თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი

ხელნაწერის უფლებით

თ ე ა ჩ ა ნ ა დ ი რ ი

იმუნოკომპეტენტურ უჯრედებში (სპლენოციტებში) განვითარებული ჟანგვითი სტრესის კორექცია მწვანე ჩაის კატექინების კომპლექსის საშუალებით ექსპერიმენტული ალიმენტარული სიმსუქნის მოდელზე

მედიცინის მეცნიერებათა კანდიდატის სამეცნიერო წოდების მოსაპოვებლად
წარმოდგენილი დისერტაციის

ა ვ ტ ო რ ე ფ ე რ ა ტ ი

14.00.36 – ალერგოლოგია და იმუნოლოგია

თბილისი

2006

ნაშრომი შესრულებულია სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტში

სამეცნიერო ხელმძღვანელები: - **ბორის კორსანტია,** მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი;
თამარ სანიკიძე, ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი.

ოფიციალური ოპონენტები: **მაია გოთუა,** მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი (14.00.36);
ლალი ჯავაშვილი, მედიცინის მეცნიერებათა კანდიდატი (14.00.03)

დისერტაციის დაცვა შედგება 2006 წლის ------ ---------- --------- საათზე თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტში სადისერტაციო საბჭოს M 14.10 №5 სხდომაზე (0177, თბილისი, ვაჟა ფშაველას გამზ., 33).

დისერტაციის გაცნობა შეიძლება თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ბიბლიოთეკაში (0160, თბილისი, ვაჟა ფშაველას გამზ., 29).

ავტორეფერატი დაიგზავნა 2006 წლის ------ ----------

სადისერტაციო საბჭოს სწავლული
მდივანი, მედიცინის მეცნერებათა
დოქტორი, პროფესორი - თ. ჩიქოვანი

ნაშრომის ზოგადი დახასიათება

პრობლემის აქტუალობა

მრავალი ექსპერიმენტული და კლინიკური შედეგი საშუალებას გვაძლევს გადავხედოთ სიმსუქნისა და მისი გართულებების პათოგენეზის შესახებ უკვე არსებულ შეხედულებებს: სიმსუქნის დროს აღინიშნება არა მხოლოდ ცხიმოვანი ქსოვილის, როგორც ენერგეტიკული დეპოს, მასის ზრდა (როგორც ამაზე მსჯელობდნენ 40-50 წლის წინ) და მეტაბოლურ-ენდოკრინული დარღვევები (1980-იანი წლების ჰიპოთეზა), არამედ ამასთან ერთად ვლინდება იმუნური დისფუნქცია, რაც ამ დროს ორგანიზმის ზოგადი ფიზიოლოგიური წონასწორობის დარღვევის ერთ-ერთ მიზეზს წარმოადგენს (Хаитов Р.М. 2000).

მედიცინის პრაქტიკულად ყველა მიმართულების ინტერესის სფეროს შეადგენს სიმსუქნის დროს დაფიქსირებული მეორადი იმუნოდეფიციტური მდგომარეობის დაძლევის და ადექვატური იმუნოთერაპიის პრობლემა. ამას განაპირობებს ჭარბი წონის მქონე პაციენტებში ქრონიზაციისაკენ და მორეციდივე მიმდინარეობისაკენ მიდრეკილი ინფექციურ-ანთებითი ნოზოლოგიების, განსაკუთრებით მაღალი ვირულენტობის მქონე ვირუსული ინფექციების, სისტემური, აუტოიმუნური და ალერგიული დაავადებების გავრცელების განუხრელი ზრდა, რომლებიც მიმდინარეობს ჩატარებული საბაზისო თერაპიის დაბალი ეფექტურობის ფონზე და მივყავართ ამ კონტინგენტში ავადობის მაღალი მაჩვენებლების განვითარებამდე (Воробьев А.А 2001). ბოლო წლების განმავლობაში მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში ჩატარებულმა გამოკვლევამ აჩვენა, რომ ჭარბი წონის მქონე პაციენტებში საბაზისო თერაპიის შეხამება რაციონალურ იმუნოკორექციასთან გახდა რეციდივების და გართულებების როგორც ეფექტური პროფილაქტიკის, ასევე მკურნალობის ნორმალური ვადების დაცვის პირობა (Воробьев А.А и соавт. 2003).

