	7,0	0,07	
სულ	64-84		977	6,9±2,63	-	7,1±2,66	5,0±2,18	-	-	
კონტროლი (ხანდაზმულები)	70-90		1000	3,1±0,55	-	3,1±0,55	4,8±2,14	-	-	
კონტროლი (ახალგაზრდები)	20-35		1000	1,6±0,4	-	1,6±0,4	3,01±0,56	-	-	



სურათი 3.1.1.1. აბერანტული მეტაფაზების სისშირე ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი სპორადიული ფორმით დაავადებულ ინდივიდებში.
 1-კონტროლი (ასალგაზრდები); 2-კონტროლი (ხანდაზმულები) და
 3-ად-ით დაავადებული ინდივიდები.

ქრონოლოგიის სტრუქტურული დარღვევების სიხშირე ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში.

ცხრილი 3.1.1.2.

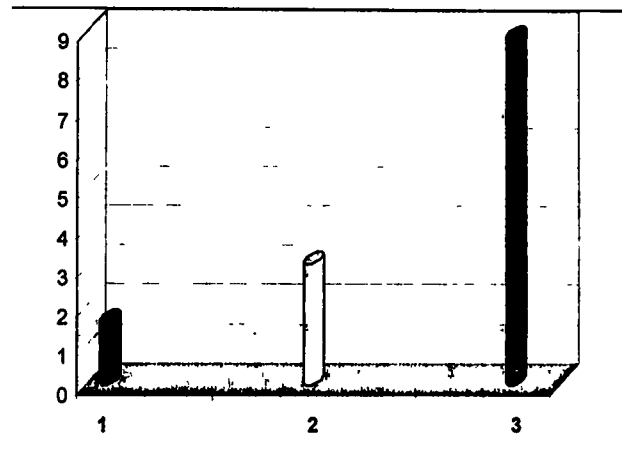
ინდივიდი №	ასაკი	სქესი	განალიზებული მეტაფაზების რაოდენობა	აბერანტული მეტაფაზების რაოდენობა %±m	ა ბ ე რ ა ც ი ბ ი		მეტაფაზები გეგმითი %±m	ბ ე ბ ე ბ ი	
					სულ	%		სულ	ერთი უჯრედზე
1	85	♀	100	10,0±3,0	10,0	10,0±3,0	2,0±1,4	2,0	0,02
2	77	♀	100	10,0±3,0	10,0	10,0±3,0	3,0±1,7	3,0	0,03
3	76	♀	100	11,0±3,12	11,0	11,0±3,12	3,0±1,7	3,0	0,03
4	79	♂	100	11,0±3,12	11,0	11,0±3,12	5,0±2,18	5,0	0,05
5	73	♀	100	8,0±2,71	9,0	9,0±2,86	2,0±1,4	2,0	0,02
6	86	♀	100	10,0±3,0	10,0	10,0±3,0	6,0±2,37	6,0	0,06
7	78	♀	100	10,0±3,0	10,0	10,0±3,0	5,0±2,18	5,0	0,05
8	79	♀	100	7,0±2,55	8,0	8,0±2,71	3,0±1,7	3,0	0,03
9	73	♂	100	9,0±2,86	9,0	9,0±2,86	2,0±1,4	2,0	0,02
10	86	♂	100	9,0±2,86	9,0	9,0±2,86	5,0±2,18	5,0	0,05
11	75	♂	85	8,2±2,87	7,0	8,2±2,87	3,5±1,84	3,0	0,03
12	79	♀	100	9,0±2,86	9,0	9,0±2,86	5,0±2,18	5,0	0,05
13	79	♀	100	7,0±2,55	7,0	7,0±2,55	3,0±1,7	3,0	0,03
14	79	♀	100	9,0±2,86	9,0	9,0±2,86	5,0±2,18	5,0	0,05
15	84	♂	100	7,0±2,55	7,0	7,0±2,55	6,0±2,37	6,0	0,06
საშუალო	73-86		1485	8,9±2,85	-	9,2±3,03	3,9±1,94	-	-
კონტროლი (ხანდაზმულები)	70-90		1000	3,1±0,55	-	3,1±0,55	4,8±2,14	-	-
კონტროლი (ახალგაზრდები)	20-35		1000	1,6±0,4	-	1,6±0,4	3,01±0,56	-	-

აბერაციების შემცველ უჯრედთა საშუალო სიხშირე ვასკულარული დემენციით დაავადებული ინდივიდების შემთხვევაში ($8,9 \pm 2,85\%$) სტატისტიკურად მნიშვნელოვნად აღემატებოდა ორივე საკონტროლო ჯგუფის შესაბამის მაჩვენებლებს ($3,1 \pm 0,55\%$ და $1,6 \pm 0,4\%$ შესაბამისად), რის თვალსაჩინო ილუსტრაციასაც წარმოადგენს სურათი 3.1.1.2.

სენილური დემენციის ორივე ფორმით დაავადებულ ინდივიდებში ქრომოსომული დარღვევებიდან ჭარბობდა ერთეული და წყვილი ფრაგმენტები. ერთეული ფრაგმენტების სიხშირემ ად-ს გვიანი სპორადიული ფორმით დაავადებულ პაციენტებში საშუალოდ შეადგინა $5,4 \pm 2,3\%$, ხოლო საკონტროლო მაჩვენებლები შესაბამისად იყო $1,5 \pm 0,38\%$ და $1,1 \pm 0,32\%$ (ცხრილი 3.1.1.3.). წყვილი ფრაგმენტების სიხშირე თითოეული ინდივიდისათვის ცალ-ცალკე ვარირებდა $1,0 \pm 0,9\%$ -დან $5,9 \pm 2,36\%$ -მდე, საშუალოდ შეადგენდა $1,8 \pm 1,3\%$ -ს, ხოლო კონტროლში იყო $1,0 \pm 0,33\%$ და $0,3 \pm 0,17\%$ შესაბამისად. ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში ერთეული ფრაგმენტების სიხშირემ შეადგინა $5,6 \pm 2,3\%$ რაც მნიშვნელოვნად აღემატება ორივე საკონტროლო ჯგუფის შესაბამის მაჩვენებლებს $1,5 \pm 0,38\%$ და $1,1 \pm 0,52\%$ (ცხრილი 3.1.1.4.). ყველა დაავადებულ ინდივიდში ჭარბობდა წყვილი ფრაგმენტები. მათი სიხშირე დაახლოებით იყო $2,77 \pm 1,6\%$, ხოლო საკონტროლო მაჩვენებლები კი $1,0 \pm 0,33\%$ და $0,3 \pm 0,17\%$ შესაბამისად.

სხვა ტიპის დარღვევებიდან ჩვენს მიერ გამოვლენილი იქნა ქრომატიდული და ქრომოსომული ტრანსფოკაციები, ასევე ცენტრომერების ნაადრევი დაცილება. ქრომოსომული აბერაციების ტიპები და სიხშირე დემენციის აღნიშნული ორი ფორმით დაავადებული ინდივიდებისათვის ნათლად ჩანს სურათი 3.1.1.3. და სურათი 3.1.1.4.-ზე.

ყურადღებას იპყრობს ის ფაქტი, რომ ჩვენ ცალკე აღვრიცხავდით გეპების (აქრომატული ნაპრალის) შემცველ მეტაფაზებს. მკვლევართა უძრაველესობა მათ არ მიაკუთვნებს ჭეშმარიტ ქრომოსომულ აბერაციებს და ცალკე ჯგუფად გამოყოფს,



სურათი 3.1.1.2. აბერანტული მეტაფაზების სიხშირე ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში.

1-კონტროლი (ასალგაზრდები); 2-კონტროლი (ხანდაზმულები) და 3-ვასკულარული დემენციით დაავადებული ინდივიდები.

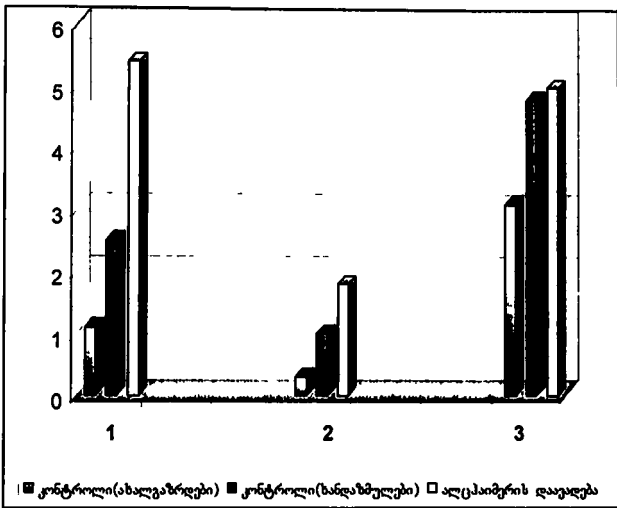
ცხრილი 3.11.3.

ინდივიდი №	ასაკი	განალიზებული მეტუაზების რაოდენობა	ქრონოსომის სტრუქტურული დარღვევები				ცენტრომერების ნაადრევი დაცილება
			სულ	ერთეული ფრაგმენტი %	წყვილი ფრაგმენტი %	ტრანსლოკაცია %	
1	64	75	3	4,0±1,96	-	-	-
2	72	100	7	6,0±2,37	1,0±0,9	-	-
3	78	100	4	4,0±1,96	-	-	-
4	72	63-	11	14,3±3,5	1,6±1,25	-	3,2±1,7
5	70	68	4	5,9±2,36	5,9±2,36	-	-
6	79	100	8	5,0±2,34	3,0±1,7	-	1,0±0,9
7	83	100	8	6,0±2,37	2,0±1,4	-	-
8	84	84	6	5,9±2,36	1,2±1,08	-	-
9	84	87	5	1,1±1,04	3,4±1,8	1,1±1,04	3,4±1,8
10	79	100	5	5,0±2,34	-	-	1,0±0,9
11	76	100	4	2,0±1,4	2,0±1,4	-	-
საშუალო	64-84	977	-	5,4±2,3	1,8±1,3	0,1±0,32	0,78±0,8
კონტროლი (ზანდაზმულები)	70-90	1000	-	1,5±0,38	1,0±0,33	-	0,4±0,17
კონტროლი (აბაღვანრები)	20-35	1000	-	1,1±0,32	0,3±0,17	-	0,2±0,14

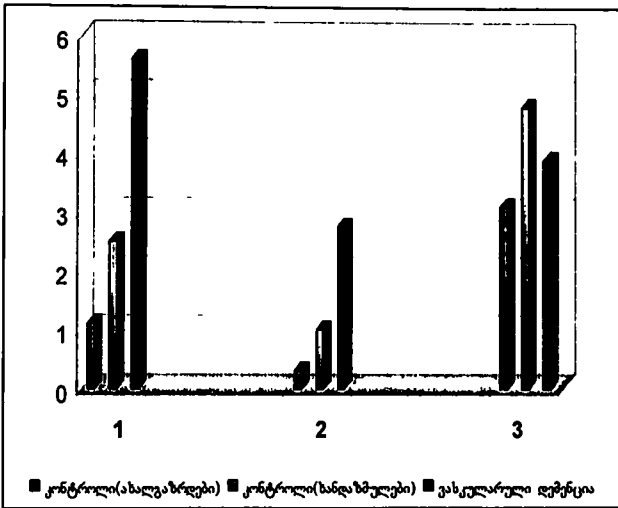
ქრომოსომა სტრუქტურული დარღვევების სპექტრი ვაკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში.

ცხრილი 3.1.1.4.

ინდივიდი №	ასაკი	განალიზებული მეტაფაზების რაოდენობა	ქრომოსომა სტრუქტურული დარღვევები				ცენტრომერების ნაარვენი დაცობა
			სულ	ქრომული ფრაგმენტი/%	წველი ფრაგმენტი/%	ტრანსლოკაცია %	
1	85	100	10	9,0±3,0	1,0±0,9	-	-
2	77	100	10	8,0±2,71	2,0±1,4	-	-
3	76	-100	11	11,0±3,12	-	-	-
4	79	100	11	8,0±2,71	3,0±1,7	-	2,0±1,4
5	73	100	8	7,0±2,55	1,0±0,9	-	-
6	86	100	10	5,0±2,34	5,0±2,34	-	1,0±0,9
7	78	100	10	5,0±2,34	3,0±1,7	2,0±1,4	2,0±1,4
8	79	100	7	5,0±2,34	2,0±1,4	-	1,0±0,9
9	73	100	9	5,0±2,34	2,0±1,4	2,0±1,4	1,0±0,9
10	86	100	9	5,0±2,34	3,0±1,7	1,0±0,9	1,0±0,9
11	75	85	7	3,5±1,84	3,5±1,84	1,2±1,08	-
12	79	100	9	3,0±1,7	5,0±2,34	1,0±0,9	-
13	79	100	7	3,0±1,7	4,0±1,96	-	-
14	79	100	9	4,0±1,96	3,0±1,7	2,0±1,4	-
15	84	100	7	3,0±1,7	4,0±1,96	-	1,0±0,9
საშუალო	73-86	1485	-	5,6±2,3	2,77±1,6	0,6±0,77	0,6±0,8
კონტროლი ხანდაზმულები	70-90	1000	-	1,5±0,38	1,0±0,33	-	0,4±0,17
კონტროლი ახალგაზრდები	20-35	1000	-	1,1±0,32	0,3±0,17	-	0,2±0,14



სურათი 3.1.1.3. ქრომოსომათა სტრუქტურული დარღვევების სიხშირე ლცპაიმერის დაავადების გვიანი სპორადიული ფორმით დაავადებულ ინდივიდებში. 1-ერთეული ფრაგმენტები; 2-წყვილი ფრაგმენტები; 3-მეტაფაზები გეპებით.



სურათი 3.1.1.4. ქრომოსომათა სტრუქტურული დარღვევების სიხშირე ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში.

1-ერთეული ფრაგმენტები; 2-წყვილი ფრაგმენტები; 3-მეტაფაზები გეპებით.

ვინაიდან ისინი არ წარმოქმნიან აცენტრულ ფრაგმენტებს (Бактон, Эванс, 1975). სხვადასხვა ნივთიერებების მუტაგენური ეფექტის შესწავლის დროს, აგრეთვე რიგი პათოლოგიების შემთხვევაში აღინიშნება მათი რაოდენობის მნიშვნელოვანი ცვლილება.

გაბების შემცველი უჯრედების პროცენტული მაჩვენებელი ად-ს შემთხვევაში შეადგენდა $5,0 \pm 2,18\%$ -ს და $3,9 \pm 1,94\%$ -ს ვასკულარული დემენციის დროს (ცხრილი 3.1.1.1. და ცხრილი 3.1.1.2.), რაც მნიშვნელოვნად არ განსხვავდებოდა ჯანმრთელ ინდივიდთა შესაბამისი მაჩვენებლებისგან ($4,8 \pm 2,14\%$ და $3,01 \pm 0,56\%$ შესაბამისად).

3.1.2. ანეუპლოიდია და პოლიპლოიდია.

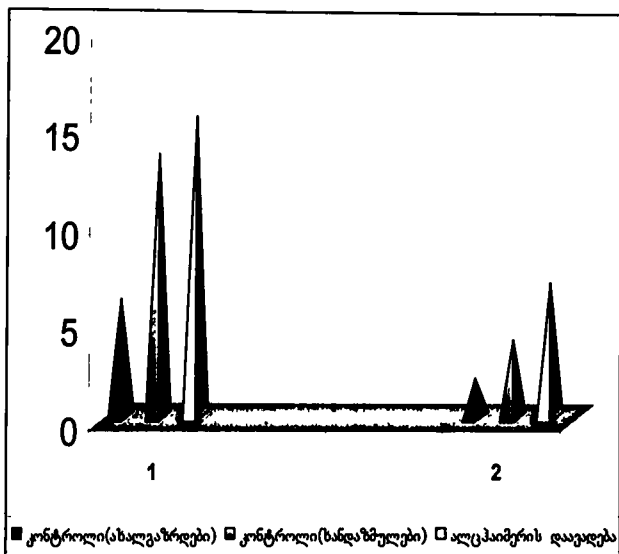
ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი სპორადიული ფორმით დაავადებულ ინდივიდთა ქრომოსომების რაოდენობრივი დარღვევების ანალიზის შედეგები მოცემულია ცხრილი 3.1.2.1.-ში და სურათი 3.1.2.1.-ზე. ჩვენს შემთხვევაში ანეუპლოიდურ უჯრედთა საშუალო პროცენტული მაჩვენებელი ($15,4 \pm 3,6\%$) მნიშვნელოვნად არ განსხვავდებოდა იმავე ასაკის საკონტროლო ინდივიდთა შესაბამისი მაჩვენებლისგან ($13,5 \pm 1,08\%$) და აღემატებოდა ახალგაზრდა ჯანმრთელი დონორების მაჩვენებელს ($6,0 \pm 0,75\%$). რაც შეეხება ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებს, ანეუპლოიდურ უჯრედთა სიხშირემ საშუალოდ შეადგინა $17,9 \pm 3,8\%$, რაც უმნიშვნელოდ აღემატება ხანდაზმულ ინდივიდთა საკონტროლო ჯგუფის შესაბამის მაჩვენებელს და სტატისტიკურად სარწმუნოდ აღემატება ახალგაზრდებისას ($13,5 \pm 1,08\%$ და $6,0 \pm 0,75\%$ შესაბამისად). აღნიშნული შედეგები მოცემულია ცხრილი 3.1.2.2.-ში და სურათი 3.1.2.2.-ზე.

უნდა აღინიშნოს, რომ ად-ს შემთხვევაში პოლიპლოიდურ უჯრედთა საშუალო სიხშირე ($0,07 \pm 0,03\%$) უმნიშვნელოდ აღემატება საკონტროლო ინდივიდთა მაჩვენებლებს ($0,04 \pm 0,02\%$ და $0,02 \pm 0,01\%$ შესაბამისად), მაშინ როცა

ქრომოსომათა რაოდენობრივი დარღვევების სიხშირე ალცჰაიმერის
დაავადების შემთხვევაში.

ცხრილი 3.1.2.1.

ინდივიდი №	განალიზებულ მეტაფაზათა რაოდენობა	ანეუპლოიდური უჯრედები		პოლიპლოიდური უჯრედები	
		რიცხვი	%	რიცხვი	%
1	75	12	16,0±3,6	2	2,6±1,59
2	100	17	17,0±3,75	1	1,0±0,9
3	100	14	14,0±3,47	-	-
4	63	13	20,6±4,04	1	1,0±0,9
5	68	9	13,2±3,38	-	-
6	100	13	13,0±3,36	-	-
7	100	16	16,0±3,6	-	-
8	84	15	17,8±3,8	-	-
9	87	8	9,2±2,9	1	1,0±0,9
10	100	16	16,0±3,6	1	1,0±0,9
11	100	16	16,0±3,6	1	1,0±0,9
საშუალო	977	13,5	15,4±3,6	0,6	0,07±0,03
კონტროლი (ხანდაზმულები)	1000		13,5±1,08		0,04±0,02
კონტროლი (ასალგაზრდები)	1000		6,0±0,75		0,02±0,01



სურათი 3.1.2.1. ქრომოსომათა რაოდენობრივი დარღვევების სიხშირე
 ალცპაიმერის
 დაავადების დროს.

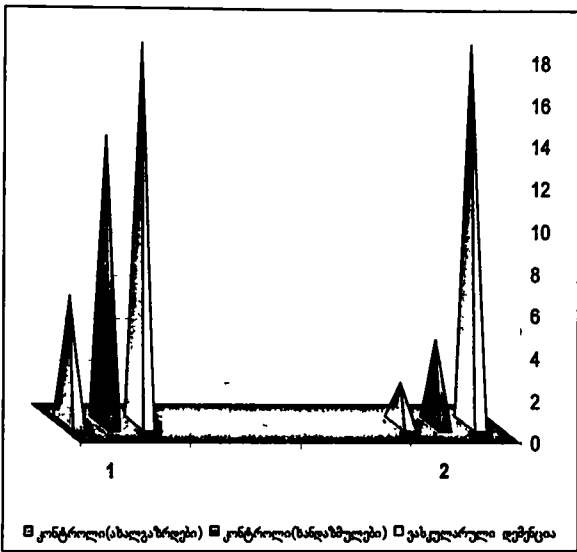
1-ანეუპლოიდური უჯრედები; 2-პოლიპლოიდური უჯრედები.

ქრონოსომათა რაოდენობრივი დარღვევების სიხშირე ვასკულარული

დემენციის შემთხვევაში.

ცხრილი 3.1.2.2.

ინდივიდი №	განალიზებულ მეტაფაზათა რაოდენობა	ანეუპლოიდური უჯრედები		პოლიპლოიდური უჯრედები	
		რიცხვი	%	რიცხვი	%
1	100	17	17,0±3,75	-	-
2	100	20	20,0±4,0	1	1,0±0,9
3	100	21	21,0±4,07	-	-
4	100	14	14,0±3,47	-	-
5	100	15	15,0±3,57	-	-
6	100	19	19,0±3,92	-	-
7	100	16	16,0±3,6	-	-
8	100	20	20,0±4,0	3	3,0±1,7
9	100	19	19,0±3,92	-	-
10	100	18	18,0±3,84	1	1,0±0,9
11	85	7	8,2±2,74	5	5,0±2,18
12	100	16	16,0±3,6	-	-
13	100	17	17,0±3,75	-	-
14	100	19	19,0±3,92	5	5,0±2,18
15	100	17	17,0±3,75	3	3,0±1,7
საშუალო	1485	-	17,9±3,8	-	0,18±0,09
კონტროლი (ხანდაზმულები)	1000	-	13,5±1,08	-	0,04±0,02
კონტროლი (ასალგაზრდები)	1000	-	6,0±0,75	-	0,02±0,01



სურათი 3.1.2.2. ქრომოსომათა რაოდენობრივი დარღვევების სიხშირე

კასკულარული დემენციის დროს.

1-ანეუპლოიდური უჯრედები; 2-პოლიპლოიდური უჯრედები.

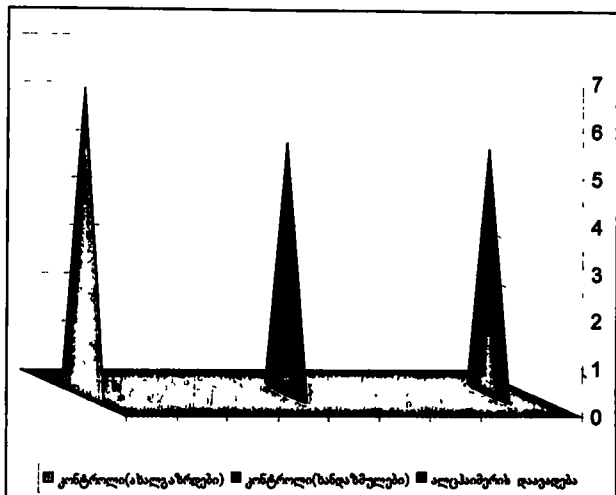
($1,61 \pm 0,18$; $p > 0,05$) და ჩამორჩება ახალგაზრდებისას ($3,81 \pm 0,28$; $p > 0,05$). აღნიშნული ექსპერიმენტის შედეგები მოცემულია სურათი 3.2.1.1.-ზე.

მსგავსი მონაცემები იქნა მიღებული Ag-პოზიტიური ქრომოსომების რიცხვის მხრივ ვასკულარული დემენციით დაავადებული ინდივიდების შემთხვევაშიც (ცხრილი 3.2.1.2.). კერძოდ, საშუალო სიხშირემ ერთ უჯრედზე მთელი ჯგუფისათვის შეადგინა $5,3 \pm 0,33$; $p < 0,01$ ხოლო კონტროლში $5,23 \pm 0,32$; $p < 0,05$ და $6,35 \pm 0,1$; $p < 0,001$ შესაბამისად. რაც შეეხება 2-ქულიან Ag-პოზიტიურ ქრომოსომებს, მათი გამოვლენის სიხშირე დაქვეითებული იყო 7 ინდივიდის შემთხვევაში (№№ 1, 3, 4, 6, 7, 9 და 12), ხოლო საშუალო მაჩვენებელი ($1,02 \pm 0,14$; $p > 0,05$) ჩამორჩებოდა ორივე საკონტროლო ჯგუფის შესაბამის მაჩვენებლებს ($1,61 \pm 0,18$; $p > 0,05$ და $3,81 \pm 0,28$; $p > 0,05$ შესაბამისად), რის გრაფიკულ გამოხატულებას წარმოადგენს სურათი 3.2.1.2.

3.2.2. აკროცენტრული ქრომოსომების ასოციაციების სიხშირე და ტიპები.

თანამგზავრული ასოციაციების სიხშირის შესახებ მონაცემები ად-ს გვიანი სპორადიული ფორმით დაავადებული ინდივიდებისათვის მოცემულია ცხრილი 3.2.2.1.-ში. როგორც ცხრილიდან ჩანს ასოციაციების შემცველი მეტაფაზების სიხშირე საკმაოდ დაქვეითებული აღმოჩნდა 2 ინდივიდის შემთხვევაში ($34,0 \pm 4,7\%$), ხოლო დანარჩენ ინდივიდებში მაჩვენებელი უახლოვდებოდა საკონტროლოს. საშუალო სიხშირე კი მთელი ად-ს ჯგუფისათვის ($42,1 \pm 4,9\%$) არ განსხვავდებოდა პირველი საკონტროლო ჯგუფის (ხანდაზმული ინდივიდები) შესაბამისი სიდიდისგან ($42,2 \pm 2,4\%$), ხოლო დაქვეითებული იყო ახალგაზრდა ჯანმრთელ დონორებთან მიმართებაში ($51,56 \pm 2,36\%$).

ასოციაციების DD/DG/GG ტიპებიდან მნიშვნელოვნად იყო გაზრდილი DD და GG ტიპის ასოციაციები ხანდაზმული ინდივიდებისგან შემდგარ საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (DD - $18,2 \pm 3,8\%$; GG - $14,5 \pm 3,5\%$, კონტროლში კი DD -



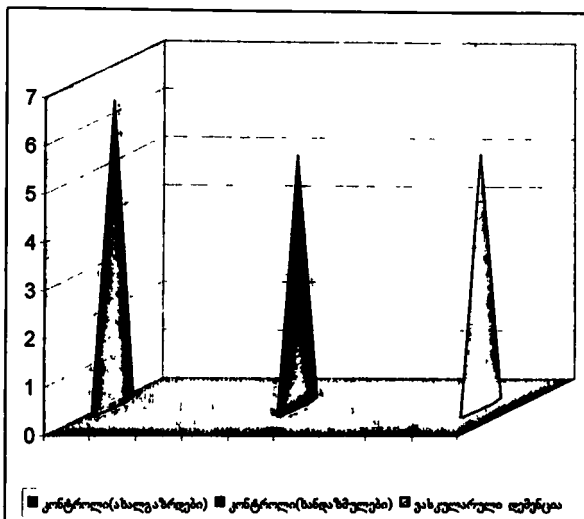
სურათი 3.2.1.1. Ag-პოზიტიური ბირთვაკმაორგანიზებელი უბნების სიხშირე ალცპაიმერის დაავადების დროს.

აგ-პოზიტიური ბარიუკის ორგანიზატორების სისხრე და მათი განაწილება ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში.

ცხრილი 3.2.1.2.

სერიული №	აგ-პოზიტიური ქრომოსომების რიცხვი 1 უჯრედზე		$\frac{P_D - P_C}{\sqrt{\frac{P_D(1-P_D)}{6n} + \frac{P_C(1-P_C)}{4n}}}$		P	2 ქულიანი აგ-პოზიტიური ქრომოსომ. რიცხვი 1 უჯრედზე			$\frac{P_{D2} - P_{C2}}{\sqrt{\frac{P_{D2}(1-P_{D2})}{6n} + \frac{P_{C2}(1-P_{C2})}{4n}}}$	P
	D + G	D	G	D		D	G			
1	5,04±0,32	2,86±0,24	2,18±0,21	1,08	>0,05	0,46±0,09	0,34±0,08	0,12±0,05	1,45	>0,0
2	5,74±0,34	2,92±0,24	2,82±0,24	2,92	<0,05	1,36±0,16	0,94±0,14	0,42±0,09	1,87	<0,0
3	5,92±0,34	2,66±0,23	3,26±0,26	4,58	<0,001	0,88±0,13	0,46±0,09	0,42±0,09	1,1	>0,0
4	5,78±0,34	2,58±0,23	3,2±0,25	4,67	<0,001	0,94±0,14	0,52±0,1	0,42±0,09	0,64	>0,0
5	5,74±0,34	2,82±0,24	2,92±0,24	4,0	<0,001	1,06±0,15	0,54±0,1	0,52±0,1	1,29	>0,0
6	5,18±0,33	2,44±0,22	2,74±0,23	3,9	<0,001	0,86±0,13	0,44±0,09	0,42±0,09	1,17	>0,0
7	4,68±0,31	2,54±0,23	2,14±0,21	2,2	<0,05	0,98±0,14	0,56±0,11	0,42±0,09	0,43	>0,0
8	5,14±0,32	2,52±0,23	2,62±0,23	3,7	<0,001	1,16±0,15	0,64±0,11	0,52±0,1	0,69	>0,0
9	5,08±0,32	2,58±0,23	2,5±0,22	1,54	>0,05	0,66±0,11	0,38±0,09	0,28±0,07	1,43	>0,0
10	5,3±0,33	2,78±0,24	2,52±0,22	2,46	<0,05	1,36±0,16	0,78±0,12	0,58±0,11	0,5	>0,0
11	5,16±0,32	2,38±0,22	2,78±0,24	4,07	<0,001	1,1±0,15	0,7±0,12	0,4±0,09	0,58	>0,0
12	5,28±0,32	2,66±0,23	2,62±0,23	3,54	<0,001	0,86±0,13	0,48±0,09	0,38±0,09	0,57	>0,0
13	4,62±0,3	2,28±0,21	2,34±0,22	3,7	<0,001	1,02±0,14	0,58±0,11	0,44±0,09	0,48	>0,0
14	5,0±0,32	2,36±0,22	2,64±0,23	3,92	<0,001	1,2±0,15	0,7±0,12	0,5±0,1	0,28	>0,0
15	5,2±0,32	2,44±0,22	2,76±0,23	4,0	<0,001	1,36±0,16	0,8±0,13	0,56±0,11	0,21	>0,0
საშუალო	5,3±0,33	2,56±0,23	2,67±0,23	3,35	<0,01	1,02±0,14	0,59±0,12	0,43±0,09	0,85	>0,0
კონტროლი (ხანდაზმ.)	5,23±0,32	2,98±0,24	2,25±0,21	2,91	<0,05	1,61±0,18	1,36±0,16	0,25±0,1	0,26	>0,0
კონტროლი (ახალგაზ.)	6,35±0,1	4,04±0,28	2,32±0,22	5,131	<0,001	3,81±0,28	2,55±0,22	1,26±0,16	0,71	>0,0

* ადინომული პირებისთვის მისაღება ალტერნატიული დამუშავება $P_D > P_D$



სურათი 3.2.1.2. Ag-პოზიტიური ბირთვაცემორგანიზებელი უბნების სიხშირე ვასკულარული დემენციის დროს.

აქროცენტრულ ქრომოსომათა თანამგზავრული ასოციაციების რაოდენობრივი მაჩვენებლები ალცჰაიმერით დაავადებულ ინდივიდებში.

ინდივიდი №	მეტაფაზები ასოციაციებით %±m	ასოციაციათა ტიპები						ასოცირებული ქრომოსომები		D ჯგუფის ქრომოსომები		G ჯგუფის ქრომოსომები	
		D/D		D/G		G/G		სულ	1 ასოციაციაზე	რიცხვი	%	რიცხვი	%
		რიცხვი	%	რიცხვი	%	რიცხვი	%						
1	40,0±4,9	7	14,0±3,5	21	42,0±4,9	9	18,0±3,8	42	2,1±0,2	24	48,0±4,9	18	36,0±4,8
2	39,4±4,9	12	36,3±4,8	9	27,3±4,5	4	13,3±3,4	41	2,1±0,2	25	50,0±5,0	16	32,0±4,7
3	34,0±4,7	6	12,0±3,2	19	38,0±4,8	9	18,0±3,8	43	2,0±0,2	18	36,0±4,8	25	50,0±5,0
4	42,0±4,9	5	10,0±3,0	25	50,0±5,0	8	16,0±3,7	47	2,1±0,2	23	46,0±4,9	24	48,0±4,9
5	54,0±4,9	13	26,0±4,4	36	72,0±4,9	9	18,0±3,8	62	2,0±0,2	36	72,0±4,5	26	52,0±4,9
6	34,0±4,7	7	14,0±3,5	21	42,0±4,9	8	16,0±3,7	39	1,95±0,2	20	40,0±4,9	19	38,0±4,8
7	40,0±4,9	8	16,0±3,7	20	40,0±4,9	7	14,0±3,5	41	2,05±0,2	21	42,0±4,9	20	40,0±4,9
8	38,0±4,8	13	26,0±4,4	15	30,0±4,6	7	14,0±3,5	38	2,0±0,2	22	44,0±4,9	16	32,0±4,7
9	44,0±4,9	10	20,0±4,0	27	54,0±4,9	5	10,0±3,0	48	2,1±0,2	27	54,0±4,9	21	42,0±4,9
10	56,0±4,9	10	20,0±4,0	34	68,0±4,7	6	12,0±3,2	58	1,9±0,2	32	64,0±4,8	26	52,0±4,9
11	42,0±4,9	3	6,0±2,4	31	62,0±4,8	5	10,0±3,0	45	2,14±0,2	23	46,0±4,9	22	44,0±4,0
საშუალო	42,1±4,9	8,5	18,2±3,8	22,9	47,7±4,9	7	14,5±3,5	45,8	2,04±0,2	24,6	49,3±4,9	21,2	42,4±4,9
კონტროლი (ხანდაზმ.)	42,2±2,4		13,5±3,4		43,5±4,9		9,0±2,86		2,3±0,2		47,5±4,9		33,5±4,7
კონტროლი (ახალგაზ.)	51,56±2,36		16,5±3,7		48,0±4,9		11,0±2,92		2,24±0,21		52,3±4,9		29,3±4,5

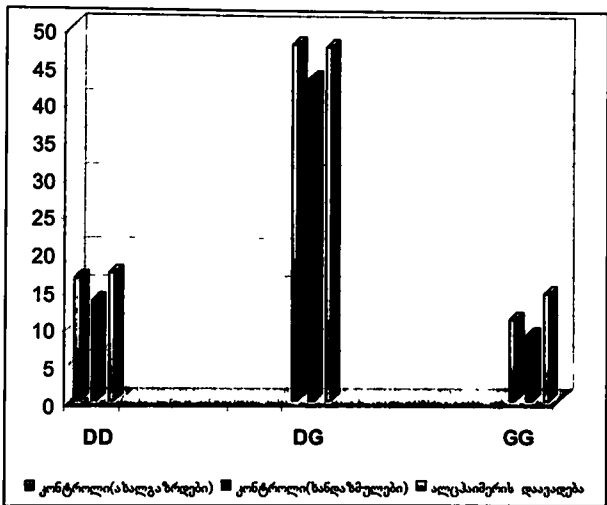
13,5±3,4%; GG - 9,0±2,86%). GG ტიპის ასოციაციების სიხშირე ასევე გაზრდილი იყო ახალგაზრდა ჯანმრთელ დონორთა შესაბამის მაჩვენებელთან მიმართებაში (14,5±3,5% და 11,0±2,92% შესაბამისად). მონაცემები აკროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაციების ტიპების შესახებ ად-ს ჯგუფის ინდივიდთათვის მოცემულია სურათი 3.2.2.1.-ზე.

მსგავსი შედეგი იქნა მიღებული თანამგზავრული ასოციაციების სიხშირის ანალიზისას ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში (ცხრილი 3.2.2.2.). საკმაოდ დაქვეითებული მაჩვენებელი აღირიცხა 4 ინდივიდის შემთხვევაში (32,0±4,7%-დან 36,0±4,8%-მდე), თუმცა საშუალო სიდიდემ მთელი ჯგუფისათვის შეადგინა 42,4±4,9%, რაც არ განსხვავდება ჯანმრთელ ხანდაზმულ ინდივიდთა შესაბამისი მაჩვენებლისაგან (42,2±2,4%) და ჩამორჩება ახალგაზრდებისას (51,56±2,36%). რაც შეეხება ასოციაციების ტიპებს, უნდა აღინიშნოს, რომ ად-ს ჯგუფისაგან განსხვავებით ამ შემთხვევაში გამოვლინდა შერეული (DG) ტიპის ასოციაციების სიხშირის მკვეთრი მომატება ორივე საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით - 53,7±4,9%, კონტროლში კი 43,5±4,9% და 48,0±4,9% შესაბამისად (სურათი 3.2.2.2.).

3.3. C-სტრუქტურული პეტეროქრომატინის პოლიმორფიზმი ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი სპორადიული ფორმითა და ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში.

|

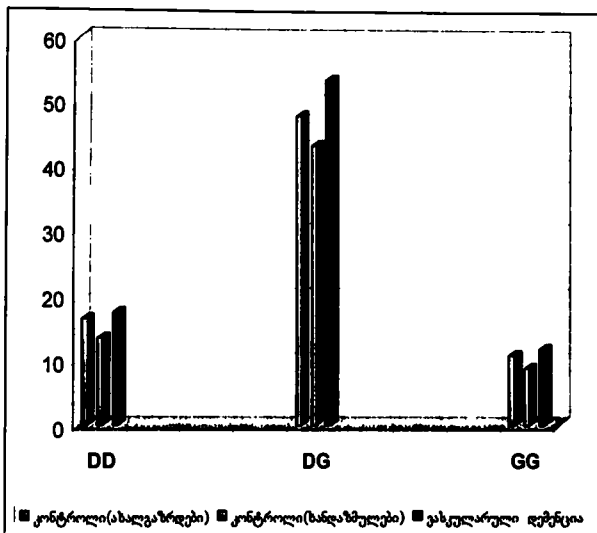
ჩვენს მიერ ჩატარებული იქნა C-სტრუქტურული პეტეროქრომატინის პოლიმორფიზმის შედარებითი ანალიზი 1-ელი, მე-9 და მე-16 ქრომოსომების მიმართ სენილური დემენციის ორი სხვადასხვა ფორმით დაავადებულ ინდივიდებსა და იმავე ასაკის საკონტროლო ჯგუფში. C-ბენდილებისას პოლიმორფული ვარიანტები უფრო ხშირად ამ ქრომოსომებზე აღინიშნება. ანალიზის შედეგები ალცჰაიმერის დაავადებისათვის მოცემულია ცხრილი 3.3.1.-ში. ამ შემთხვევაში დაფიქსირდა საკონტროლო სუბარული მაჩვენებლისაგან განსხვავებული შედეგები.



სურათი 3.2.2.1. ქრომატიდული ასოციაციების ტიპები (DD, DG, GG) ალექტროფორით დაავადებულ ინდივიდებში.

აკროცენტრულ ქრომოსომათა თანამებზავრული ასოციაციების რაოდენობრივი მანვენებლები ვასკულარული დემენციით
დავადებულ ინდივიდებში.