იმუნოდეფიციტური მდგომარეობის თანამედროვე პათოგენეზური კონცეპცია მოიცავს იმუნური სისტემის კომპონენტების ფუნქციური აქტივობის შემცირებას (რაც ბიოქიმიურად განისაზღვრება როგორც ფერმენტულ-ენერგეტიკული დეფიციტი) და მათი რაოდენობრიობის შემცირებას (რაც ჰისტოფიზიოლოგიურად უკავშირდება ამ უჯრედების ე.წ. უჯრედული ციკლის მიმდინარეობის დარღვევას, კერძოდ, მათი პროლიფერაციის უნარის შემცირებას და/ან პრო-აპოპტოზურ სტიმულაციას, ხოლო ბიოქიმიურ დონეზე ასოცირდება ისევ ფერმენტულ-ენერგეტიკულ დეფიციტთან და პრო-აპოპტოზური სიგნალის ბიოქიმიურ განხორციელებასთან) (Киселевский М.В. 2004). ფერმენტულ-ენერგეტიკული დეფიციტის გამომწვევ მიზეზთა შორის გენეტიკური უზრუნველყოფის ბიოქიმიური დეფექტები, რომლებიც იწვევენ პირველადი იმუნოდეფიციტური მდგომარეობების განვითარებას, მნიშვნელოვან-წილად იდენტიფიცირებულია და მიმდინარეობს მათი მოლეკულურ-გენეტიკური მექანიზმების ანალიზი (Яблучанский Н.И. 2005); თუმცა კლინიკური იმუნოლოგიის უმთავრეს ინტერესს შეადგენს ამგვარი დეფიციტით ინდუცირებული მეორადი იმუნოდეფიციტური მდგომარეობები, რომლებიც რაოდენობრივ თანაფარდობაში იკავებენ დომინანტურ ადგილს. მათ სტრუქტურაში კლასიფიცირებულია ე.წ. ინდუცირებული ფორმა(Хаитов Р.М. 2001), რომლის დროსაც იმუნიტეტის დარღვევა მეორადია ძირითად დაავადებასთან მიმართებაში და გამოწვეულია ძირითადი დაავადებების პათოგენეზური მექანიზმებით და/ან შეადგენს პირველადი დაავადების პათოგენეზურ რგოლს. მათ შორისაა მეტაბოლური სინდრომის, კერძოდ, შაქრიანი დიაბეტის და სიმსუქნის მიერ ინდუცირებული იმუნოდეფიციტური მდგომარეობები (Тутельян А.В. 2004, Marti A.2001,Wellen K.et.al.2003, Neels J.et.al.2006,Weisberg

S.et.al.2006), რომელთა მიმართაც იკვეთება მკვლევართა მზარდი ინტერესი და მიმდინარეობს მათი პათოგენეზური გზების უჯრედულ და ბიოქიმიურ დონეზე იდენტიფიცირება.

სიმსუქნის დროს იმუნური დისფუნქციის ჰისტომორფოლოგიურ მანიფესტაციად ითვლება ადიპოზურ ქსოვილში ქრონიკული დუნედ მიმდინარე ანთებითი პროცესის კერის განვითარება(Wellen K.et.al.2003), რის ექსპერიმენტულ დადასტურებასაც წარმოადგენს: სიმსუქნის დროს ცხიმოვან ქსოვილში ძვლისტვინოვანი წინამორბედების მოდინების პროცესის ინტენსიფიკაციის შედეგად აღინიშნება მაკროფაგებით მნიშვნელოვანი ინფილტრაცია (Weisberg S.et.al.2003), სადაც მათი >90% ლოკალიზდება მკვდარი ადიპოციტების ირგვლივ (Cinti S.et.al.2005,Dahlman I.et.al.2005). ამ პროცესის ინიციაციას განაპირობებს ადიპოზურ ქსოვილში MCP–1 (monocyte chemoattractant protein-1) (Dahlman I.et.al.2005, Sartipy P.et.al.2003, Takahashi K.et.al.2003, Weisberg S.et.al.2006) და CSF-3 (colony-stimulating factor) ჰიპერპროდუქცია (Cecchini M.et.al.1994); ასევე, ცხიმოვან-ქსოვილოვანი ენდოთელიოციტების ზედაპირული მუხტის სიდიდისა და მიკროცირკულატორული დინების ამ უბანზე ელექტროდინამიური ურთიერთქმედების ძალის ზრდა; ICAM-[intracellular adhesion molecula]-1, β-2 ინტეგრინებისა და E-P სელექტინების ექსპრესიის გაძლიერება (Hotamisligil G.et.al.1995, Xu H.et.al.2003). ცხიმოვანი ქსოვილის მასის ზრდასთან ერთად ადიპოზურ ქსოვილში პირდაპირპროპორციულად ძლიერდება პრო-ანთებითი ციტოკინების TNF α,IL1β,IL6, IL-8 სინთეზირება(Bedoui S.et.al.2005, Sethi J.et.al.1999, Weisberg S.et.al.2006).