ინდივიდი №	მეტყვანები ასოციაციებით %±მ	ასოციაციათა ტიპები						ასოცირებული ქრომოსომები		D ვაკუფის ქრომოსომები		G ვაკუფის ქრომოსომები	
		D/D		D/G		G/G		სულ	1 ასოციაციაზე	რიცხვი	%	რიცხვი	%
		რიცხვი	%	რიცხვი	%	რიცხვი	%						
1	32,0±4,7	9	18,0±3,8	18	36,0±4,8	2	4,0±1,96	40	2,2±0,2	26	52,0±4,9	14	28,0±4,5
2	48,0±4,9	8	16,0±3,7	21	42,0±4,9	13	26,0±4,4	53	2,0±0,2	23	46,0±4,9	30	60,0±4,9
3	56,0±4,9	15	30,0±4,6	37	74,0±4,4	7	14,0±3,5	72	2,05±0,2	40	80,0±4,4	32	64,0±4,8
4	50,0±5,0	14	28,0±4,5	31	62,0±4,8	7	14,0±3,5	67	2,1±0,2	38	76,0±4,3	29	58,0±4,9
5	52,0±4,9	16	32,0±4,6	34	68,0±4,7	9	18,0±3,8	64	2,1±0,2	35	70,0±4,6	29	58,0±4,9
6	40,0±4,9	7	14,0±3,5	24	48,0±4,9	7	14,0±3,5	45	2,1±0,2	22	44,0±4,9	23	46,0±4,9
7	34,0±4,7	7	14,0±3,5	17	34,0±4,7	9	18,0±3,8	41	2,4±0,2	23	46,0±4,9	18	36,0±4,8
8	38,0±4,8	6	12,0±3,2	27	54,0±4,9	5	10,0±3,0	43	2,0±0,2	22	44,0±4,9	21	42,0±4,9
9	38,0±4,8	5	10,0±3,0	23	46,0±4,9	8	16,0±3,7	40	1,9±0,2	24	48,0±4,9	16	32,0±4,7
10	44,0±4,9	9	18,0±3,8	25	50,0±5,0	3	6,0±2,4	43	1,9±0,2	24	48,0±4,9	19	38,0±4,8
11	36,0±4,8	4	8,0±2,7	29	58,0±4,9	2	4,0±1,96	41	2,05±0,2	20	40,0±4,9	21	42,0±4,9
12	44,0±4,9	10	20,0±4,0	31	62,0±4,8	3	6,0±2,4	49	2,0±0,2	29	58,0±4,8	20	40,0±4,9
13	44,0±4,9	6	12,0±3,2	36	72,0±4,5	6	12,0±3,2	49	2,0±0,2	25	50,0±5,0	24	48,0±4,9
14	44,0±4,9	12	24,0±4,3	24	48,0±4,9	9	18,0±3,8	51	2,2±0,2	26	52,0±4,9	25	50,0±5,0
15	36,0±4,8	4	8,0±2,7	26	52,0±4,9	6	12,0±3,2	41	2,1±0,2	19	38,0±4,8	22	44,0±4,9
საშუალო	42,4±4,9	8,8	17,6±3,8	26,9	53,7±4,9	6,4	12,8±3,3	49,3	2,1±0,2	26,4	58,8±4,9	22,9	45,7±4,9
კონტროლი (სანდაზმ.)	42,2±2,4				43,5±4,9		9,0±2,86		2,3±0,2		47,5±4,9		33,5±4,7
კონტროლი (ახალგაზ.)	51,56±2,36				48,0±4,9		11,0±2,92		2,24±0,21		52,3±4,9		29,3±4,5



სურათი 3.2.2.2. ქრომატიდული ასოციაციების ტიპები (DD, DG, GG) ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში.

1-ელი, მე-9 და მე-16 ქრომოსომების C სტრუქტურული პეტეროქრომატინის პოლიმორფიზმი ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი სპორადიული ფორმით დაავადებულ ინდივიდებში.

ცხრილი 3.3.1.

ქრომოსომები	C სეგმენტების ვარიანტები	v_i	μ_i	v/n	$\frac{v_i + \mu_i}{n + m}$	χ^2
1	a	7	31	0,0693	0,1397	$\chi^2_3 = 8,05$ $p < 0,01$
	b	30	34	0,2970	0,2353	
	c	39	57	0,3861	0,3529	
	d	23	49	0,2277	0,2647	
	e	2	0	0,0198	0,0074	
9	a	29	55	0,2566	0,2809	$\chi^2_3 = 2,96$ $p > 0,05$
	b	48	68	0,4248	0,3879	
	c	30	56	0,2655	0,2876	
	d	6	7	0,0531	0,0435	
	e	0	0	0	0	
16	a	61	116	0,4692	0,5765	$\chi^2_3 = 10,75$ $p < 0,01$
	b	55	61	0,4231	0,3778	
	c	15	0	0,1076	0,0456	
	d	0	0	0	0	
	e	0	0	0	0	

კერძოდ, აღმოჩნდა, რომ ად-ით დაავადებულ ინდივიდებში 1-ელ ქრომოსომაზე საგრძნობლად გაზრდილი იყო C-სეგმენტების მცირე a და დიდი ზომის c და d ვარიანტების ლოკალიზაციის სიხშირე კონტროლთან შედარებით ($\chi^2_3=8,05$; $p<0,01$), რაც შეეხება ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებს, 1-ელ ქრომოსომაზე აღინიშნა C-ბენდების მხოლოდ მცირე ზომის a ვარიანტების სარწმუნო მომატება კონტროლთან შედარებით ($\chi^2_3=11,62$; $p<0,01$). C-სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის პოლიმორფიზმის ანალიზის შედეგები ვასკულარული დემენციით დაავადებული ინდივიდებისათვის მოცემულია ცხრილი 3.3.2.-ში. შედარებით განსხვავებული მონაცემები იქნა მიღებული მე-9 ქრომოსომისათვის ად-ს შემთხვევაში. კერძოდ, აღინიშნა C-სეგმენტების მცირე ზომის a და b ვარიანტების და დიდი ზომის c ვარიანტის სიხშირეთა მნიშვნელოვნად გაზრდა კონტროლთან შედარებით, ხოლო d ვარიანტის სიხშირე შენარჩუნებული იყო კონტროლის ფარგალში ($\chi^2_1=2,96$; $p>0,05$). ვასკულარული დემენციის შემთხვევაში კი მე-9 ქრომოსომაზე მოიმატა მხოლოდ მცირე a და b ვარიანტების სიხშირემ საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით ($\chi^2_3=13,47$; $p<0,01$).

საინტერესოა, რომ თითქმის მსგავსი შედეგები იქნა მიღებული დემენციის აღნიშნული ორი სხვადასხვა ფორმით დაავადებულ ინდივიდთათვის მე-16 ქრომოსომის C-სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის პოლიმორფიზმის შესწავლისას. კერძოდ, სარწმუნოდ მომატებული აღმოჩნდა C-სეგმენტების მცირე ზომის a ვარიანტის სიხშირე, ხოლო დიდი ზომის c ვარიანტის შემთხვევაში გამოვლინდა სიხშირის დაქვეითება დაავადებულთა ორივე საკვლეფ ჯგუფში ($\chi^2_1=10,75$; $p<0,01$ და $\chi^2_3=11,69$; $p<0,01$ შესაბამისად).

1-ელი, მე-9 და მე-16 ქრომოსომების C სტრუქტურული პეტეროქრომატინის პოლიმორფიზმი ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში.

ცხრილი 3.3.2.

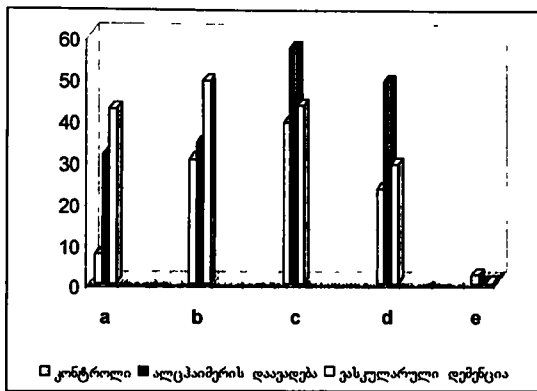
ქრომოსომები	C სეგმენტების ვარიანტები	v_i	μ_i	v_i/n	$\frac{v_i + \mu_i}{n + m}$	χ^2
1	a	7	42	0,0693	0,1856	$\chi^2 = 11,62$ $p < 0,01$
	b	30	49	0,2970	0,2992	
	c	39	43	0,3861	0,3106	
	d	23	29	0,2277	0,1969	
	e	2	0	0,0198	0,0075	
9	a	29	89	0,2566	0,4014	$\chi^2 = 13,47$ $p < 0,01$
	b	48	69	0,4248	0,3979	
	c	30	22	0,2655	0,1768	
	d	6	1	0,0531	0,0238	
	e	0	0	0	0	
16	a	61	115	0,4692	0,5847	$\chi^2 = 11,69$ $p < 0,01$
	b	55	52	0,4231	0,3554	
	c	15	1	0,1076	0,0498	
	d	0	3	0	0,0099	
	e	0	0	0	0	

ამრიგად, ჩვენს მიერ გამოკვლეული ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი სპორადიული ფორმითა და ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში გამოვლინდა ქრომოსომული პოლიმორფიზმი C-სტრუქტურული პეტეროქრომატინის ბლოკების ვარიანტების მიხედვით კონტროლთან შედარებით (სურათი 3.3.1.). პეტეროგენულობა დაფიქსირდა შესწავლილი სამეც წყვილი 1-ლი, მე-9 და მე-16 ქრომოსომებისთვის.

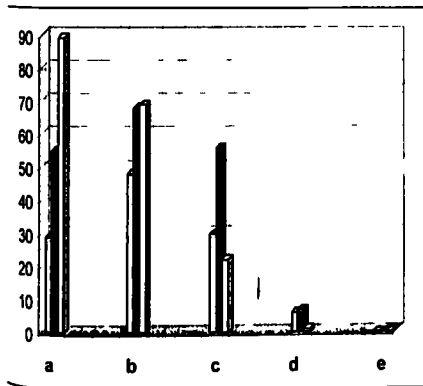
3.4. ინტერფაზური ბირთვაციის ორგანიზატორების სიხშირე სენილური დემენციების დროს.

უჯრედული ციკლის დინამიკის შეფასების მიზნით ჩვენს მიერ შესწავლილ იქნა ინტერფაზურ ბირთვაკამორგანიზებულ უბნებთან ასოცირებული ცილების (ნუკლეოლინი, ნუკლეოფოსმინი) სიხშირე დემენციით დაავადებულ ინდივიდებსა და ორი ასაკობრივი ჯგუფის (20-30წ; 70-80წ.) ჯანმრთელ დონორებში. ანალიზის გასაშუალოებული შედეგები მოცემულია ცხრილი 3.4.1.-ში. ექსპერიმენტებისას ლიმფოციტები ზომის მიხედვით გავყავით ორ ჯგუფად: 4-5μ და 5-7 μ დიამეტრის (სურ. 3.4.1.). ვითვლიდით თითოეულს ცალ-ცალკე და აღვრიცხავდით მათში ლაქების (dots) რაოდენობას (Демин, 2003). საკონტროლოდ აღებულ მოხუც ინდივიდებში გამოვლინდა ერთლაქიანი მცირე უჯრედების მნიშვნელოვანი კლება (83,0±1,9%) ახალგაზრდებთან შედარებით (92,0±0,8%), ხოლო რაც შეეხება ორი, სამი და მეტი ლაქის შემცველ უჯრედებს, პირიქით დაფიქსირდა მათი სიხშირის მომატება. ამასთან, მოხუცებში მნიშვნელოვნად გაიზარდა ერთი ლაქის მქონე დიდი ლიმფოციტების პროცენტული მაჩვენებელი (66,4±2,4%) ახალგაზრდებთან შედარებით (44,4±1,5%).

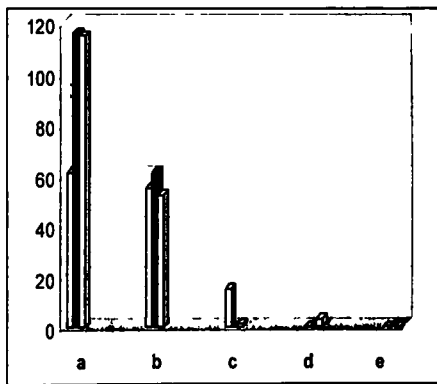
დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში მცირე უჯრედების სიხშირე სამეც შემთხვევაში (1,2,3 და მეტი ლაქა) შეესაბამება საკონტროლოდ აღებულ მოხუც ინდივიდთა შესაბამის მაჩვენებლებს, ხოლო ერთი ლაქის შემცველი დიდი



1-ელი ქრომოსომა



9-ე ქრომოსომა

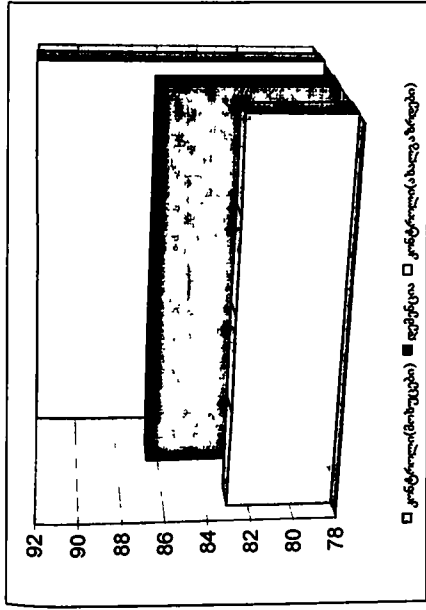


16-ე ქრომოსომა

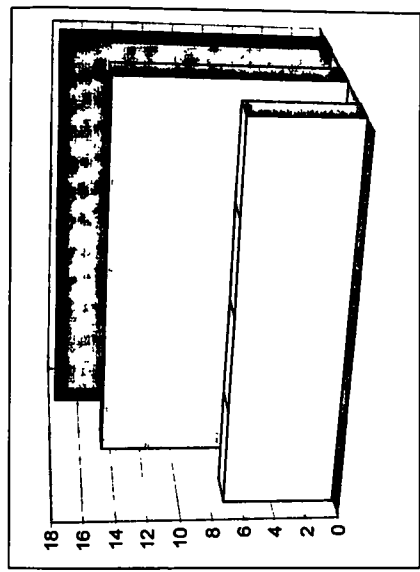
წაიკითხოთ 3.3.1. C-სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის პოლიმორფიზმი ალკაიმერის დაავადების გენი სპორადიული ფორმითა და ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში.

უჯრედების შემთხვევაში აღინიშნა კლება მოხუცების კონტროლთან შედარებით (40,0±2,7% და 66,4±2,4% შესაბამისად), ორლაქიანი უჯრედების რაოდენობა კი პირიქით მნიშვნელოვნად გაიზარდა (40,5±2,7% და 19,9±2,1% შესაბამისად). გამოკვლევის შედეგები მოცემულია სურათი 3.4.2. და 3.4.3.-ზე.

|

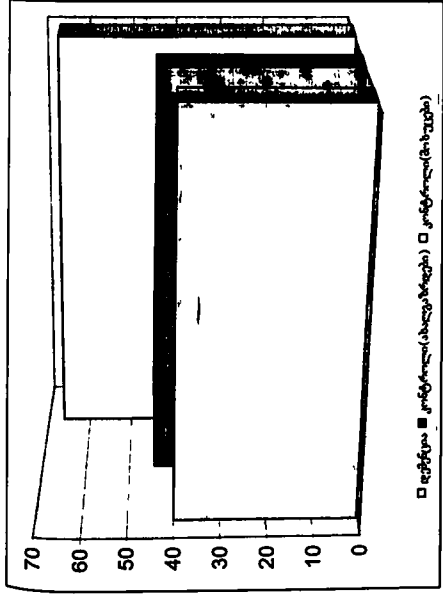


1 ლაქის შემცველი უჯრედები

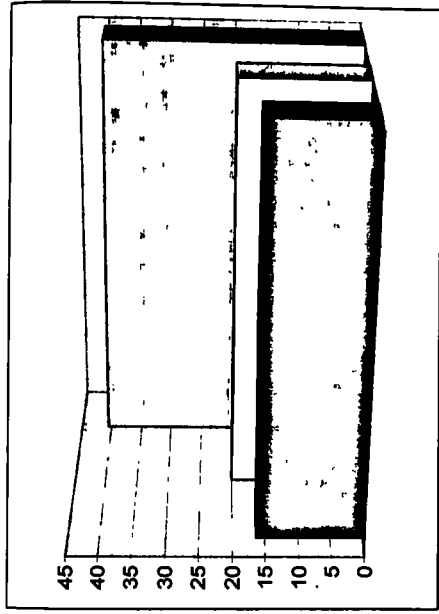


2 ლაქის შემცველი უჯრედები

სურათი 3.4.2. ინტერფერული ბირთვების ორგანიზაციის სიხშირე განმარტებული დონორებისა და დემონსტრირებული დაავადებული ინდივიდების მცირე ზომის (4-5მ) უჯრედებში.



1 ლაქის შემცველი უჯრედები



2 ლაქის შემცველი უჯრედები

სურათი 3.4.3. ინტერფაზური ბირთვების ორგანიზატორების სიხშირე ჯანმრთელი დონორებისა და დემენციით დაავადებული ინდივიდების დიდი ზომის (5-7 μ) უჯრედებში.

3.5. ინტერლეიკინ 1 α -ს გენის პოლიმორფიზმის როლი ალცჰაიმერის დაავადების პათოგენეზში.