აქტიურად განიხილება ჰიპოთეზა, რომლის მიხედვით სიმსუქნის დროს იმუნური დისფუნქციის წარმოშობის წამყვანი პათოგენეზური რგოლია მიტოქონდრიული ბიოენერგეტიკის მოშლა (Ченцов Ю.С. 2000, Obici S. 2002, Sullinan P. 2004), ბიოქიმიურ დონეზე იგი იდენტიფიცირდა, როგორც ატფ-წარმომქმნელი მიტოქონდრიული პროცესების ინჰიბირება და ენერგეტიკული დეფიციტი, რაც მეორადად განაპირობებს იმუნური უჯრედების სპონტანური და მიტოგენ-სტიმულირებული პროლიფერაციული აქტივობისა და ფუნქციური ფერმენტულ-ენერგეტიკული შესაძლებლობების დაქვეითებას. ასევე, აღწერილია პირდაპირი მიტოქონდრია-ინდუცირებული პრო-აპოპტოზური სტიმულაციის გზა(Szewezyk A. 2002, Постнов Ю.В. 2004, Schon E. 2003, Tianzheng Y. 2006).

თანამედროვე პათოფიზიოლოგიური კონცეფციის თანახმად, სიმსუქნის პათოგენეზურ რგოლებს შორის გამოიყოფა სისტემური ოქსიდაციური სტრესი (Weisberg S.et.al.2006), რომლის ინიციაციის ცენტრალურ რგოლად განიხილება სუბსტრატების მიტოქონდრიული ჟანგვის ბიოენერგეტიკული პროცესების დეფექტები (Keaney J.et.al.2003,Olust S.et.al.2002). არსებობს მოსაზრებები, რომ სიმსუქნის განვითარების პრეკლინიკურ ეტაპზე ადიპოზურ ქსოვილში გენერირებული ოქსიდაციური სტრესი და ორგანიზმის რედოქს-ჰომეოსტაზის ცვლილებები არის ცხიმოვან ქსოვილში ანთებითი პროცესის ჩამოყალიბების და შემდეგ ორგანიზმის ჰომეოსტაზის პათოლოგიური გარდაქმნის პირველადი მექანიზმი(Mahadev K.et.al2004).: ცხიმის ჭარბი აკუმულაცია სხვა უჯრედებშიც (განსაკუთრებით იმუნური სისტემის უჯრედებში) იწვევს ოქსიდაციური სტრესის გენერაციას როგორც ადამიანებში, ასევე ცხოველებში (Atabek M.et.al.2004,Keaney J.et.al2003, Ozcelik O.et.al2005). იმუნოკომპეტენტური უჯრედების მეტაბოლური უზრუნველყოფის ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის მოშლის შესახებ მონაცემები მოპოვებულია ძირითადად სიმსუქნის გენეტიკურ მოდელებზე, სადაც მრავლადაა აღწელი მიტოქონდრია-ასოცირებული ასეთი ტიპის ცვლილებები (Nicholls M 2002, Галоян А. А.2004, Katoh H. 2004).

ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების ჰიპერპროდუქცია ასევე უკავშირდება

ადიპოციტების აპოპტოზური სიკვდილის ინტენსიფიკაციას(Заллесский В. Соавт.2004, Howard et.al.1999).

სიმსუქნის მეტაბოლურ-ენდოკრინული პათოგენეზური მექანიზმები მნიშვნელოვნადაა შესწავლილი, ხოლო იმუნომამოდულირებელი პათოგენეზური მექანიზმები, კერძოდ, იმუნოკომპეტენტური უჯრედების ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის შეცვლის და პრო-აპოპტოზური სიგნალების გენერაციის პათოფიზიოლოგიური სქემა, ჯერაც სრულად არ არის იდენტიფიცირებული და ბადებს ბევრ კრიტიკულ კითხვას. ამასთან, ზემოთაღნიშნულ მონაცემთა ძირითადი ნაწილი მოპოვებულია სიმსუქნის გენეტიკური მოდელების შესწავლის დროს, ძალიან მწირია დიეტ-ინდუცირებულ მოდელებზე მიღებული შედეგები, მიუხედავად იმისა, რომ სიმსუქნის ეტიოლოგიურ ფაქტორებს შორის პრევალირებს სწორედ კვებითი ქცევის დარღვევა(Bedoui S. et.al.2005).

ზემოთქმულიდან გამომდინარე, ჩვენი კვლევის <u>**მიზანს**</u> შეადგენდა იმუნოკომპეტენტურ უჯრედებზე (სპლენოციტებზე) სისტემური ოქსიდაციური სტრესის და დისლიპიდემიის ზემოქმედების მექანიზმების და ანტიოქსიდანტური თვისებების მქონე მწვანე ჩაის კატექინების თავისუფალრადიკალური ჟანგვის პროცესებზე მაკორეგირებელი შესაძლებლობის დადგენა DIO სიმსუქნის მოდელის ფარგლებში.

კვლევის ამოცანები:

1. ვირთაგვებში დიეტ-ინდუცირებული სიმსუქნის (DIO) მოდელირების და მწვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედების პირობებში *ფიზიოლოგიური მაჩვენებლების* (სხეულის მასის მატების ინტენსივობის, საკვების და წყლის დღიური მოხმარების, ვისცერული ცხიმის დეპონირების (მასის)) ცვლილებების დადგენა;

2. ვირთაგვებში დიეტ-ინდუცირებული სიმსუქნის (DIO) მოდელირების და მწვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედების პირობებში *სისხლში*:

   a) ლიპიდური ცვლის მაჩვენებლების (სისხლში ტრიგლიცერიდების, საერთო ქოლესტერინის, LDL და HDL-ის) ცვლილებების დადგენა;
   b) პრო- (Mn^{2+}–შემცველი კომპლექსების, სუპეროქსიდრადიკალების, ლიპოპეროქსიდების და NO^{-}) და ანტიოქსიდანტური (სუპეროქსიდ-დისმუტაზას, კატალაზას, ცერულოპლაზმინის, Fe^{3+}-ტრანსფერინის და მეთჰემოგლობინის) სისტემების აქტივობის ცვლილებების დადგენა;

3. ვირთაგვებში დიეტ-ინდუცირებული სიმსუქნის (DIO) მოდელირების და მწვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედების პირობებში *ელენთაში*:

   ა) სპლენოციტების ბიოენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ინტენსივობის (NADH-უბიქინონ-ოქსიდორედუქტაზული ფერმენტული FeS-ცენტრების აქტივობის, სუნთქვითი ჯაჭვის უბიქინონებისა და ფლავოპროტეიდების სემიქინონური ფორმების თავისუფალრადიკალური სიგნალის ინტენსივობისა (I) და ნახევარგანის (ΔH)) ცვლილებების დადგენა;
   b) სპლენოციტებში თავისუფალრადიკალური, ლიპიდების პეროქსიდა-ციული პროცესებისა და მემბრანული სტრუქტურების რღვევის (ლიპოპეროქსიდების და Mn^{2+}–შემცველი კომპლექსების) ინტენსივობის შესწავლა;

გ) სპლენოციტებში დნმ-ს სინთეზის (დნმ-ს სინთეზის მალიმიტირებელი ფერმენტის რიბონუკლეოტიდრედუქტაზას ეპრ სიგნალის) ინტენსივობის შესწავლა;

4. ვირთაგვას სპლენოციტების უჯრედულ კულტურაში ოქსიდაციური სტრესით ინდუცირებულ აპოპტოზის მოდელზე კატექინების აპოპტოზზე ზემოქმედების (მიტოქონდრიული პოტენციალის $\Delta\psi_m$ ცვლილებების) ეფექტურობის დადგენა.