ინტერლეიკინ 1 α -ს გენს (IL-1 α) აქვს ორი პოლიმორფული საიტი. ერთი არის პრომოტორის უბანში -889 საიტში (ც \rightarrow თ) და მეორე ტრანსკრიბირებად უბანში +1485 საიტში (გ \rightarrow თ), რომელიც შესაბამისად პოლიპეპტიდში აკოდირებს ერთ შემთხვევაში სერინს ხოლო მეორე შემთხვევაში ალანინს (სურ. 3.5.1.). სერინი ზრდის ალცჰაიმერის დაავადების რისკს 3-ჯერ. ეს ორი უბანი ერთმანეთთან შეჭიდულია და ერთად მემკვიდრეობს, ამიტომ პოლიმორფიზმის შესწავლა ტრანსკრიბირებად უბანში გვაძლევს საშუალებას მოვახდინოთ იგნორირება პოლიმორფიზმისა პრომოტორის უბანში მათი თანაარსებობის გამო. ჩვენ შევისწავლეთ პრო-IL-1 α ცილის პოსტტრანსლაციური გახლეჩა ფერმენტ კალპეინ 1-ით, რომელსაც აქვს გახლეჩვის საიტი IL-1 α -ზე და ეს საიტი მოიცავს პოლიმორფულ უბანს. გახლეჩვის შედეგად მიიღება მომწიფებული IL-1 α . ვესტერნ ბლოტინგისას კონტროლად გამოვიყენეთ მომწიფებული IL-1 α და ასევე პრო-IL-1 α (სერ) და პრო-IL-1 α (ალა) კალპეინის გარეშე. ჩვენ წინა ექსპერიმენტებში ავიღეთ კალპეინის კონცენტრაციათა დიდი სპექტრი (0,00003-0,003) და სხვაობა მოგვცა მხოლოდ ორმა კონცენტრაციამ - 0,003 U/მკრლ და 0,001 U/მკრლ. ექსპერიმენტები გავაგრძელეთ ამ ორი კონცენტრაციის გამოყენებით. ექსპერიმენტები ტარდებოდა შემდეგი სქემით:

- | | |
|---|--|
| მასალები - IL-1 α 114 | 0,635 მკგრ/მკრლ, ნაწილობრივ გასუფთავებული. |
| IL-1 α სურ114 | 0,386 მკგრ/მკრლ, ნაწილობრივ გასუფთავებული. |
| კალპეინ 1 | 0,20 U/მკრლ (Calbiochem). |
| 10X კალპეინის ბუფერი (200 მილიმოლური Tris-HCl, 200 მილიმოლური KCl, pH 7,5). | |

TCACAGGTCGGTTGTGGTAACTTCCGAGTATACATTTTTAGGTACGGAAGGAAAGAGGGTTAGAGGTAAG
GGTTTGAATCGGTGACCGAAGACCGACTCCGGAATGCGTATGGAGGGCCCCGAACGTGTGTGGAAGAAGA
TGTCTTCTGTGTGGAACCCGTATAGGATGCTTCTGGTCCGAAGTGAAGACCAGGAACCATCTCCCGATGA
AATGACATTTGCCCGTCCCACCTCTCAAGAGAGGACTTCGAGGTAGGGGAGATATCCTTTACACAAGTG
TTATAAGTCTTCTCATTCTGCTAGTCTGAAGAAACACGAGTTTATGGTGACAAGAGAAGAGATGGGACG
GGATTGGTCCTCGAACAGTGGGGTTTGAGACACCCTAAATACGGAATTAGTTCGTTTGAAGGGAGAAGT
CTTTTCTACCGAGTAAAAGGGAGTTTTCAACGGTCCCTCGACGGTTCATAAGACGGTTAAGTGGGACCTCG
TGTTAGTTGTTAAGTCGGTCTTGTGTTGATGTCGATGATAATCTTGATAATAATAATTATTTAAGGAGA
GGTTTAGATCGGGAACTGAAGCCTAAAGTGCTAAAGAGGGAAGGAGGATCTTTGAACTATTCAAAGGGC
GCGAAGGGAAAAAGATTCTGTATGTACAACAGTAGAATATTTCTGTTTCCCCACTTATTTACTTGGTTTAG
TTATTGAAGACCTTATAGACGTTCCGTTGTTATTATAGTCGATACGGTAGAAAAGTGATAAAATCGGTCATA
GCTCAACTTACTTGTATCTTTTTATGTTTTGACTTAAGAAGGGACATTTAAGGGGCAAACCTGCTGCCTG
AACATCGGTGCATCGGTGCGGATGAATTCTGTAAATGTTTTCCGCTTCT/CTCTGACTGAGTCCGAATTC
GACGGTCGGTCTCTCCCTCAGTAAAGTAACCGCAAACCTCAGTCGTTTCTCAGTCTACCGGTTTCAAGG
TCTGTACAAACTCTCGACTTCTTGACAATGTCACCTTTACTTCTTCTGTCAAGGAGGTAAGTAGTAGAC
AGAGACTTAGTCTTTAGGAAGATAGTACATT

სურათი 3.5.1. ადამიანის IL-1A გენის პრომოტორის უბანი თ→ც
პოლიმორფიზმით -889 საიტში.

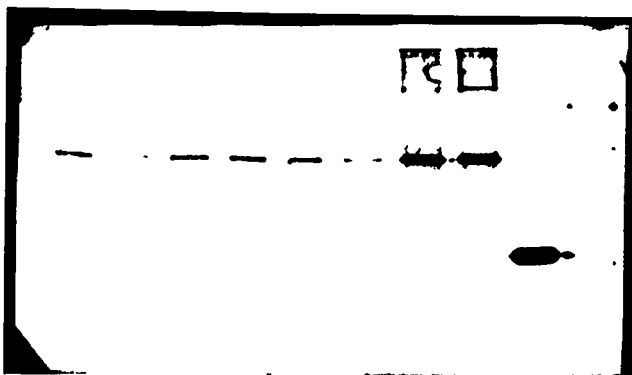
ბუფერულ ნარევს ვამზადებდით შემდეგი კომპონენტებით: 50 მილიმოლური CaCl_2 (რეაქციაში 5 მილიმოლური); 10X კალპინის ბუფერი (რეაქციაში 1X); 3%-იანი ბეტამერკაპტოეთანოლი (რეაქციაში 0,1%-იანი) და დისტილირებული წყალი.

სერიულად განვაზავეთ კალპინი 1 X კალპინის ბუფერში და 5 მიკროლიტრი გადავიტანეთ 20 მიკროლიტრ ბუფერულ ნარევში. მოვასხინეთ ინკუბაცია ოთახის ტემპერატურაზე 15 წთ-ის განმავლობაში კალპინის აქტივაციის მიზნით. დავამატეთ თითოეული ტიპის IL-1 α -ს 5 მიკროლიტრი და 37°C-ზე 10 წუთიანი ინკუბაციის შემდეგ შევარჩეთ რეაქცია 1 მკრლ 0,5 მოლური EDTA-სა და 15 მკრლ 3X SDS PAGE ბუფერის დამატებით. გავაცხელეთ 100°C-ზე 5 წთ-ით, დავამატეთ 45 მკრლ 1 X საღებავი ბუფერი და დავიტანეთ 12%-იან პოლიაკრილამიდურ გელზე შემდეგი თანმიმდევრობით:

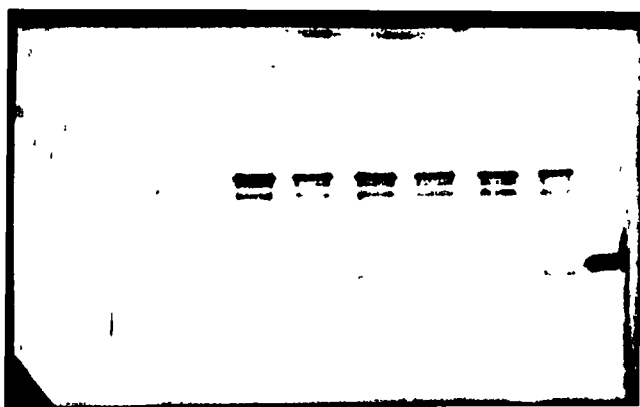
ხაზი	გელი №1 (კალბ. 0,003 U/მკრლ)	გელი №2 (კალბ. 0,001 U/მკრლ)
1	მარკერი	მომწიფებელი IL-1 α
2	მომწიფებელი IL-1 α	ალა114
3	ალა114 კალბ. გარეშე	სერ114
4	სერ114 კალბ. გარეშე	ალა114
5	ალა114	სერ114
6	სერ114	ალა114
7	ალა114	სერ114
8	სერ114	
9	ალა114	
10	სერ114	

ვესტერნ ბლოტინგის შედეგები მოცემულია სურათი 3.5.2-ზე. ბლოტინგის შემდეგ მემბრანებს ვასკანირებდით და ვანალიზებდით კომპიუტერულ პროგრამა Scion image-ში. აღმოჩნდა, რომ კალპინ 1 სხვადასხვა ინტენსივობით ხლეჩს ინტერლეიკინ 1-ის ამ ორ ფორმას და სხვაობა დაფიქსირდა ორივე კონცენტრაციის შემთხვევაში (სურ. 3.5.3 და 3.5.4).

მემბრანა №1 (კალპეინი - 0,003 U/მკრლ)

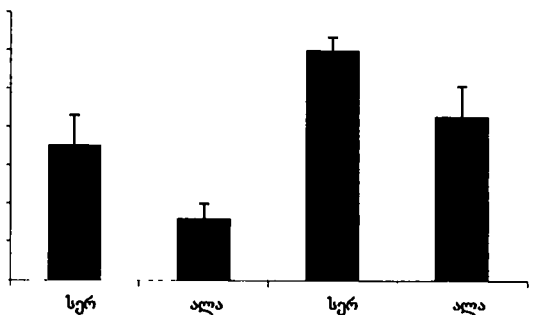


მემბრანა №2 (კალპეინი - 0,001 U/მკრლ)

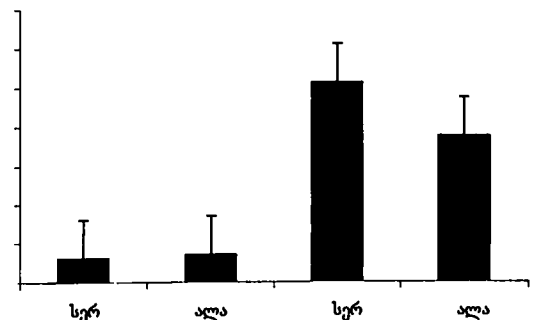


სურათი 3.5.2.. ორი ფორმის ინტერლეიკინ 1 α -ს პოსტტრანსლაციური გახლეჩა
კალპეინ 1-ით (ვესტერნ ბლოტინგი)

გელი №1 (კალპეინი – 0,003 U/მკრლ)



გელი №2 (კალპეინი – 0,001 U/მკრლ)



და 3.5.4. ინტერლეიკინ 1 α -ს გენის პოლიმორფიზმის
ალცჰაიმერის დაავადების პათოგენეზში

3.6 ტრანსკრიპციული ფაქტორი NFκB და მისი აქტივობის

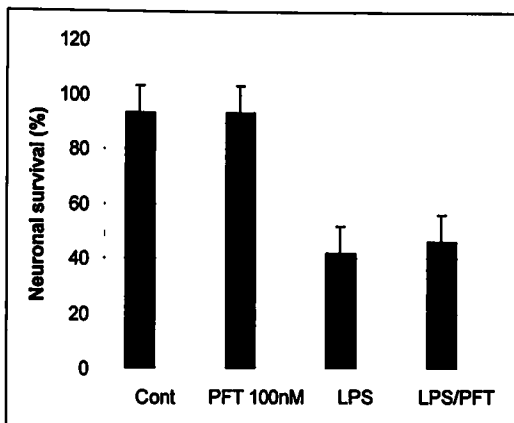
შეფასება ნეირონებში.

როგორც ლიტერატურიდან ცნობილია ალცჰაიმერის დაავადებისას ნეირონთა პროგრესულ დეგენერაციაში წამყვანი როლი ამილოიდურ Aβ ცილას ეკუთვნის. Aβ-თი გამოწვეული ნეირონთა დაღუპვა ასოცირდება გაზრდილ ოქსიდაციურ სტრესთან (Mattson et al., 2004). რიგი სამეცნიერო კვლევები მიუთითებს რომ ად-ით დაავადებულთა ტვინის ქსოვილში ნეირონები ავლენენ p53 ცილის გაზრდილ იმუნორეაქტიულობას (de laMonte et al., 1997). p53 ცილის ფარმაკოლოგიური ინჰიბირებით ითრგუნება კასპაზების აქტივაცია და იმ ჰიპოკამპალური ნეირონების სიკვდილი რომლებზეც წინასწარ იმოქმედეს გლუტამატით ან ამილოიდური β-პეპტიდით (Culmsee et al., 2001). ნეირონებში p53-ის საწინააღმდეგო მოქმედებით ხასიათდება ბირთვული ფაქტორი NFκB, რომელიც განაპირობებს ნეირონთა გადარჩენადობას ეპზოგენური სტრესების მოქმედების საპასუხოდ, მაშინ როცა NFκB-ს აქტივაცია გლიურ უჯრედებში იწვევს ანთებითი ციტოკინებისა და ტოქსინების გამოთავისუფლებას რომლებიც კლავენ ნეირონებს (Mattson et al., 2001). ბირთვული ფაქტორი NFκB წარმოდგენილია ორი სუბერთეულით - Rel A ანუ p65 და p50, რომლებიც ციტოპლაზმაში დაკავშირებულია ინჰიბიტორულ ცილა IκB-სთან. NFκB და p53 ერთმანეთს კონკურენციას უწევენ კოფაქტორ p300/CBP-სთან დაკავშირებაში, რაც აუცილებელ პირობას წარმოადგენს ამ ორი ტრანსკრიპციული ფაქტორის ფუნქციონირებისათვის. გენოტოქსიური სტრესის შემდეგ ნეირონებში NFκB-ს დაკავშირება p300-თან ითრგუნება p53-ის გაზრდილი რაოდენობის გამო. p53-ის ფარმაკოლოგიური ინჰიბირება მნიშვნელოვნად ზრდის NFκB-ს დაკავშირებას p300-თან (Culmsee et al., 2003). ინჰიბიტორად გამოიყენება აპოპტოზის ნეგატიური რეგულატორი პიფითრინ-α (PFT), ხოლო აპოპტოზის ინდუქტორად კამპტოტეცინი (Culmsee et al., 2005).

ჩვენ მიზნად დავისახეთ გვენახა NFκB-ს აქტივობა ნეირონებში სტანდარტული აგენტის ლიპოპოლისაქარიდის (LPS) ზემოქმედების საპასუხოდ, რომელიც იწვევს მიკროგლიის აქტივაციას. ექსპერიმენტები ტარდებოდა თავის მიკროგლიისა და ნეირონების ერთობლივ კულტურებზე. LPS ემატებოდა ფიქსაციამდე 24 სთ-ით ადრე 300 ნგ/მლ კონცენტრაციით შემდეგ კი გამოყოფილი NO-ს რაოდენობას ვსაზღვრავდით სტანდარტული მეთოდით. ვსწავლობდით პიფითრინისა და LPS-ის როგორც განმზოლობულ ისე კომბინირებულ მოქმედებას. NO ტესტმა აჩვენა, რომ მისი კონცენტრაცია შემცირდა კომბინირებული მოქმედებისას, თუმცა EMSA ტესტმა ვერ გამოავლინა NFκB-ს დაკავშირება დნმ-თან (სურ. 3.6.1.).

3.7. დნმ-ს მეთილირების სტატუსის შეფასება სიმსივნის სუპრესორ გენსა (TNF-α) და ინტერლეიკინ 1α-ს გენში ალკაიმიერის დაავადების დროს.

მრავალი სამეცნიერო შრომა მიუთითებს, იმაზე რომ ტრანსკრიპციული ფაქტორების დნმ-თან და კერძოდ გენების პრომოტორულ უბნებთან დაკავშირების ერთ-ერთ ხელშემშლელ პირობად მოიაზრება დნმ-ის მეთილირებული საიტები. TNF-α და IL-1α გენების მეთილირების სტატუსის დადგენის მიზნით ვახდენდით დნმ-ის იზოლაციას ად-ით დაავადებულთა ასტროგლიური უჯრედული ხაზიდან (T98G) QIA amp DNA Mini prep kit-ის გამოყენებით. ვახდენდით დნმ-ის ერთი ნაწილის გლობალურ მეთილირებას (პოზიტიური კონტროლი) ზემოთ აღწერილი მეთოდის საშუალებით, შემდეგ კი ვახდენდით მეთილირებული და არამეთილირებული დნმ-ის დამუშავებას ნატრიუმის ბისულფატით. როგორც ცნობილია მეთილის ჯგუფის დაკავშირება ხდება დნმ-ის ცვ წყვილებთან, რომლებიც ცნობილია CpG კუნძულების სახელწოდებით. ბისულფიტური დამუშავება განაპირობებს ყველა არამეთილირებული ც-ს მეთილირებას, რომლებიც აღიქმება როგორც ურაცილი და საბოლოოდ ახლადსინთეზირებულ ჯაჭვში წარმოადგენილი იქნება თიმინი, ხოლო მეთილირებული ციტოზინი კი უცვლელად



სურათი 3.6.1. ნეირონთა გადარჩენადობა ლიპოპოლისაქარიდის და პიფითრინ ა-ს განმზოლოებული და ერთობლივი მოქმედების პირობებში.

გადავა. დნმ-ის სეკვენირებით შესაძლებელია მეთილირების ხარისხის განსაზღვრა ჩვენთვის საინტერესო უბანში.

ჩვენ ვახდენდით ბისულფიტური დნმ-ის TNF- α -ს გენში 800ნწყ-ისგან შემდგარი ფრაგმენტის ამპლიფიკაციას პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით (PCR) (სურ. 3.7.1.). ვაწარმოებდით ე.წ. nested-PCR-ს რომელიც ორსაფეხურიანია. პირველ საფეხურზე ხდება 800ნწყ-ის მქონე ფრაგმენტის გამრავლება ჩვენს მიერ შერჩეული შემდეგი პრაიმერებით: 5' - გთგ თგა გგვ გთა თთთ თთგ ათგ თთთ გთგ თგ - 3' და 5' - ცათ თცა თთც ათთ ცათ თცა თთც აცთ ცცა თაც აც - 3' (Invitrogen) (პრაიმერების დიზაინი ხდებოდა კომპიუტერულ პროგრამა Primer3-ში). PCR-ის პროგრამა კი შემდეგნაირი იყო:

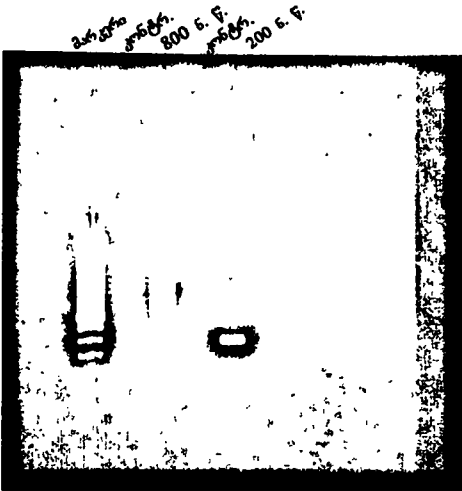
94°C (4წთ)- 94°C (30წმ) - 60°C (1წთ) - 62°C (2წთ) - 72°C (7წთ) - 4°C (თ).

მეორე საფეხურზე კი ხდება 200 ნწყ-ისგან შემდგარი ფრაგმენტის ამპლიფიკაცია იგივე უბანში. ამ ეტაპზე ვიყენებდით პრაიმერების შემდეგ წყვილს: 5' - აგა თაგ ააგ გთგ თაგ გთთ თთა თთა თ - 3' და 5' - ცათ აცთ თთც აათ აცთ ცათ აათ ათც ც - 3' (Invitrogen). PCR-ის პროგრამა:

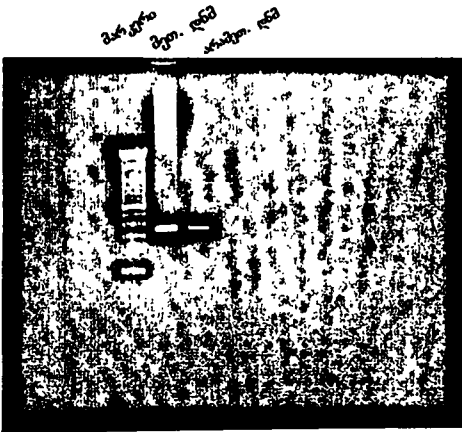
94°C (4წთ)- 94°C (30წმ) - 56°C (1წთ) - 62°C (2წთ) - 72°C (7წთ) - 4°C (თ).

nested-PCR-ის შედეგები ასახულია სურათი 3.7.2-ზე. ამის შემდეგ ვახდენდით PCR-ის პროდუქტების გასუფთავებას QIA quick gel extraction kit-ის ან QIA prep Spin Mini prep kit-ის საშუალებით. დნმ-ის რაოდენობას ვსაზღვრავდით 0.8%-იან აგაროზის გელზე. დნმ-ის 10 ნგ-ს (4 მკრლ) პრაიმერების მეორე წყვილთან ერთად ვაგზავნიდით სეკვენირებისათვის. ექსპერიმენტებმა აჩვენა დნმ-ის ჰიპომეთილირება კონტროლთან შედარებით.