ნაშრომის მეცნიერული სიახლე:

- პირველად დიეტ-ინდუცირებული სიმსუქნის (DIO) მოდელირების პირობებში კომპლექსურად შესწავლილია ვირთაგვების ორგანიზმში ფიზიოლოგიური, ბიოქიმიური და ბიოფიზიკური პარამეტრების ცვლილებები და ნაჩვენებია, რომ მაღალკალორიული საკვების მიღების ფონზე ვირთაგვების სხეულის და ვისცერული ცხიმის მასის მატებასთან ერთად ადგილი აქვს დისლიპიდემიის და ოქსიდაციური სტრესის განვითარებას;
- ნაჩვენებია, რომ დიეტინდუცირებული სიმსუქნის მოდელში ვირთაგვებში განვითარებული ჰიპერლიპიდემია და ოქსიდაციური სტრესი იმუნოკომპეტენტური უჯრედების, სპლენოციტების, მიტოქონდრიული ბიოენერგეტიკული პროცესების დათრგუნვას განაპირობებენ;
- პირველად ნაჩვენებია, რომ მაღალკალორიული საკვების ფონზე მწვანე ჩაის კატეხინების ზემოქმედება ორგანიზმში ლიპიდური და ჟანგვითი მეტაბოლიზმის ნორმალიზაციას უზრუნველყოფს, რაც განაპირობებს სპლენოციტების მიტოქონდრიული სისტემების მუშაობის აღდგენას.
- პირველად ნაჩვენებია, რომ მწვანე ჩაის კატექინებს სპლენოციტების კულტურაზე ოქსიდაციური სტრესით ინდუცირებული აპოპტოზის ინტენსივობის დაქვეითების უნარი გააჩნია.

დაცვაზე გასატანი ძირითადი დებულებები:

1. დიეტინდუცირებული სიმსუქნის მოდელის ფარგლებში ვირთაგვების ორგანიზმში განვითარებული ლიპიდების ცვლისა და ჟანგვითი მეტაბოლიზმის პროცესების დარღვევა ოქსიდაციური სტრესის ადრეულ გენერაციასა და ანტიოქსიდანტური სისტემის დეფიციტს განაპირობებს, რაც შემდგომში სპლენოციტების მიტოქონდრიული ბიოენერგეტიკული მეტაბოლიზმის დაქვეითებისა და აპოპტოზის ინტენსიფიკაციის მიზეზი ხდება.
2. მწვანე ჩაის კატექინების ჟანგვით და ლიპიდურ მეტაბოლიზმზე მაკორეგირებელი მოქმედება დიეტინდუცირებული სიმსუქნის დროს სპლენოციტების ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ნორმალიზაციას და ლიპოაპოპტოზის ინიცია-ციისაგან დაცვას უზრუნველყოფს.

ნაშრომის თეორიული და პრაქტიკული ღირებულება.

ჩატარებული გამოკვლევის საფუძველზე დადგენილია, რომ მწვანე ჩაის კატექინებს გააჩნია დიეტ-ინდუცირებული სიმსუქნით ინიცირებულ ოქსიდაციურ სტრესზე, ასევე ოქსიდაციური სტრესით ინდუცირებულ სპლენოციტთა ბიოენერგეტიკასა და აპოპტოზის ინტენსივობაზე მაკორეგირებელი ზემოქმედება, რის საფუძველზეც რეკომენდაციას ვუწევთ ამ პრეპარატის გამოყენებას სიმსუქნისა და მასთან ასოცირებული იმუნური დისფუნქციის პრევენციისათვის.

აპრობაცია - დისერტაციის მასალა მოხსენებულია სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტის სამეცნიერო საბჭოს სხდომაზე.

პუბლიკაციები - დისერტაციის გარშემო საერთაშორისო მიმოქცევის გამოცემებში გამოქვეყნებულია 4 სამეცნიერო შრომა.

დისერტაციის მოცულობა და სტრუქტურა - დისერტაცია მოიცავს 135 გვერდს, შედგება შემდეგი ნაწილებისაგან: შესავალი, ლიტერატურის მიმოხილვა, გამოკვლევის მასალა და მეთოდები, გამოკვლევის შედეგები, გამოკვლევის შედეგების განხილვა, დასკვნები და გამოყენებული ლიტერატურის სია. დისერტაციაში მოყვანილია 14 ცხრილი, 10 დიაგრამა, 6 სურათი და 7 სქემა, ლიტერატურის საძიებელი მოიცავს 316 წყაროს.

კვლევის მასალა და მეთოდები

1. ***დიეტინდუცირებული სიმსუქნის მოდელირება in vivo.***

ექსპერიმენტი ტარდებოდა ზრდასრულ მდედრობითი სქესის თეთრ ვირთაგვებზე, წონით 180-200გ(60 ვირთაგვა).პირველი კვირის განმავლობაში ყველა ვირთაგვა(60 ცხოველი) ღებულობდა სტანდარტულ საკვებს და წყალს ad libitum. შემდეგ ცხოველები რანდომიზირებულად იყვნენ გაყოფილი 3 ჯგუფად: საკონტროლო ჯგუფის (I ჯგუფი-20 ვირთაგვა) ცხოველები შემდეგი 7 კვირის განმავლობაში ისევ ღებულობდნენ სტანდარტულ საკვებს და წყალს ad libitum; მაღალკალორიული კვების ანუ DIO-ჯგუფის (II ჯგუფი-20 ვირთაგვა) ცხოველები შემდეგი 7 კვირის განმავლობაში იკვებებოდნენ შერეული საკვებით, რომელიც შედგებოდა სტანდარტული საკვებისაგან (47%), ტკბილი კონცენტრირებული რძისაგან (44%), მცენარეული ზეთისაგან (8%) და მცენარეული სახამებლისაგან (1%) (დიეტა ¹C 11024, Research Dietes, New Brunswick, NJ (West D., et al., 1992) და ღებულობდნენ წყალს ad libitum; DIO+კატექინების ჯგუფის (III ჯგუფი-20 ვირთაგვა) ცხოველები მომდევნო 3 კვირის განმავლობაში იკვებებოდნენ შერეული საკვებით(II ჯგუფის მსგავსად) ღებულობდნენ წყალს ad libitum, ხოლო შემდეგი 4 კვირა მათ შერეულ კვებასთან ერთად ყოველდღე უკეთდებოდათ მწვანე ჩაის კატექინების ინექციები დოზით 15 მგ/კგ. ექსპერიმენტის დაწყებიდან 8 კვირის შემდეგ ცხოველებს ვკლავდით და ვსაზღრავდით პარაგონადული ადიპოზური ცხიმის მასას.

2. **ბიოქიმიური კვლევები.**

<u>სისხლის შრატში კატალაზას აქტივობის განსაზღვრა:</u>

კატალაზას აქტივობას ვსაზღვრავდით Aebi-ის მეთოდით (1984), რომელიც მოდიფიცირებული იქნა М. А. Королюк, Л. И. Иванова-ს და სხვების მიერ (1988) სპექტროფოტომეტრი СФ-46 ЛОМО-ს გამოყენებით.

<u>სისხლის შრატში სუპეროქსიდდისმუტაზას (სოდ) აქტივობის განსაზღვრა</u>. სუპეროქსიდდისმუტაზას (სოდ) აქტივობას ვსაზღვრავდით Fried-ის (1970) მეთოდით, რომელიც მოდიფიცირებული იყო Е. В. Макаренко-ს მიერ (1988) სპექტროფოტომეტრი СФ-46 ЛОМО-ს გამოყენებით.

<u>სისხლის შრატში საერთო ქოლესტერინის, ტრიგლიცერიდების და ლიპოპროტე-იდების განსაზღვრა</u>*:* სისხლის შრატში საერთო ქოლესტერინის, ტრიგლიცერიდების კონცენტრაციას ვსაზღვრავდით Randox-ის ფირმის ფერმენტული ნაკრების საშუალებით ავტოანალიზატორზე Centrifichem-600. მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეიდების (HDL) შემცველობა ისაზღვრებოდა ამავე მეთოდით სისხლის პლაზმაში დაბალი სიმკვრივის (LDL) და ძალიან დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეიდების (VLDL) მაგნიუმის ფოსფორვოლფრამატით დალექვის

შემდეგ. დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეიდების (LDL) კონცენტრაცია ითვლებოდა Fnedwald et al. ფორმულით: LDL (მგ/დლ)=XC – (TG:5+HDL).