PCR №1

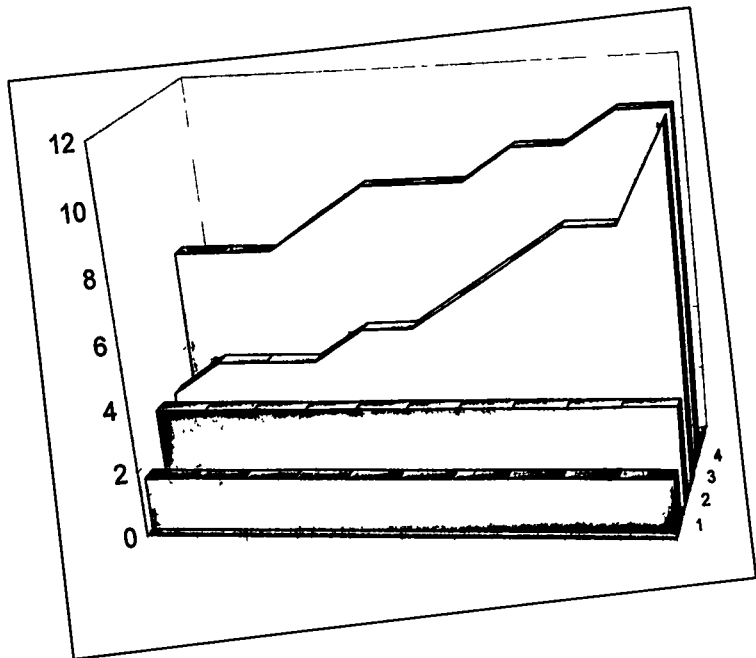


PCR №2



სურათი 3.7.1. ნატრიუმის ბისულფიტით დამუშავებული ღნმ-ის PCR-ის შედეგები

ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი სორადიული ფორმითა და ვასკულარული დემენციით დაავადებული ინდივიდების პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტების ციტოგენეტიკური შესწავლის შედეგად ჩვენს მიერ გამოვლენილი იქნა რიგი ქრომოსომული მახასიათებლების ცვლილებები ორი ასაკობრივი ჯგუფის შესაბამის საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით. ქრომოსომული არასტაბილობის (სტრუქტურული და რაოდენობრივი დარღვევები) განსხვავებული შედეგები იქნა მიღებული სენილური დემენციის ამ ორი სხვადასხვა ფორმისათვის, რასაც დიდი პრაქტიკული მნიშვნელობა შეიძლება ჰქონდეს მათი დიფერენცირებისა და ურთიერთგამიჯვნის თვალსაზრისით. კერძოდ, ქრომოსომული აბერაციების შემცველ უჯრედთა საშუალო სიხშირე ად-ით დაავადებულთა ჯგუფში ($6,9 \pm 2,63\%$) სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ განსხვავდებოდა პირველი საკონტროლო ჯგუფის ანუ ხანდაზმულ ინდივიდთა შესაბამისი მაჩვენებლისაგან ($3,1 \pm 0,55\%$) და აღემატებოდა საკონტროლოდ აღებულ ახალგაზრდა ინდივიდთა მაჩვენებელს ($1,6 \pm 0,4\%$), მაშინ როცა ად-ს ჯგუფისაგან განსხვავებით ქრომოსომული აბერაციების შემცველ უჯრედთა საშუალო სიხშირე ვასკულარული დემენციით დაავადებული ინდივიდების შემთხვევაში ($8,9 \pm 2,85\%$) სტატისტიკურად მნიშვნელოვნად აღემატებოდა ორივე საკონტროლო ჯგუფის შესაბამის მაჩვენებლებს ($3,1 \pm 0,55\%$ და $1,6 \pm 0,4\%$ შესაბამისად). ქრომოსომათა სტრუქტურული დარღვევების ანალიზის შედეგები დემენციის ორივე ფორმით დაავადებული ინდივიდებისთვის კარგად ჩანს სურათი 3.3.2.-ზე. ორივე შემთხვევაში ქრომოსომული დარღვეებიდან ჭარბობდა ერთეული და წყვილი ფრაგმენტები, სხვა ტიპის დარღვეებიდან ჩვენს მიერ გამოვლენილი იქნა ქრომატიდული და ქრომოსომული ტრანსლოკაციები, ასევე ცენტრომერების ნადრევი დაცილება.



სურათი 3.3.2. ქრომოსომათა სტრუქტურული დარღვევების სიხშირე ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი სპორადიული ფორმითა და ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში.
 1-კონტროლი (აზალგაზრდები); 2-კონტროლი (ხანდაზმულები); 3-ალცჰაიმერის დაავადება და 4-ვასკულარული დემენცია.

ლიტერატურული მონაცემებიდან ცნობილია, რომ ქრომოსომათა სტრუქტურული და რაოდენობრივი ცვლილებების სპონტანური დონის შესწავლა მოხდა მიკრობირთვების ანალიზით ალკაჰიმერისა და პარკინსონის დაავადების შემთხვევაში. მიკრობირთვების სიხშირის მნიშვნელოვანი მომატება დაფიქსირდა ორივე ნეიროდეგენერაციული დაავადების შესაბამის საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით (Petrozzi et al., 1999).

ალკაჰიმერის დაავადების გვიანი სპორადიული ფორმით დაავადებული ინდივიდების ქრომოსომათა რაოდენობრივი დარღვევების ანალიზისას გამოვლინდა, რომ ანეუპლოიდურ უჯრედთა საშუალო პროცენტული მაჩვენებელი ($15,4 \pm 3,6\%$) მნიშვნელოვნად არ განსხვავდებოდა იმავე ასაკის საკონტროლო ინდივიდთა შესაბამისი მაჩვენებლისაგან ($13,5 \pm 1,08\%$) და აღემატებოდა ახალგაზრდა ჯანმრთელი დონორების მაჩვენებელს ($6,0 \pm 0,75\%$). რაც შეეხება ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებს, ანეუპლოიდურ უჯრედთა სიხშირემ საშუალოდ შეადგინა $17,9 \pm 3,8\%$, რაც სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ აღემატება ხანდაზმულ ინდივიდთა საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებელს და მნიშვნელოვნად აღემატება ახალგაზრდებისას ($13,5 \pm 1,08\%$ და $6,0 \pm 0,75\%$ შესაბამისად).

უნდა აღინიშნოს, რომ ად-ს შემთხვევაში პოლიპლოიდურ უჯრედთა საშუალო სიხშირე ($0,07 \pm 0,03\%$) უმნიშვნელოდ აღემატება საკონტროლო ინდივიდთა მაჩვენებლებს ($0,04 \pm 0,02\%$ და $0,02 \pm 0,01\%$ შესაბამისად), მაშინ როცა ვასკულარული დემენციის დროს პოლიპლოიდურ უჯრედთა სიხშირის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი მომატება აღინიშნა 4 ინდივიდის შემთხვევაში და საშუალო მაჩვენებელიც ($0,18 \pm 0,09\%$) სარწმუნოდ აღემატება ორივე საკონტროლო ჯგუფში აღრიცხულ შესაბამის მაჩვენებლებს ($0,04 \pm 0,02\%$ და $0,02 \pm 0,01\%$ შესაბამისად).

აღნიშნული შედეგები შესაბამისობაშია ლიტერატურაში არსებულ მონაცემებთან (Smith et al., 1983), თუმცა უნდა აღინიშნოს, რომ ექსპერიმენტულმა ანალიზმა აჩვენა ანეუპლოიდის სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი მომატება კონტროლთან შედარებით ად-ს ოჯახური ფორმების შემთხვევაში (Ward et al.,

1989). სპონტანური ანეუპლოიდიის დონის მომატება ად-ს შემთხვევაში ადასტურებს ჰიპოთეზას, რომ მიკრომილაკების დაზიანება და დისფუნქცია შესაძლოა ასოცირებული იყოს დაავადების განვითარებასთან (Migliore et al., 1997; Trippi et al., 2001).

თანამედროვე წარმოდგენებით Ag-დადებითი NOR-ის რაოდენობა და ზომები, აგრეთვე მათი შედეგების ინტენსივობა დამოკიდებულია მიტოზის წინამორბედ ინტერფაზაში რიბოსომული ცისტრონების ფუნქციური აქტივობის ხარისხზე (Schwarczacher, 1983, Rocci et al., 1986).

ცნობილია, რომ ადამიანის აკროცენტრული ქრომოსომები შედიან ერთმანეთთან თანამგზავრულ ასოციაციებში (Ferguson-Smith, 1963). აკროცენტრიკები, რომლებიც მონაწილეობენ ინტერფაზის და პროფაზის დროს ბირთვაკის ორგანიზაციაში, შესაძლოა შეერთებული დარჩნენ სატელიტურ ასოციაციებში მეტაფაზის სტადიაზე ბირთვაკის გაქრობის შემდეგაც (De Capoa et al., 1987). ასოციაციებში შედიან მხოლოდ ის ქრომოსომები, რომელთაც გააჩნიათ წინამორბედ ინტერფაზაში აქტიურად ფუნქციონირებადი NOR-ები (Verma et al., 1983).

ჩვენს შემთხვევაში მსგავსი შედეგები იქნა მიღებული ად-სა და ვასკულარული დემენციის შემთხვევაში Ag-პოზიტიური ქრომოსომების სიხშირის მხრივ. კერძოდ, ეს მაჩვენებლები ($5,12 \pm 0,32$ და $5,3 \pm 0,33$ შესაბამისად) არ განსხვავდებოდა იმავე ასაკის საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებლისაგან და ჩამორჩებოდა ახალგაზრდებისას ($5,23 \pm 0,32$ და $6,35 \pm 0,1$ შესაბამისად) რაც შეესაბამება ლიტერატურულ მონაცემებს იმის თაობაზე, რომ ასაკის მატებასთან ერთად ქვეითდება Ag-პოზიტიური ქრომოსომების გამოვლენის სიხშირე და მამასადამე NOR-ების ტრანსკრიპციული აქტივობაც (Lezhava, 1999).

მსგავსი შედეგები იქნა მიღებული აკროცენტრულ ქრომოსომათა ასოციაციების სიხშირის ანალიზისას ად-ით და ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში. კერძოდ, საშუალო სიხშირემ თითოეული მათგანისათვის შეადგინა $42,1 \pm 4,9\%$ და $42,4 \pm 4,9\%$ შესაბამისად, ხანდაზმული ინდივიდების საკონტროლო მაჩვენებელი იყო $42,2 \pm 2,4\%$, ახალგაზრდების კი $51,56 \pm 2,36\%$. ასოციაციების

DD/DG/GG ტიპებიდან ად-ს შემთხვევაში მნიშვნელოვნად იყო გაზრდილი DD და GG ტიპის ასოციაციები ხანდაზმული ინდივიდებისგან შემდგარ საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (DD - $18,2 \pm 3,8\%$; GG - $14,5 \pm 3,5\%$, კონტროლში კი DD - $13,5 \pm 3,4\%$; GG - $9,0 \pm 2,86\%$). GG ტიპის ასოციაციების სიხშირე ასევე გაზრდილი იყო ახალგაზრდა ჯანმრთელ დონორთა შესაბამის მაჩვენებელთან მიმართებაში ($14,5 \pm 3,5\%$ და $11,0 \pm 2,92\%$ შესაბამისად). ად-ს ჯგუფისაგან განსხვავებით ვასკულარული დემენციის შემთხვევაში გამოვლინდა შერეული (DG) ტიპის ასოციაციების სიხშირის მკვეთრი მომატება ორივე საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით - $53,7 \pm 4,9\%$, კონტროლში კი $43,5 \pm 4,9\%$ და $48,0 \pm 4,9\%$ შესაბამისად.

საკმაოდ აქტიური კვლევის საგანს წარმოადგენს ბირთვაკაორგანიზებელი უბნები ად-ს დროს. Payao-მ და სხვ. შესწავლეს სატელიტური ასოციაციების სიხშირე Ag-ბენდირების მეთოდით. მასალად გამოყენებული იყო 10 ად-ით დაავადებულის, 10 ჯანმრთელი ხანდაზმულისა და 10 ჯანმრთელი ახალგაზრდას სისხლის ლიმფოციტები. შედეგებმა აჩვენა ასოციაციების სიხშირის მნიშვნელოვნად დაკლება 21-ე ქრომოსომულ წყვილთან მიმართებაში საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (Payao et. al., 1994). მსგავს მოვლენას ადგილი აქვს in vivo და in vitro დაბერების შემთხვევაში, აგრეთვე ნაადრევი დაბერების სინდრომის, ღუნის სინდრომის დროს (Lezhava, Dvalishvili., 1992; Lezhava 1999), წითელი მგლურასა და რემატოიდული ართრიტის შემთხვევებში (Lezhava, Dvalishvili., 1992; Lezhava 1999, Sigua 1999). აღნიშნულს საფუძვლად უნდა ედოს აკროცენტრულ ქრომოსომათა თანამგზავრული ძაფების კონდენსაცია.

განსხვავებული შედეგები იქნა მიღებული ად-ით დაავადებულთა ჰიპოკამპალური ნეირონების ბირთვაკაორგანიზებელი უბნების შესასწავლად წარმოებულ ექსპერიმენტებში. ბირთვაკოა ტრანსკრიპციული აქტივობა შემცირებული აღმოჩნდა ად-სა და ხანდაზმულთა საკონტროლო ჯგუფში ახალგაზრდებთან შედარებით, თუმცა უნდა აღინიშნოს, რომ ად-ს ჯგუფში ეს პარამეტრი გაცილებით გაუმჯობესებული იყო ვიდრე ჯანმრთელ მოხუცებში, რაც უფრო ძლიერი

უჯრედული დამცველობითი სისტემის არსებობით შეიძლება აიხსნას (Lu et. al., 1998).

ადამიანის ქრომოსომების ცალკეული უბნების სტრუქტურულ-ფუნქციური თვისებების შესწავლაში დიდი ადგილი უჭირავს პეტეროქრომატინული უბნების ანალიზს. ქრომოსომების C-ბლოკები ვლინდება C-ბენდირებისას. ამ უბნების მახასიათებელ თვისებად ითვლება C-ბლოკების ზომები ნორმაში და პათოლოგიის დროს (Закс Л., 1976; Кузнецова С. и др., 1986).

ადამიანის 1-ელი, მე-9, მე-16 ქრომოსომებში ლოკალიზებულია დიდი ზომის პეტეროქრომატინული ბლოკები, რომელთა ზომები შეიძლება შეფასდეს რაოდენობრივად. რიგი ავტორის მიერ აღწერილი იქნა სინდრომი, რომელიც კლინიკური გამოვლინებით მსგავსი იყო ქრომოსომული დაავადებების, სადაც გამოვლინდა 1-ელი, მე-9, მე-16 და Y ქრომოსომებში პატარა პეტეროქრომატინული ბლოკები (Подукольниковა и др., 1984). ზოგიერთი ავტორი C-პეტეროქრომატინის ნეიტრალურ მახასიათებლად წარმოგვიდგენს, სხვები მიუთითებენ C-სეგმენტების კავშირზე სხვადასხვა გენოტიპურ გამოვლინებასთან, როგორიცაა რეპროდუქციული ფუნქცია, სიმსივნური დაავადებები, ზოგიერთი ფიზიოლოგიური და ანთროპოლოგიური მარკერებლები (Подукольниковა и др., 1984, Berger R. et.al., 1985).

ჩვენს მიერ ჩატარებულ იქნა 1-ელი, მე-9 და მე-16 ქრომოსომების C-სეგმენტების პეტერომორფიზმის ანალიზი. აღმოჩნდა, რომ ად-ით დაავადებულ ინდივიდებში 1-ელ ქრომოსომაზე საგრძნობლად გაზრდილი იყო C-სეგმენტების მცირე a და დიდი ზომის c და d ვარიანტების ლოკალიზაციის სიხშირე კონტროლთან შედარებით ($\chi^2_3=8,05$; $p<0,01$), რაც შეეხება ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებს, 1-ელ ქრომოსომაზე აღინიშნა C-ბენდების მხოლოდ მცირე ზომის a ვარიანტების სარწმუნო მომატება კონტროლთან შედარებით ($\chi^2_3=11,62$; $p<0,01$). განსხვავებული მონაცემები იქნა მიღებული მე-9 ქრომოსომისათვის ად-ს შემთხვევაში. კერძოდ, აღინიშნა C-სეგმენტების მცირე

ზომის a და b ვარიანტების და დიდი ზომის c ვარიანტის სიხშირეთა მნიშვნელოვნად გაზრდა კონტროლთან შედარებით, ხოლო d ვარიანტის სიხშირე შენარჩუნებული იყო კონტროლის ფარგალში ($\chi^2_1=2,96$; $p>0,05$). ვასკულარული დემენციის შემთხვევაში კი მე-9 ქრომოსომაზე მოიმატა მხოლოდ მცირე a და b ვარიანტების სიხშირემ საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით ($\chi^2_1=13,47$; $p<0,01$).

საინტერესოა, რომ თითქმის მსგავსი შედეგები იქნა მიღებული დემენციის აღნიშნული ორი სხვადასხვა ფორმით დაავადებულ ინდივიდთათვის მე-16 ქრომოსომის C-სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის პოლიმორფიზმის შესწავლისას. კერძოდ, სარწმუნოდ მომატებული აღმოჩნდა C-სეგმენტების მცირე ზომის a ვარიანტის სიხშირე, ხოლო დიდი ზომის c ვარიანტის შემთხვევაში გამოვლინდა სიხშირის დაქვეითება დაავადებულთა ორივე საკვლევ ჯგუფში ($\chi^2_1=10,75$; $p<0,01$ და $\chi^2_3=11,69$; $p<0,01$ შესაბამისად).

ამრიგად, ჩვენს მიერ გამოკვლეული ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი სპორადიული ფორმითა და ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში გამოვლინდა ქრომოსომული პოლიმორფიზმი C-სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის ბლოკების ვარიანტების მიხედვით კონტროლთან შედარებით. ჰეტეროგენულობა დაფიქსირდა შესწავლილი სამივე წყვილი 1-ლი, მე-9 და მე-16 ქრომოსომებისთვის, რაც შესაძლოა პერსპექტიული აღმოჩნდეს დემენციის სხვადასხვა ფორმების დიფერენცირებისა და დიაგნოსტიკისათვის.

სენილური დემენციებით დაავადებულ ინდივიდებში ინტერფაზური ბირთვების ორგანიზატორებთან ასოცირებული ცილების რაოდენობრივი ანალიზისას გამოვლინდა, რომ მცირე ზომის უჯრედების (4-5 μ) შემთხვევაში შემცირებულია 1 კლასტერის/ლაქის მქონე უჯრედების რაოდენობა (86,5 \pm 1,9%) ახალგაზრდათა საკონტროლო ჯგუფისაგან განსხვავებით (92,0 \pm 0,8%). განსხვავება აღინიშნა აგრეთვე საკონტროლოდ აღებულ მოხუც ინდივიდთა ჯგუფის მიმართაც. კერძოდ, 1

ლაქის შემთხვევაში ჩვენ აღვრიცხავდით კლასტერის ზომასაც და დაავადებულ ინდივიდებში საკმაოდ გაზრდილია დიდი ზომის 1 კლასტერიანი უჯრედების პროცენტული მაჩვენებელი მცირე ზომის ლაქასთან შედარებით, მოხუცთა საკონტროლო ჯგუფში კი პირიქით, რაც იმაზე მიუთითებს, რომ დემენციის დროს მცირე ზომის 1 კლასტერიანი უჯრედების დიდი ნაწილი იმყოფება G_1 ფაზაში (დიდი ზომის ერთი კლასტერი შეესაბამება G_1 -ს) განსხვავებით კონტროლისგან, სადაც უჯრედთა უმრავლესობა G_0 -შია (მცირე ზომის ერთი კლასტერი შეესაბამება G_0 -ს) (Junera et al., 1995; Sirri et al., 2000). ამ უკანასკნელს შესაძლოა განაპირობებდეს პროგრესული პეტეროქრომატინიზაცია ხანდაზმულ ასაკში (Clayson et al., 1994; Lundgren et al., 2000; Claussen et al., 2002).