3. ელექტრონული პარამაგნიტური რეზონანსის (ეპრ) სპექტროსკოპული კვლევები.

ეპრ კვლევები ტარდებოდა რადიოსპექტრომეტრზე РЭ-1307 (რუსეთი), რომელიც ოპერირებს 9.77 GHz ზემაღალი სიხშირის არეში 50 kHz მოდულაციის სიხშირით თხევადი აზოტის (-196^{0}C) ტემპერატურაზე..

ვსაზღრავდით <u>სისხლის და ელენთას ეპრ სპექტრებს</u>. სისხლში ისაზღვრებოდა პროოქსიდანტური (ცვალებადი ვალენტობის მქონე იონების (Mn^{2+} (g_1=2,14), მეთჰემოგლობინის (MetHb) g=6,0) და ანტიოქსიდანტური (ცერულოპლაზმინის (g=2,05), Fe^{3+}-ტრანსფერინის (g=4,3)) სისტემების ეპრ სიგნალები (Пулатова М.К., и др., 1999). ელენთაში ვსაზღრავდით მიტოქონდრიული სუნთქვის (ფლავინების და უბიქინონების სემიქინონური ფორმების (g=2,00) და რკინაგოგირდოვანი (FeS) ცენტრების (g=1,94) ეპრ სიგნალები) მაჩვენებლებს, Mn^{+2}-შემცველი კომპლექსების შემცველობაы და დნმ-ის სინთეზის მალიმიტირებელი ფერმენტის, რიბონუკლეოტიდრედუქტაზას ეპრ სიგნალი (g=2,005). სპექტრების რეგისტრაცია ტარდებოდა 0,бмТ მოდულაციის ამპლიტუდაზე და 100 мВт მიკროტალ-ღოვანი გამოსხივების სიმძლავრეზე.

სისხლში და ელენთაში თავისუფალი აზოტის ჟანგის განსაზღვრის მიზნით ვიყენებდით სპინ-ხაფანგს ნატრიუმის დიეთილდითიოკარბამატს (DETC) (SIGMA); ლიპოპეროქსიდრადიკალების (LOO·) განსაზღვრის მიზნით ვიყენებდით სპინ-ხაფანგს α-ფენილ-*tert*ბუტილნიტრონ (PBN) (SIGMA); ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების (სუპეროქსიდრადიკალების) განსაზღვრის მიზნით ვიყენებდით სპინ-ხაფანგს 5,5 დიმეთილ-I-პიროლინ-IV-ოქსიდით (DMPO) (SIGMA).

4. ოქსიდაციური სტრესის მოდელირება და მწვანე ჩაის კატექინების ანტიაპოპტოზური მოქმედების შესწავლა *in vitro*.

სპლენოციტთა უჯრედული კულტურაში აპოპტოზის მოდელირება. სპლენოციტთა უჯრედული კულტურის მიღების მიზნით ვაწარმოებდით ინტაქტური ვირთაგვების ელენთის მექანიკურ ჰომოგენიზაციას, რის შედეგადაც მიღებულ ჰომოგენატს ვაცენტრიფუგირებდით 1000g-ზე 10 წუთის განმავლობაში. Dდალექილ უჯრედებს ვანზავებდით წინასწარ მომზადებულ სამუშაო არეში (არე 199, 10% ხბოს შრატი, პენიცილინის და სტრეპტომიცინის 1% ხსნარი და 0,03% გლუტამინი).სპლენოციტთა უჯრედები გაყოფილი იყო 3 ჯგუფად: I ჯგუფი – ინტაქტური; II ჯგუფი – უჯრედებს ვუმატებდით წყალბადის ზეჟანგს დოზით 100 μM; III ჯგუფი – უჯრედებს ერთდროულად ვუმატებდით წყალბადის ზეჟანგს დოზით 100μM და მწვანე ჩაის კატექინებს დოზით 3მგ/მლ. უჯრედები ექვემდებარებოდნენ 24 საათიან ინკუბაციას 37°C ტემპერატურაზე 10% CO_2-ის მუდმივი მოწოდების პირობებში..