დემენციის დროს ასევე გაზრდილია 2 კლასტერიანი მცირე ზომის უჯრედების რაოდენობაც ($17,5 \pm 2,1\%$) ჯანმრთელ ახალგაზრდა დონორებთან შედარებით ($7,1 \pm 0,7\%$), თუმცა სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ აღემატება საკონტროლო მოხუც ინდივიდთა შესაბამის მაჩვენებელს ($14,5 \pm 1,8\%$). რაც შეეხება დიდი ზომის უჯრედებს ($5-7\mu$), დემენციით დაავადებულებში 1 კლასტერიანი ლიმფოციტების სიხშირე ჯანმრთელი ახალგაზრდების მსგავსად დაქვეითებული აღმოჩნდა ($40,0 \pm 2,7\%$, კონტროლში კი $44,4 \pm 1,5\%$) მოხუცების კონტროლთან შედარებით ($66,4 \pm 2,4\%$), ხოლო 2 კლასტერიანი დიდი უჯრედების რაოდენობა კი გაიზარდა ($40,5 \pm 2,7\%$) ორივე საკონტროლო ჯგუფთან მიმართებაში ($19,9 \pm 2,1\%$ და $16,4 \pm 1,1\%$ შესაბამისად), რაც მიუთითებს უჯრედთა დიდ რიცხვზე G_1 ფაზაში.

თანამედროვე გამოკვლევათა შედეგები მიუთითებს, რომ IL-1-ის პოლიმორფიზმის გამო პოლიპეპტიდში სერინის არსებობისას ალანინის ნაცვლად 3-ჯერ და მეტად იზრდება ალცჰაიმერის დაავადების რისკი, თუმცა მიზეზი ვერაუქრობით უცნობია. ჩვენ დაეუშვით, რომ მიზეზი პრო-IL-1-ის პოსტრანსლაციურ მოდიფიკაციაში უნდა გვეძებნა. ამ მიზნით შევისწავლეთ პრო-IL-1-ის გახლენა ცნობილი პროტეაზა კალპეინ 1-ით. აღმოჩნდა, რომ ფერმენტი უფრო მაღალი ინტენსივობით ხლენს პოლიპეპტიდს სერინის არსებობისას ალანინისგან განსხვავებით.

გენოტოქსიური სტრესის შემდეგ ნეირონებში NFκB-ს დაკავშირება p300-თან ითრგუნება p53-ის გაზრდილი რაოდენობის გამო. p53-ის ფარმაკოლოგიური ინჰიბირება მნიშვნელოვნად ზრდის NFκB-ს დაკავშირებას p300-თან (Culmsee et al., 2003). ინჰიბიტორად გამოიყენება აპოპტოზის ნეგატიური რეგულატორი პიფითრინ-α (PFT), ხოლო აპოპტოზის ინდუქტორად კამპტოტეცინი (Culmsee et al., 2005).

ჩვენ მიზნად დავისახეთ გვენახა NFκB-ს აქტივობა ნეირონებში სტანდარტული აგენტის ლიპოპოლისაქარიდის (LPS) ზემოქმედების საპასუხოდ, რომელიც იწვევს მიკროგლიის აქტივაციას. EMSA ტესტმა ვერ გამოავლინა NFκB-ს დაკავშირება დნმ-თან, რაც შესაძლოა იმით აიხსნას, რომ LPS იწვევს ექსციტოტოქსიური გლუტამატის გამოთავისუფლებას და გლუტამატით განპირობებული ნეირონების დაღუპვა არ არის კასპაზების კასკადზე და შესაბამისად p53-ზე დამოკიდებული.

მრავალი სამეცნიერო შრომა მოუთითებს, იმაზე რომ ტრანსკრიპციული ფაქტორების დნმ-თან და კერძოდ გენების პრომოტორულ უბნებთან დაკავშირების ერთ-ერთ ხელშემშლელ პირობად მოიაზრება დნმ-ის მეთილირებული საიტები. ჩვენ შევისწავლეთ მეთილირების სტატუსი ცნს-ის ანთებაზე პასუხისმგებელ გენებში (TNF-α და IL-1A) და ექსპერიმენტებმა აჩვენა შედარებითი ჰიპომეთილირება.

დასკვნები

ქრომოსომათა სტრუქტურული დარღვევების შემცველ უჯრედთა საშუალო სიხშირე ალცჰაიმერით დაავადებულთა ჯგუფში სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ განსხვავდებოდა საკონტროლო ჯგუფის ხანდაზმულ ინდივიდთა შესაბამისი მაჩვენებლისაგან და აღემატებოდა საკონტროლოდ აღებულ ახალგაზრდა ინდივიდთა მაჩვენებელს, მაშინ როცა ად-ს ჯგუფისაგან განსხვავებით ქრომოსომული აბერაციების შემცველ უჯრედთა საშუალო სიხშირე ვასკულარული დემენციით დაავადებული ინდივიდების შემთხვევაში სტატისტიკურად მნიშვნელოვნად აღემატებოდა ორივე საკონტროლო ჯგუფის შესაბამის მაჩვენებლებს.

ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი სპორადიული ფორმითა და ვასკულარული დემენციით დაავადებული ინდივიდების ქრომოსომათა რაოდენობრივი დარღვევების ანალიზისას გამოვლინდა, რომ ანეუპლოიდურ და პოლიპლოიდურ უჯრედთა საშუალო პროცენტული მაჩვენებლები მნიშვნელოვნად არ განსხვავდებოდა იმავე ასაკის საკონტროლო ინდივიდთა შესაბამისი მაჩვენებლისაგან და აღემატებოდა ახალგაზრდა ჯანმრთელი დონორების მაჩვენებელს.

ალცჰაიმერის დაავადებისა და ვასკულარული დემენციის შემთხვევაში Ag-პოზიტიური ქრომოსომების რიცხვისა და აკროცენტრულ ქრომოსომათა თანამგზავრული ასოციაციების სიხშირე არ განსხვავდებოდა იმავე ასაკობრივი ჯგუფის საკონტროლო მაჩვენებლებისგან და ჩამორჩებოდა ახალგაზრდებისას.

ალცჰაიმერის დაავადების გვიანი სპორადიული ფორმითა და ვასკულარული დემენციით დაავადებულ ინდივიდებში გამოვლინდა ქრომოსომული პოლიმორფიზმი C-სტრუქტურული ჰეტეროქრომატინის ბლოკების ვარიანტების მიხედვით კონტროლთან შედარებით. ჰეტეროგენულობა, როგორც დიდი ისე

მცირე ზომის ბლოკების მიმართ, დაფიქსირდა შესწავლილი სამივე წყვილი 1-ლი, მე-9 და მე-16 ქრომოსომებისთვის.

5. დემენციის ორივე ფორმით დაავადებულ ინდივიდებში აღინიშნა ინტერფაზურ NOR-ებთან ასოცირებული ცილებით (ნუკლეოლინი და ნუკლეოფოსმინი) წარმოქმნილი ლაქების სიხშირის ცვლილება ახალგაზრდა და ხანდაზმულ ინდივიდებთან შედარებით. კერძოდ, დემენციების შემთხვევაში უფრო გაზრდილია G₁ ფაზაში მყოფი უჯრედების პროცენტული მაჩვენებელი საკონტროლოდ აღებულ მოხუც და ახალგაზრდა ინდივიდებთან შედარებით.
6. ინტერლეიკინ 1-ის გენის პოლიმორფიზმის ანალიზისას დადგინდა, რომ პრო-ინტერლეიკინის ორი ფორმა სხვადასხვა ინტენსივობით იხლიჩება კალპეინ 1-ით. როგორც ცნობილია ალცჰაიმერის დაავადების განვითარების რისკი ამინომჟავა სერინის შემთხვევაში 3-ჯერ და მეტად იმატებს, რაც შესაძლოა აიხსნას ინტერლეიკინის განსხვავებული პოსტტრანსლაციური გახლჩვიით.
7. ლიპოპოლისაქარიდისა და პიფითრინ α-ს კომბინირებულმა მოქმედებამ ნეირონებზე ვერ გამოავლინა ბირთვული ფაქტორის NFκB-ს დაკავშირება დნმ-თან, რაც შესაძლოა იმით აიხსნას, რომ NO-თი პროვოცირებული ნეირონთა აპოპტოზური დაღუპვა არ არის დამოკიდებული p53 ცილაზე.
8. ალცჰაიმერის დაავადებისას ნერვული ქსოვილის ანთებაზე პასუხისმგებელი გენების მეთილირების ხარისხის ანალიზმა გამოავლინა ჰიპომეთილირება აღნიშნული პათოლოგიის დროს ნორმასთან შედარებით.

ლიტერატურის სია

- სოლომონია ბ. ბიოქიმია, 2000, ტომი II.
- Бактон К., Еванс Г. Методы анализа хромосомных aberrаций у человека. ВОЗ, Женева, 1975, 3-64.
- Грабовская И. Л., Мамаева С. Е., Мамаев Н. Н. Изучение способности к серебрению и ассоциациям акроцентрических хромосом нормальных и лейкозных клеток человека. Цитология, 1986, 28, 6, 350-359.
- Демин С. Ю. Основные типы и жизненные формы периферических и фрагментированных лимфоцитов человека, выявляемые in vitro. Цитология, 2003, 6, 535-547.
- Захаров А. Ф., Бенюш В. А., Кулешов Н. П., Барановская Л. И. Хромосомы человека, 1982, 3-261.
- Ильинских И. Клиническая медицина, 1989, 5, 44-47.
- Лежава Т. А. Морфология акроцентрических хромосом человека. Цитология, 1966, 10,2, 241-246.
- Лежава Т. А., Читашвили Р. Я., Хмаладзе Е. В. Частота акроцентрических хромосом с выраженными спутниками при наличии ассоциаций или без них в старческом возрасте. Труды Тбилис. гос. универ., 1977, 192, 59-65.
- Мамаев Н. Н., Мамаева С. Е., Ушакова Е. А., Либуркина И. А., Позняк Е. Н. Результаты изучения активности ядрышковых организаторов клеток костного мозга больных множественной миеломой. Цитология и генетика, 1986, 20,2, 91-96.
- Прокофьева-Бельговская А. А. Природа ассоциаций акроцентрических хромосом человека. Цитология, 1966, 8,2, 169-178.
- Прокофьева-Бельговская А. А. Гетерохроматические районы хромосом. Наука, 1986, 3-431.
- Рогаев Е. Н. Генетические факторы и полигенная модель болезни Альцгеймера. Генетика, 1999, 11, 1558-1571.

- Рогоаев Е. Н. Пресенилины: обнаружение и характеристика генов болезни Альцгеймера. Молекулярная биология, 1998, 78-83.
- Селко Д. Стареющий мозг. В мире науки, 1992, 11-12.
- Созанский О. А., Терехов С. М. Клонарный анализ ядрышко-образующих районов хромосом человека. Бюл. биологии и медицины, 1984, 5, 592-595.
- Фернандес Р., Самуельс М. Нарушение интеллекта. 1993.
- Фролов А. К. Частота ассоциаций акроцентрических хромосом в длительной культуре лимфоцитов человека. Цитология и генетика, 1986, 20,3, 166-171.
- Addae J., Youssef F., Stone T. Neuroprotective role of learning in dementia: a biological explanation. Am J of AD and other Dem., 2005, 14(6), 91-104.
- Aliev G., Seyidova D., Neal ML., Shi J., et. al., Atherosclerotic lesions and m-DNA deletions in brain microvessels as a central target of the development of human AD and AD-like pathology in aged transgenic mice. Ann. NY. Acad. Sci., 2002, Nov. 45-64.
- Andriadze M. I., Pleskach N. M., Zhestyanikov V. D., Mikhelson V. M., Sigua N. N. The rate of spontaneous and mitomycin C induced associations in lymphocytes of healthy donors and patients with xeroderma pigmentosum. Symp. aging cytoген., 1989, 34.
- Bajaj NP., Irving NG., Leigh PN., Miller CCJ. Alzheimer's disease, amyotrophic lateral sclerosis and transgenic mice. Neurol. Neurosurg. Psychiatry, 1998, 711-715. |
- Baldini P. M., Marlekaj P., Felli M. P., Ravenna L., Camaioni A., De Capoa A. Environmental regulation of rRNA gene expression in individual cells. Abstr. Eur. Soc. Human Genet., 1985, 18 symp. Budapest, 5.
- Ballard C. Alzheimer's disease and diabetes mellitus. N Engl J Med., 2004, 312(9), 264-68.
- Baloyannis St., Costa V., Michmizos D. Mitochondrial alterations in Alzheimer's disease. Amer J of Alzheimer's disease and other dementias. 2004, 19, 89-93.

- Banati RB., Gehrmann J., Schubert P., Kreutzberg GW. Cytotoxicity of microglia. *Glia*, 1993, 7, 111-118.
- Barger SW. An unconventional hypothesis of oxidation in Alzheimer's disease: intersections with excitotoxicity. *Front Biosci.*, 2004, 9, 3286-95.
- Barger SW. Vascular consequences of passive Abeta Immunization for Alzheimer's disease. Is avoidance of "malactivation" of microglia enough? *J Neuroinflammation*, 2005, 2(1), 2.
- Barnham KJ., McKinstry WJ., Multhaup G., Galatis D., Morton CJ., Curtain CC., Williamson NA., White AR., Hinds MG., Norton RS., Beyreuther K. et al., Structure of the Alzheimer's disease amyloid precursor protein copper binding domain. A regulator of neuronal copper homeostasis. *J Biol Chem.*, 2003, 278(19), 17401-7.
- Battaini F., Pascale A., Lucchi L., Pasinetti GM., Govoni S. Protein kinase C anchoring deficit in postmortem brains of Alzheimer's disease patients. *Exp Neurol.*, 1999, 159(2), 559-64.
- Bayer TA., Schafer S., Simons A., Kemmling A., Kamer T., Tepest R., Eckert A., Schussel K., Eikenberg O., Sturchler-Pierrat C., Abramowski D., Staufenbiel M., Multhaup G. Dietary Cu stabilizes brain superoxide dismutase 1 activity and reduces amyloid A β production in APP23 transgenic mice. *PNAS.*, 2003, 100, 24, 14187-14192.
- Becaria A., Bondy SC., Campbell A. Aluminium and copper interact in the promotion of oxidative but not inflammatory events: Implications for Alzheimer's disease. *Am J of AD and other Dem.*, 2005, 15(4), 31-38.
- Bellingham SA., Ciccotosto GD., Needham BE., Fodero LR., White AR., Masters CL., Cappai R., Camakaris J. Gene knockout of amyloid precursor protein and amyloid precursor-like protein-2 increases cellular copper levels in primary mouse cortical neurons and embryonic fibroblasts. *J Neurochem.*, 2004, 91(2), 423-8.
- Bernstein R., Dawson B., Griffiths G. Human inherited marker chromosome 22 short-arm enlargement: investigation of rDNA gene multiplicity, Ag-band size and acrocentric association. *Hum Genet.*, 1981, 58, 2, 135-139.

- Bertoli A. M., Marcheco Teruel B., Llibre Rodriguez J. J., et. al., A novel presenilin 1 mutation (L174M) in a large Cuban-family with early onset Alzheimer disease. *Neuroscience.*, 2001, **34(8)**, 169-174.
- Bertram L., Blacker D., Mullin K., et. al., Evidence for genetic linkage of Alzheimer's disease to chromosome 10q. *Science*, 2000, Dec.22, vol.290.
- Bertram L., Hiltunen M., Parkinson M., Ingelsson M., Lange C., Ramasamy K., Mullin K., Menon R., Sampson AJ., et al., Family-based association between Alzheimer's disease and variants in UBQLN1. *N Engl J Med.*, 2005, **352(9)**, 884-94.
- Bird T. D., Genetic Factors in Alzheimer's disease. *N Engl J Med.*, 2005, **352(9)**, 862-4.
- Blanchard BJ., Chen A., Rozeboom LM., Stafford KA., Weigele P., Ingram VM. Efficient reversal of Alzheimer's disease fibril formation and elimination of neurotoxicity by a small molecule. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, **101(40)**, 14326-14332.
- Bloom S., Goodpasture C. An improved technique for selective silver staining of nucleolar organizer regions in human chromosomes. *Hum Genet.*, 1976, **34**, 199-206.
- Bodles AM., Barger SW. Secreted beta-amyloid precursor protein activates microglia via JNK and p38-MAPK. *Neurobiol Aging*, 2005, **26(1)**, 9-16.
- Borjesson-Hanson A., Edin E., Gislason T., Skoog I. The prevalence of dementia in 95 year olds. *Neurology*, 2004, **63(12)**, 2436-8.
- Bradley WG., Polinsky RJ., Pendlebury WW., Jones SK., et al., DNA repair deficiency for alkylation damage in cells from Alzheimer's disease patients. *Prog Clin Biol Res.*, 1989, 715-32.
- Bramblett GT., Trojanowski JQ., Lee VM. Regions with abundant neurofibrillary pathology in human brain exhibit a selective reduction in levels of binding-competent tau and accumulation of abnormal tau-isoforms (A68 proteins). *Lab Invest.*, 1992, **66(2)**, 212-22.

- Brangman S. Long-term cholinesterase inhibitor therapy for Alzheimer's disease: Implications for long-term care. *Am J of AD*, 2003, **19(4)**, 79-84.
- Breitner JCS. The role of anti-inflammatory drugs in the prevention and treatment of Alzheimer's disease. *Annu. Rev. Med.*, 1996, **47**, 401-411.
- Brown J., Rossor M. Vascular and other dementias. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*. 2004, **57**, 417-418.
- Burack MA., Halpain S. Site-specific regulation of Alzheimer-like tau phosphorylation in living neurons. *Neuroscience*, 1996, **72(1)**, 167-84.
- Canet V., Montmasson MP., Usson Y., Giroud F., Brugal G. Correlation between silver-stained nucleolar organizer area and cell cycle time. *Cytometry*. 2001, **43(2)**, 110-6.
- Caroline C., Klaver W., Kliffen M., et al., (1998). Genetic association of apolipoprotein E with age-related macular degeneration. *Am J Hum Genet.*, 1998, 200-206.
- Cash AD., Aliev G., Siedlak SL., Nunomura A., Fujioka H., Zhu X., Raina AK., Vinters HV., Tabaton M., Johnson AB., Paula-Barbosa M., Avila J., Jones PK. et al., Microtubule reduction in Alzheimer's disease and aging is independent of tau filament formation. *Am J Pathol.*, 2003, **162(5)**, 1623-7.
- Cheng D., Huang R., Lanham IS., Cathcart HM., Howard M., Corder EH., Poduslo SE. Functional interaction between APOE4 and LDL receptor isoforms in Alzheimer's disease. *J Med Genet.*, 2005, **42**, 129-131.
- Cherny RA., Atwood CS., Xilians ME., Gray DN., Jones WD., McLean CA., Barnham KJ., Vqlitakis I., Fraser FW., Kim Y., Huang X., Goldstein LE. et al., Treatment with copper-zinc chelator markedly and rapidly inhibits beta-amyloid accumulation in Alzheimer's disease transgenic mice. *Neuron.*, 2001, **30(3)**, 665-676.
- Choi J., Conrad CC., Dai R., Malakowsky N., et al., Vitamin E prevents oxidation of antiapoptotic proteins in neuronal cells. *Hum Genet.*, 2002, **23(6)**, 884-9.

- Clark CM., Karlawish JH. Alzheimer disease: current concepts and emerging diagnostic and therapeutic strategies. *Ann Intern Med.*, 2003, Mar.4, 400-10.
- Caussen U., Michel S., Muhlig P., Westermann M., Grummt UW., Kromeyer-Hauschild K., Liehr T. Demystifying chromosome preparation and the implications for the concept of chromosome condensation during mitosis. *Cytogenet Genome Res.* 2002, **98(2-3)**:136-46.
- Clayson DB., Mehta R., Iverson F. International commission for protection against environmental mutagens and carcinogens. oxidative DNA damage--the effects of certain genotoxic and operationally non-genotoxic carcinogens. *Mutat Res.* 1994, **317(1)**:25-42.
- Coens C., Ahmed I., Commings M., Rosenthal I. Association of double NOR variant with Turner syndrome. *Amer J Med Genet.*, 1988, **30, 3**, 725-732.
- Confaloni A., Terreni L., Piscopo P., Crestini A., Campeggi LM., Frigerio CS., Blotta I., Perri M., Di Natale M., Maletta R., Marcon G., Franceschi M. et al., *Neurosci Lett.*, 2003, **353(1)**, 61-5.
- Cosentino SA., Jefferson AL., Carey M., Price CC., Davis-Garett K., Swenson R., Libon DJ. The clinical diagnosis of vascular dementia: A comparison among four classification system and a proposal for a new paradigm. *Clin Neuropsychol.*, 2004, **18(1)**, 6-21.
- Culmsee J., Siewe V., Junker M., Retiounskaia S., Schwarz S., Camandola S., El-Metainy H., Behnke MP., Mattson J. Reciprocal inhibition of p53 and nuclear factor kappaB transcriptional activities determines cell survival or death in neurons. *J. Neurosci.*, 2003, **23**, 8586-8595.
- Culmsee C., Zhu X., Yu QS., Chan SL., Camandola S., Guo Z., Greig NH., Mattson MP. A synthetic inhibitor of p53 protects neurons against death induced by ischemic and excitotoxic insults and amyloid beta-peptide. *J. Neurochem.*, 2001, **77**, 220-228.
- Cummings Jeffrey. Alzheimer's disease. *N Engl J Med.*, 2004, **398(9)**, 954-9.
- Cutler S. To test or not to test: Interest in genetic testing for Alzheimer's disease among middle-aged adults. *Am J of AD*, 2003, **19(4)**, 9-20

- da Silva AM., Payao SL., Borsatto B., Bertolucci PH., Smith MA. Quantitative evaluation of the rRNA in Alzheimer's disease. *Mech Ageing Dev.*, 2000, Dec. 57-64.
- De Capoa A., Ferraro M., Menender F., Mostacci C., pelliccia F., Rocchi A. Ag-staining of the nucleolus organizer (NO) and its relationship to satellite association. *Human Genetics*, 1978, **44**, 1, 71-77.
- De Capoa A., Marlekaj P., Baldini A., Ricchi M., Archidiacono N. Cytologic demonstration of differential activity of rRNA gene clusters in different human tissues. *Human Genetics*, 1985, **69**, 3, 212-217.
- DeKosky ST., Scheff SW. Synapse loss in frontal cortex biopsies in Alzheimer's disease: correlation with cognitive severity. *Ann. Neurol.*, 1990, **27**, 457-464.
- de laMonte SM., Sohn YK., Wands JR. Correlates of p53 and Fas (CD95)-mediated apoptosis in Alzheimer's disease. *J. Neurol. Sci.*, 1997, **152**, 73-83.
- Derenzini M. The AgNORs. *Micron.*, 2000, **31**(2), 117-20.
- Derenzini M., Sirri V., Pession A., Trere D., Roussel P., Ochs RL., Hernandez-Verdun D. Quantitative changes of the two major AgNOR proteins, nucleolin and protein B23, related to stimulation of rDNA transcription. *Exp Cell Res.*, 1995, **219**(1), 276-82.
- Derenzini M., Sirri V., Trere D., Ochs RL. The quantity of nucleolar proteins nucleolin and protein B23 is related to cell doubling time in human cancer cells. *Lab Invest.*, 1995, **73**(4), 497-502.
- Derenzini M., Trere D. AgNOR proteins as a parameter of the rapidity of cell proliferation. *Zentralbl Pathol.*, 1994, **140**(1), 7-10.
- Derenzini M., Trere D. Silver-stained nucleolar organizer regions (AgNOR). *Pathologica.*, 2001, **93**(2), 99-105.
- Derenzini M., Trere D. Importance of interphase nucleolar organizer regions in tumor pathology. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol.*, 1991, **61**(1), 1-8.
- Dodart JC., Marr RA., Koistinacho M., Gregersen BM., Malkani S., Verma IM., Paul SM. Gene delivery of human apolipoprotein E alters brain Abeta burden in a

- mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 2005, **102(4)**, 1211-1216.
- Du Y., Dodel RC., Eastwood BJ., Bales KR., Gao F., Lohmuller F., Muller U., Kurz A., Zimmer R., Evans RM., Hake A., Gasser T., Oertel WH., Griffin WS., Paul SM., Farlow MR. Association of an interleukin 1 alpha polymorphism with Alzheimer's disease. *Neurology*, 2000, **55**, 480-483.
 - Dubler N., Melnick V. Alzheimer's disease. *Organic Mental Disorders*, 1985, 278-285.
 - Eckenhoff RG., Johansson JS., Wei H., Carnini A., Kang B., Wei W., Pidikiti R., Keller JM., Eckenhoff MF. Inhaled anesthetic enhancement of amyloid-beta oligomerization and cytotoxicity. *Anesthesiology*, 2004, **101(3)**, 703-9.
 - Evans H., Buckland R., Pardue M. Location of the genes coding for 18S and 28S ribosomal RNA in the human genome. *Chromosoma*, 1974, **48**, 405-426.
 - Fenech M., Morley A. The effect of donore age on spontaneous and induced micronuclei. *Mutat Res.*, 1985, **148**, 112, 99-105.
 - Ferguson-Smith M. A., Handmaker S. D. (1963). The association of satellited chromosomes with specific, chromosomal regions in cultured human somatic cells. *Ann Hum Genet.*, 1963, **27**, 143-156.
 - Fernandez R., Barragan M., Bullejos M., Marchal J., Diaz L., Sanchez A. New C-band protocol by heat denaturation in the presence of formamide. *Hereditas*, 2002, **137**: 145-148.
 - Ferrer I. Stress kinases involved in tau phosphorylation in Alzheimer's disease, taupathies and APP transgenic mice. *Neurotox Res.*, 2004, **6(6)**, 469-75.
 - Feuk L., Prince JA., Blennow K., Brookes AJ. Further evidence for role of a promoter variant in the TNFRSF6 gene in Alzheimer disease. *Hum Mutat.*, 2003, Jan.21, 53-60.
 - Foguel D., Silva JL. New insights into the mechanisms of protein misfolding and aggregation in amyloidogenic diseases derived from pressure studies. *Biochemistry*, 2004, **43(36)**, 11361-70.

- Frank M. LaFerla. Calcium dyshomeostasis and intracellular signalling in Alzheimer's disease. *Nature Reviews Neuroscience* 1, 2000.
- Frank M. LaFerla. Apolipoprotein E receptors: linking brain development and Alzheimer's disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 2002, 51-58.
- Frenkel D., Dewachter I., Van Leuven F., Solomon B. Reduction of beta-amyloid plaques in brain of transgenic mouse model of Alzheimer's disease by EFRH-phage immunization. *Neuroscience*, 2003, **41(4)**, 354-58.
- Gamliel A., Teicher C., Hartmann T., Beyreuther K., Stein R. Overexpression of wild-type presenilin 2 or its familial Alzheimer's disease-associated mutant does not induce or increase susceptibility to apoptosis in different cell lines. *Neuroscience*, 2003, **117(1)**, 19-28.
- Ghiso J., Vidal R., Rostagno A., Miravalle L., et. al., Amyloidogenesis in familial British dementia is associated with a genetic defect on chromosome 13. *Ann NY Acad Sci.*, 2000, 84-92.
- Godfrey ME., Wojcik DP., Krone CA. Apolipoprotein E genotyping as a potential biomarker for mercury neurotoxicity. *Am J of AD and other Dem.*, 2005, **15(4)**, 112-118.
- Grammas P., Ottman T., Reimann-Philipp U., Larabee J., Weigel P. Injured brain endothelial cells release neurotoxic thrombin. *Journal of Alzheimer's disease*. 2004, **6**, 53-65.
- Griffin WST., Stanley LC., Ling C., White L., MacLeod V., Perrot LJ., White CLI., Araoz C. Brain interleukin 1 and S-100 immunoreactivity are elevated in Down syndrome and Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1989, **86**, 7611-7615.
- Grimaldi LM., Casadei VM., Ferri C., Veglia F., Licastro F., Annoni G., Biunno I., De Bellis G., Sorbi S., Mariani C., Canal N., Griffin WS., Franceschi M. Association of early-onset Alzheimer's disease with an interleukin 1 alpha gene polymorphism. *Ann. Neurol.*, 2000, **47**, 361-365.

- Grouchy I., Thieffery S., Arthuis M., Gerbeaus J., Poupinet S., Salmon Ch., Lamy M. Chromosomes margueurs familiaux et aneuploidie. Role possible de l'interaction chromosomique. *Ann Genet.*, 1964, **7**, 76-83.
- Grummt I., Roth E., Paule M. R. Ribosomal RNA transcription in vitro is species specific. *Nature*, 1982, **296**, 5853, 173-174.
- Hachinski VC., Liff LD., Kilhka M. et al., Cerebral blood flow in dementia. *Archives of Neurology*, **32**, 632-637.
- Hanon O., Forette F. Prevention of dementia: lessons from SYST-EUR and PROGRESS. *J Neurol Sci.*, 2004, **226(1-2)**, 71-4.
- Hasegawa M. Frontotemporal dementia: tau mutations, deposition, and molecular mechanisms of neuronal cell death. *Rinsho Shinkeigaku.*, 2004, **44(11)**, 879-81.
- Hedera P., Turner RS. Inherited dementias. *Neurol. Clin.*, 2002, Aug. 779-808.
- Heese K., Nagai Y., Sawada T. Comparative gene identification 94-a pivotal regulator of apoptosis. *Hum Genet.*, 2003, **14(6)**, 112-115.
- Heliot L., Mongelard F., Clein Ch., O'Donohue MF., Chassery JM., Robert-Nicoud M., Usson Y. Nonrandom distribution of metaphase AgNOR staining patterns on human acrocentric chromosomes. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 2000, **48**, 13-20.
- Hentschel F., Kreis M., Damian M., Krumm B. Does magnetization transfer ratio (MTR) contribute to the diagnosis and differential diagnosis of the dementias? *Rofo.*, 2004, **176(12)**, 1743-9.
- Hestiantoro A., Swaab D. F. Changes in estrogen receptor-alpha and -beta in the infundibular nucleus of the human hypothalamus are related to the occurrence of Alzheimer's disease neuropathology. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2004, **89(4)**, 1912-25.
- Hittmair A., Ofner D., Offner F., Feichtinger H., Ensinger C., Rogatsch H., Mikuz G. In vitro investigations of interphase and metaphase argyrophilic nucleolar organizer regions and cellular proliferation in the human urothelial cancer cell line HOK-1. *Virchows Arch.*, 1994, **424(2)**, 149-54.

- House E., Collingwood J., Khan A., Korchazkina O., Berthon G., Exley Ch. Aluminium, iron, zinc and copper influence the in vitro formation of amyloid fibrils of A β 42 in a manner which may have consequences for metal chelation therapy in Alzheimer's disease. *Am J of AD*, 2004, **6(1)**, 48-53.
- Hsuing GY., Sadovnick AD., Feldman H. Apolipoprotein E epsilon4 genotype as a risk factor for cognitive decline and dementia: data from the Canadian Study of Health and Aging. *CMAJ.*, 2004, **171(8)**, 863-67.
- Ikonovic MD., Mufson EJ., Wu J., Cochran EJ., Bennett DA., DeKosky ST. Cholinergic plasticity in hippocampus of individuals with mild cognitive impairment: correlation with Alzheimer's neuropathology. *Am J of AD and other Dem.*, **15(4)**, 39-48.
- Jack E., Harrison C., Allen T., Harris R. The structural basis for C-banding. A scanning electron microscopy study. *Chromosoma*, 1985, **91, 5**, 363-368.
- Jindahra P., Vejjajiva A., Witoonpanich R., Sirisriro R., Sritara C., Pulkes T. Differentiation of dementia with Lewy bodies, Alzheimer's disease and vascular dementia by cardiac 131I-meta-iodobenzylguanidine (MIBG) uptake (preliminary report). *J Med Assoc Thai.*, 2004, **87(10)**, 1176-81.
- Joachim CL., Mori H., Selkoe DJ. Amyloid beta-protein deposition in tissues other than brain in Alzheimer's disease. *Nature*, 1989, **341(6239)**, 226-30.
- Junera HR., Masson C., Geraud G., Hernandez-Verdun D. The three-dimensional organization of ribosomal genes and the architecture of the nucleoli vary with G1, S and G2 phases. *J Cell Sci.*, 1995, **108 (Pt 11)**, 3427-41.
- Kadotani T., Watanabe Y., Makino S. The incidence of satellite associations in D and G-group chromosomes and maternal aging. *Proc. Japan Acad.*, 1978, **54, 6**, 277-282.
- Katzman R. A neurologist's view of Alzheimer's disease and dementia. *Int Psychogeriatr.*, 2004, **16(3)**, 259-73.

- Kim HS., Lee JH., Lee JP., Kim EM., et. al., Amyloid beta peptide induces cytochrome C release from isolated mitochondria. *Neuroreport.*, 2002, Oct.28, 1989-93.
- Klein J., Grummt I. Cell cycle-dependent regulation of RNA polymerase I transcription: the nucleolar transcription factor UBF is inactive in mitosis and early G1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999, **96(11)**, 6096-101.
- Kolsh H., Linnebank M., Lutjohann D., Jessen F., Wullner U., Harbrecht U., Thelen KM., Kreis M., Hentschel F., Schulz A., Bergmann K., Maier W., Heun R. Polymorphisms in glutathione S-transferase omega-1 and AD, vascular dementia, and stroke. *Neurology*, 2004, **63(12)**, 2255-60.
- Konrad Beyreuther. *Molecular Neurobiology of Alzheimer's Disease. Annual Report.*, 2002.
- Kormann-Bortolotto M. H., Smith Mde A., Toniolo Neto J. Fragile sites, Alzheimer's disease and aging. *Mech Ageing Dev.*, 1992, **65(1)**, 9-15.
- Kowalska A. Genetic aspects of amyloid beta-protein fibrillogenesis in Alzheimer's disease. *Folia Neuropathol.*, 2004, **42(4)**, 235-7.
- Lee W., Kim Y., Lee KY., Kang CS., Lee W., Lee KS., Shim SI., Han K. AgNOR of human interphase cells in relation to acrocentric chromosomes. *Cancer Genet Cytogenet.*, 1999, **113(1)**, 14-8.
- Lemere CA., Spooner ET., Leverone JF., Mori C., Iglesias M., Bloom JK., Seabrook TJ. Amyloid-beta immunization in Alzheimer's disease transgenic mouse models and wildtype mice. *Neurochem Res.*, 2003, **28(7)**, 1017-27.
- Lezhava T. A. The activity of nucleolar organizer regions of human chromosomes in extreme old age. *Gerontology*, 1984, **30**, 94-99.
- Lezhava T. A. Heterochromatinization as a key factor in ageing. *Mech Ageing and Dev.*, 1984, **28(2-3)**, 279-288.
- Lezhava T. A., Chitashvili R. Y., Khmaladze E. Y. Use of the mathematical "Satellite Model" for associations of acrocentric chromosomes depending on human age. *Bio-Medical Computing.*, 1972, **3**, 101-199.

- Lezhava T., Dvalishvili N. Cytogenetic and Biochemical studies on the nucleolus organizing regions of chromosomes in vivo and in vitro aging. *Ag.*, 1992, **15**, 41-43.
- Lezhava T. Chromosomes in very senile age: 80 years and over. 1999, Moscow, "Nauka", 3-225.
- Licastro F., Pedrini S., Ferri C., Casadei V., Govoni M., Pession A., Sciacca FL., Veglia F., Annoni G., Bonafe M., Olivieri F., Franceschi C., Edoardo Grimaldi LM. Gene polymorphism affecting alpha 1- antichymotrypsin and interleukin-1 plasma levels increases Alzheimer's disease risk. *Ann. Neurol.*, 2000, **48**, 388-391.
- Lorand-Metze I., Carvalho MA., Metzke K. Relationship between morphometric analysis of nucleolar organizer regions and cell proliferation in acute leukemias. *Cytometry*. 1998, **32(1)**, 51-6.
- Lu DC., Shaked GM., Masliah E., Bredesen DE., Koo EH. Amyloid beta protein toxicity mediated by the formation of amyloid-beta protein precursor complexes. *Ann Neurol.*, 2003, **54(6)**, 781-9.
- Lu W., Tang H., Fan M., Mi R., Wang L., Jia J. Research on nucleolar organizer regions of hippocampal neurons in Alzheimer's disease. *Chin Med J.*, 1998, Mar. 282-4.
- Lue LF., Brachova L., Civin WH., Rogers J. Inflammation, A β deposition, and neurofibrillary tangle formation as correlates of Alzheimer's disease neurodegeneration. *J. Neuropath. Exper. Neurol.*, 1996, **55**, 1083-1088.
- Luedeking-Zimmer E., De Kosky S. T., Cher Q., Barnada M. M., Kamboh MI. Investigation of oxidized LDL-receptor 1 (OLR1) as the candidate gene for Alzheimer's disease on chromosome 12. *Neurogenetics*, 2001, **32(7)**, 412-15.
- Lundgren M., Chow CM., Sabbattini P., Georgiou A., Minace S., Dillon N. Transcription factor dosage affects changes in higher order chromatin structure associated with activation of a heterochromatic gene. *Cell*. 2000, **103(5)**:733-43.
- Maden B., Edvard H., Dent C. L., et. al., Clones of human ribosomal RNA containing the complete 18S-rRNA and 28S-rRNA genes. Characterization, a

detailed map of the human ribosomal transcription unit and diversity among clones. *Biochem J.*, 1987, **246**, 2, 519-527.

- Malaguarnera M., Bella R., Alagona G., Ferri R., Carnemolla A., Pennisi G. *Helicobacter pylori* and Alzheimer's disease: a possible link. *Eur J Intern Med.*, 2004, **15**(6), 381-386.
- Marks N., Berg MJ. APP processing enzymes (secretases) as therapeutic targets: insights from the use of transgenics (Tgs) and transfected cells. *Neurochem Res.*, 2003, **28**(7), 1049-62.
- Mattson MP. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *J. Neurosci.*, 2004, **430**, 631-639.
- Mattson MP., Camandola S. NF-kappaB in neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *J. Clin. Invest.*, 2001, **107**, 247-254.
- Matsui S., Sandberg A. A. Intranuclear compartmentalization of DNA-dependent RNA polymerases: association of RNA polymerase I with nuclear organizing chromosomes. *Chromosoma*, 1985, **92**, 1, 1-6.
- Matsui S., Fuke M., Chai L., Sandberg A. A., Ellassouli S. N-band proteins of nucleolar organizers: chromosomal mapping, subnucleolar localization and rDNA binding. *Chromosoma*, 1986, **93**, 231-242.
- Maynard CJ., Cappai R., Volitakis I., Cherny RA., White AR., Beyreuther K., Masters CL., Bush AI., Li QX. Overexpression of Alzheimer's disease amyloid-beta opposes the age-dependent elevations of brain copper and iron. *J Biol Chem.*, 2002, **277**(47), 44670-6.
- McKeith IG., Burn DJ., Ballard CG., et. al., Dementia with lewy bodies. *Semin Clin Neuropsychiatry*, 2003, Jan. 46-57.
- Medina FJ., Cerdido A., Fernandez-Gomez ME. Components of the nucleolar processing complex (pre-RNA, fibrillarin and nucleolin) colocalize during mitosis and are incorporated to daughter cell nucleoli. *Exp Cell Res.*, 1995, **221**(1), 111-25.
- Meshia JF., Brott TG., Brown RD. Genetics of cerebrovascular disorders. *Mayo Clin Proc.*, 2005, **80**(1), 122-32.

- Migliore L., Testa A., Scarpato R., Pavese N., Petrozzi L., Bonuccelli U. Spontaneous and induced aneuploidy in peripheral blood lymphocytes of patients with Alzheimer's disease. *Hum Genet.*, 1997, Dec. 299-305.
- Migliore L., Botto N., Scarpato R., Petrozzi L., Cipriani G., Bonuccelli U. Preferential occurrence of chromosome 21 malsagregation in peripheral blood lymphocytes of AD patients. *Cytogenet Cell Genet.*, 1999, 41-6.
- Melaragno MI., Smith A., Kormann-Bortolotto MH., Toniolo Neto JT. Lymphocyte proliferation and sister chromatid exchange in Alzheimer's disease. *Gerontology*, 1991, 293-8.
- Metcafe T., Bowen DM., Muller DP. Vitamin E concentrations in human brain of patients with Alzheimer's disease, fetuses with Down's syndrome, centenarians and controls. *Neurochem Res.*, 1989, **14**(12), 1209-12.
- Mikelsaar A. V., Ilus T. Populational polymorphism in silver staining of nucleolus organizer regions (NORs) in human acrocentric chromosomes. *Human genetics*, 1979, **51**, 281-285.
- Mikelsaar A. V., Schwarzacher H. G., Schnede W., et. al., Inheritance of Ag-stainability of nucleolus organizer regions. Investigations in 7 families with trisomy 21. *Human Genet.*, 1977, **38**, 183-188.
- Miller D., Tantravahi R., Dev V., Miller O. Frequency of satellite association of human chromosomes is correlated with amount of Ag-staining of the nucleolus organizer region. *Amer J Human Genet.*, 1977, **29**, 490-502.
- Molinuevo J. Memantine. *Neurologia*, 2003, **18**(5), 255-261.
- Moir RD., Tseitlin KA., Soccia S., Hyman BT., Irizarry MC., Tanzi RE. Autoantibodies to redox-modified oligomeric Abeta are attenuated in the plasma of Alzheimer's disease patients. *J Biol Chem.*, 2005, **280**(17), 17458-63.
- Molinuevo L., Garcia-Gill V., Villar A. Memantine: An antiglutamatergic option for dementia. *Amer J of Alzheimer's disease and other dementias*. 2004, **19**, 10-18.

- Moorhead P., Nowell P., Mellman W., Battips D., Hungerford D. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res.*, 1960, **20**, **3**, 613-616.
- Moretti R. Exelon (Rivastigmine) beneficial in subcortical vascular dementia. Second International Congress on Vascular Dementia in Salzburg, Zaustria. Jan.28, 2002.
- Moretti R., Torre P., Antonello R., Cattaruzza T., Cazzato G., Bava A. Olanzapine as a possible treatment for anxiety due to vascular dementia: An open study. *Amer J of Alzheimer's disease and other dementias.* 2004, **19**, 81-88.
- Morimoto Y., Kito S., Ohba T., Morimoto H., Okamura H., Haneji T. Alteration of argyrophilic nucleolar organizer region associated (Ag-NOR) proteins in apoptosis-induced human salivary gland cells and human oral squamous carcinoma cells. *J Oral Pathol Med.*, 2001, **30**(4), 193-9.
- Mukherjee A., Weinstein M. Sequence of centromere separation of mitotic chromosomes during human cellular aging. *Vech Aging and Dev.*, 1988, **45**, **1**, 59-64.
- Multhaup G., Scheuermann S., Schlicksupp A., Simons A., Strauss M., Kemmling A., Oehler C., Cappai R., Pipkorn R., Bayer TA. Possible mechanisms of APP-mediated oxidative stress in Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med.*, 2002, **33**(1), 45-51.
- Nakagome Y., Abe T., Misawa S., Takeshita T., Linuma K. The "loss" of centromeres from chromosomes of aged women. *Amer J Hum Genet.*, 1984, **36**, **2**, 298-404.
- Nicoll JAR., Mrak RE., Graham DI., Stewart J., Wilcock G., MacGowan S., Esiri MM., Murray LS., Dewar D., Love S., Moss T., Griffin WST. Association of interleukin-1 gene polymorphism with Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.*, 2000, **47**, 365-368.

- Nielsen AS., Ravid R., Kamphorst W., Jorgensen OS. Apolipoprotein E $\epsilon 4$ in an autopsy series of various dementing disorders. *Am J of AD and other Dem.*, 2005, **14(6)**, 119-125.
- Panza F., Solfrizzi V., D'Introno A., Capurso C., et. al., Genetics of late-onset Alzheimer's disease: vascular risk and beta-amyloid metabolism. *Recent Prog Med.*, 2002, Sep. 489-97.
- Pantoni L. Treatment of vascular dementia: evidence from trials with non-cholinergic drugs. *J Neurol Sci.*, 2004, **226(1-2)**, 67-70.
- Panza F., D'Introno A., Colacicco AM., Basile AM., Capurso C., Kehoe PG., Capurso A., Solfrizzi V. Vascular risk and genetics of sporadic late-onset Alzheimer's disease. *J Neural Transm.*, 2004, **111(1)**, 69-89.
- Papassotiropoulos A., Steffer JR., Tzolaki M., et. al., Increased brain beta-amyloid load, phosphorylated tau and risk of Alzheimer's disease associated with an intronic CYP46 polymorphism. *Neurology*, 2003, **12(6)**, 16-20.
- Patil S., Lubs M. Classification of 9th regions in human chromosomes 1, 9, 16 by C-banding. *Hum Genet.*, 1977, **38, 1**, 35-38.
- Payao SL., Smith M., Kormann-Bortolotto MH., Toniolo J. Investigation of the nucleolar organizer regions in Alzheimer's disease. *Gerontology*, 1994, 13-7.
- Payao SL., Smith MD., Bertolucci PH. Differential chromosome sensitivity to 5-azacytidine in Alzheimer's disease. *Gerontology*, 1998, **44(5)**, 267-71.
- Percy ME., Dearie TG., Jabs EW., Bauer SJ., Chodakowski B., Somerville MJ., Lennox A., McLachlan DR., Baldini A., Miller DA. Family with 22-derived marker chromosome and late-onset dementia of the Alzheimer type: II. Further cytogenetic analysis of the marker and characterization of the high-level repeat sequences using fluorescence in situ hybridization. *Am J Med Genet.*, 1993, **47(1)**, 14-9.
- Pession A., Farabegoli F., Trere D., Novello F., Montanaro L., Sperti S., Rambelli F., Derenzini M. The Ag-NOR proteins and transcription and duplication ribosomal genes in mammalian cell nucleoli. *Chromosoma*. 1991, **100(4)**, 242-50.

- Petrozzi L., Lucetti C., Scarpato R., et. al., Cytogenetic alterations in lymphocytes of Alzheimer's disease and Parkinson's disease patients. *Mutagenet.*, 1999, 39-42.
- Podugolnikova O., Sushanlo H., Parfenova A., Prokofieva-Belgovskaja A. The quantitative analysis of polymorphism on human chromosomes 1, 9, 16 and Y. II. Comparison of the C-segments in male and female individuals (group characteristics). *Hum Genet.*, 1979, 49, 3, 251-260.
- Podugolnikova OA., Solonichenko VG. The C-heterochromatin of chromosomes 1, 9, 16 and Y in the patients with Noonan's syndrome. *Tsitol Genet.*, 1994, 28(3), 85-99.
- Pompl PN., Yemul S., Xiang Z., Ho L., et. al., Caspase gene expression in the brain as a function of the clinical progression of Alzheimer disease. *Arch Neurol.*, 2003, Mar. 369-76.
- Pulst SM., Yang-Feng T., Kovenberg JR. (1991). Relative order and location of DNA sequences on chromosome 21 linked to familial AD. *Am J Med Genet.*, 1991, Dec.15, 454-9.
- Rachakonda V., Pan T., Le W. Biomarkers of neurodegenerative disorders: How good are they? *Cell Research*, 2004, 14(5), 349-360.
- Rang H. P., Dale M. M., Ritter J. M. *Pharmacology*. Third Edition. 1996, 522-524.
- Rasquin SM., Lodder J., Visser PJ., Lousberg R., Verhey FR. Predictive accuracy of MCI subtypes for Alzheimer's disease and vascular dementia in subjects with mild cognitive impairment: A 2-year follow-up study. *Dement Geriatr Cogn Disord.*, 2004, 19(2-3), 113-119.
- Reed BR., Mungas DM., Kramer JH., Betz BP., Ellis W., Vinters HV., Zarow C., Jagust WJ., Chui HC. Clinical and neuropsychological features in autopsy-defined vascular dementia. *Clin Neuropsychol.*, 2004, 18(1), 63-74.
- Ritchie K., Lovestone S. The dementias. *Lancet.*, 2002, Nov.30, 1759-66.

- Rocchi A., Montagno P., Lanza V., Prantera G. The correlation between silver-staining and DAPI-induced chromosome undercondensation. *Genetica*, 1986, **68**, 2, 145-149.
- Rodriguez Santiago B., Casademont J., Nunes V. Is there a relation between Alzheimer's disease and defects of mitochondrial DNA? *Rev Neurol.*, 2001, Aug.16-31, 301-5.
- Rogers J., Kirby LC., Hempelman SR., Berry DL., McGeer PL., Kaszniak AW., Zalski J., Cofield M., Mansukhani L., Willson P. Clinical trial of indomethacin in Alzheimer's disease. *Neurology*, 1993, **43**, 1609-1611.
- Roman GC., Sachdev P., Royall DR., Bullock RA., Orgogozo JM., Lopez-Pousa S., Arizaga R., Wallin A. Vascular cognitive disorder: a new diagnostic category updating vascular cognitive impairment and vascular dementia. *J Neurol Sci.*, 2004, **226**(1-2), 81-7.
- Rostasy K., Egles C., Chauhan A., Kniessl M., Bahrani P., Yiannoutsos C., Hunter DD., Nath A., Hedreen JC., Navia BA. SDF-1alpha is expressed in astrocytes and neurons in the AIDS dementia complex: an in vivo and in vitro study. *Neuropathol Exp Neurol.*, 2003, **62**(6), 617-26.
- Roussel P., Andre C., Masson C., Geraud G., Hernandez-Verdun D. Localization of the RNA polymerase I transcription factor hUBF during the cell cycle. *J Cell Sci.*, 1993, **104** (Pt 2), 327-37.
- Roussel P., Hernandez-Verdun D. Identification of Ag-NOR proteins, markers of proliferation related to ribosomal gene activity. *Exp Cell Res.*, 1994, **214**(2), 465-72.
- Roussel P., Sirri V., Hernandez-Verdun D. Quantification of Ag-NOR proteins using Ag-NOR staining on western blots. *J Histochem Cytochem.*, 1994, **42**(11), 1513-7.
- Ruschoff J., Plate K., Bittinger A., Thomas C. Nucleolar organizer regions (NORs). Basic concepts and practical application in tumor pathology. *Pathol Res Pract.*, 1989, **185**(6), 878-85.

- Rutten BP., Wirths O., Van de Berg WD., Lichtenthaler SF., Vehoff J., Steinbusch HW., Korr H., Beyreuther K., Multhaup G., Bayer TA., Schmitz C. No alterations of hippocampal neuronal number and synaptic bouton number in a transgenic mouse model expressing the beta-cleaved C-terminal APP fragment. *Neurobiol Dis.*, 2003, **12(2)**, 110-20.
- Scarpa S., Fuso A., D'Anselmi F., Cavallaro RA. Presenilin 1 gene silencing by S-adenosylmethionine: a treatment for Alzheimer's disease? *FEBS Lett.*, 2003, **541(1-3)**, 145-8.
- Schmechel A., Zentgraf H., Scheuermann S., Fritz G., Pipkorn R., Reed J., Beyreuther K., Bayer RA., Multhaup G. Alzheimer beta-amyloid homodimers facilitate A beta fibrillization and the generation of conformational antibodies. *J Biol Chem.*, 2003, **278(37)**, 35317-24.
- Schmiady H., Munke M., Sperting K. Ag-staining of nucleolus organizer regions on human prematurely condensed chromosomes from cells with different ribosomal RNA gene activity. *Exp Cell Res.*, 1979, **121, 2**, 425-428.
- Schwarzacher H. G., Wachtler E. Nucleolus organizer regions and nucleoli. *Hum Genet.*, 1983, **63**, 89-90.
- Sigmund J., Schwarzacher H., Mikelsaar A. Satellite association frequency and number of nucleoli depended on cell cycleduration and NOR-activity. *Hum Genet.*, 1979, **50, 1**, 81-91.
- Sirri V., Roussel P., Gendron MC., Hernandez-Verdun D. Amount of the two major Ag-NOR proteins, nucleolin and protein B23 are cell-cycle dependent. *Cytometry.* 1997, **28(2)**, 147-56.
- Sirri V., Roussel P., Hernandez-Verdun D. The AgNOR proteins: qualitative and quantitative changes during the cell cycle. *Micron.*, 2000, **31(2)**, 121-6.
- Smith A., Broe GA., Williamson M. Chromosome aneuploidy in Alzheimer's disease. *Clin Genet.*, 1983, Jul. 54-7.
- Smolarz K., Wolowicz M., Thiriot-Quievreux C. Argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs) in interphases and metaphases of normal and neoplastic gill cells of

- Macoma balthica* (Bivalvia: Tellinidae) from the gulf of Gdansk, Baltic Sea. *Dis Aquat Organ.*, 2003, **56(3)**, 269-74.
- Sorensen S. Mitochondrial toxicity in Alzheimer's disease. *Sci.*, 2004, **304**, 114-118.
 - Spremo-Potparevic B., Zivkovic L., Djelic N., Bajic V. Analysis of premature centromere division (PCD) of the X chromosome in Alzheimer patients through the cell cycle. *Exp Gerontol.*, 2004, **39(5)**, 849-54.
 - St George-Hyslop PH, Petit A. Molecular biology and genetics of Alzheimer's disease. *C R Biol.*, 2005, **328(2)**, 119-30.
 - Stahl A., Luciani J., Nicoling J., Mattei A., Vague J. Maladie de Klinefelter a mosaïque XY-XXY; Double satellite sur le chromosome 13. *Ann Endocr.*, 1966, **27**, 147-154.
 - Stitou S., Diaz de la Guardia R., Jimenes R., Burgos M. Inactive ribosomal cistrons are spread throughout the B chromosomes of *Rattus* (Rodentia, Muridae). Implications for their origin and evolution. *Chromosome Res.*, 2000, **8**: 305-311.
 - Strausak D., Mercer JF., Dieter HH., Stremmel W., Multhaup G. Copper in disorders with neurological symptoms: Alzheimer's, Menkes, and Wilson diseases. *Brain Res Bull.*, 2001, **15**, **55(2)**, 175-85.
 - Sugihara S., Kinoshita T., Matsusue E., Fujii S., Ogawa T. Usefulness of diffusion tensor imaging of white matter in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Acta Radiol.*, 2004, **45(6)**, 658-63.
 - Tanzi R., Breitner J., Gandy S., et. al., Apolipoprotein E genotyping in Alzheimer's disease. *Lancet.*, 1996, 1091-95.
 - Tavares W., Speranca M., de Labio R., Peres C., Okamoto I., Bertolucci P., Smith M., Payao S. ApoE 4 allele and ribosomal genes in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease.* 2004, **6**, 79-85.
 - Terry RD., Masliah E., Salmon DP., Butters N., DeTeresa R., Hill R., Hansen LA., Katzman R. Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann. Neurol.*, 1991, **30**, 572-580.

- Tolnay M., Clavaguera F. Argyrophilic grain disease: a late-onset dementia with distinctive features among tauopathies. *Neuropathology.*, 2004, **24(4)**, 269-83.
- Trere D. Ag-NOR staining and quantification. *Micron*, 2000, **31**: 127-131.
- Trere D., Ceccarelli C., Montanaro L., Tosti E., Derenzini M. Nucleolar size and activity are related to pRb and p53 status in human breast cancer. *Histochem Cytochem.*, 2004, **52(12)**, 1601-7.
- Trere D., Derenzini M., Sirri V., Montanaro L., Grigioni W., Faa G., Columbano GM., Columbano A. Qualitative and quantitative analysis of AgNOR proteins in chemically induced rat liver carcinogenesis. *Hepatology*. 1996, **24(5)**, 1269-73.
- Trippi E., Botto N., Scarpato R., et. al., Spontaneous and induced chromosome damage in somatic cells of sporadic and familial AD patients. *Mutagenesis.*, 2001, Jul. 323-7.
- Tuck-Muller C., Bordson B., Valera M., Bennett J. NOR association with heterochromatin. *Cytol Cell Genet.*, 1984, **38, 3**, 165-170.
- Turjin R., Lejeune J. *Les chromosomes humains gauthiervillars*. Paris, 1965.
- Tuszyński M. Gene therapy trial and Alzheimer's disease. American Academy of Neurology Meeting in San Francisco, USA. Apr. 27., 2004.
- Vandelaer M., Thiry M. The phosphoprotein pp135 is an essential constituent of the fibrillar components of nucleoli and of coiled bodies. *Histochem Cell Biol.*, 1998, **110(2)**, 169-77.
- van Straaten EC., Scheltens P., Barkhof F. MRI and CT in the diagnosis of vascular dementia. *J Neurol Sci.*, 2004, **226(1-2)**, 9-12.
- Verma R., Shah J., Dosic H. Frequencies of chromosome and chromatid types of associations of nucleolar human chromosomes demonstrated by the N-banding technique. *Cytobios.*, 1983, **36**, 25-29.
- Verma R. S., Rodriguez J. Structural organization of ribosomal cistrons in human nucleolar organizing chromosomes. *Cytobios.*, 1985, **44, 175**, 25-28.
- Vig B. K. Sequence of centromere separation: role of centromeric heterochromatin. *Genetics*, 1982, **102, 4**, 795-806.

- Wang PN., Liu HC., Liu TY., Chu A., Hong CJ., Lin KN., Chi CW. Estrogen-metabolizing gene COMT polymorphism synergistic APOE ϵ 4 allele increases the risk of Alzheimer's disease. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*. 2005, **19**, 120-125.
- Wang X., Dekosky ST., Luedeking-Zimmer E., Granguli M., Kamboh IM. Genetic variation in alpha(1)-antichymotrypsin and its association with Alzheimer's disease. *Am J Hum Genet.*, 2003, **18(3)**, 674-78.
- Ward BE., Cook RH., Robinson A., Austrin JH. Increased aneuploidy in Alzheimer's disease. *Clin Genet.*, 1989, Jul. 54-7.
- Zaborszky Laszlo. Aging and Dementias. *N Engl J Med.*, 2002, **114(6)**, 456-59.
- Zatssepina OV., Todorov IT., Philipova RN., Krachmarov CP., Trendelenburg MF., Jordan EG. Cell cycle-dependent translocations of a major nucleolar phosphoprotein, B23, and some characteristics of its variants. *Eur J Cell Biol.*, 1997, **73(1)**,58-70.