სპლენოციტთა კულტურაში აპოპტოზის გამოკვლევა.

სპლენოციტების მიტოქონდრიული პოტენციალის, Δψм-ის, მნიშვნელობას ვსაზღრავდით გამდინარე ციტომეტრიის მეთოდით ლიპოფილური კათიონური ფლუორესცენტური სინჯის 3,3'- dihexyloxacarbocyanine iodide - $DiOC_6$ გამოყენებით FACScan აპარატზე (Becton Dickinson, US).

მიღებული მონაცემები დამუშავებულ იქნა სტატისტიკურად სტიუდენტის მეთოდით.

საკუთარი კვლევების შედეგები და მათი განხილვა

ჩვენი კვლევის მიზანს შეადგენდა DIO-სიმსუქნის ექსპერიმენტულ მოდელში

ბიოქიმიურ და ბიოფიზიკურ დონეზე ამ დაავადების პათოგენეზთან ასოცირებული მეტაბოლური და იმუნური დისფუნქციის მექანიზმებს შორის კორელაციური კავშირების იდენტიფიცირება და ინტერპრეტაცია. Aმიტომ, მაღალკალორიული კვების ფონზე განვახორციელეთ ალიმენტური სიმსუქნის პროვოცირება, კომპლექსურად მოვახდინეთ ზოგადი ფიზიოლოგიური, ასევე სისხლის და ელენთის ბიოფიზიკური პარამეტრების შესწავლა და მივიღეთ შემდეგი შედეგები:

ექსპერიმენტის 7 კვირის მანძილზე მაღალკალორიული კვების ფონზე ვირთაგვების წონის მატების ინტენსივობა 43%-ით აღემატება სტანდარტული კვების ფონზე მყოფი საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვების სხეული მასის მატების ინტენსივობას, ამასთან, საკონტროლო ჯგუფის ცხოველები ბოლო 4 კვირის განმავლობაში გაცილებით ნელა იმატებდნენ წონაში, ვიდრე პირველი 3 კვირის განმავლობაში. მაღალკალორიულ დიეტაზე მყოფი ვირთაგვების წონის მატების ინტენსივობა კი ბოლო 4 კვირის განმავლობაში, პირიქით, სტატისტიკურად სარწმუნოდ იზრდებოდა როგორც საკონტროლო ჯგუფის, ასევე პირველი 3 კვირისათვის დამახასიათებელ შესაბამის მაჩვენებლებთან შედარებით. *აქედან გამომდინარე, შეგვიძლია გავაკეთოთ დასკვნა, რომ მაღალკალორიული საკვების მოხმარება საგრძნობლად ზრდის ვირთაგვების წონის მატების კოეფიციენტს.*

ასევე, 7-კვირიანი მაღალკალორიული კვების ფონზე აღინიშნა ვირთაგვების მიერ მოხმარებული საკვების ოდენობის მნიშვნელოვანი ზრდა (23%-ით) საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით, რის საფუძველზეც შეგვიძლია გავაკეთოთ დასკვნა: *მაღალკალორიული კვების ფონზე ვირთაგვებს უვითარდებათ ჰიპერფაგია.*

ლიტერატურული მონაცემებით, ჰიპერფაგია როგორც ცხოველებში, ასევე ადამიანებში DIO–სიმსუქნის წამყვანი ეტიოლოგიური ფაქტორია(West D,2005) და იგი ავითარებს პათოლოგიურ ე.წ. პოსტპრანდიალურ (საკვების მიღების შემდგომ) ჰიპერგლიკემიას და ჰიპერლიპიდემიას, რაც ასოცირდება ტრიგლიცერიდების კატაბოლიზმის შენელებასთან და ლიპოპროტეიდების რაოდენობრივ და ფუნქციურ ცვლილებებთან(Чазова И. 2004). რაოდენობრივი ცვლილებებიდან აღსანიშნავია ქილომიკრონების, ტრიგლიცერიდების და ძალიან დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეიდების VLDL (შემცველობის 55% შეადგენს ტრიგლიცერიდები) კონცენტრაციის მატება(Мкртумян А.М.2004) და ღვიძლის მეტაბოლიზმის პათოგენური გარდაქმნის (ჰეპატოციტების ტრიგლიცერიდებით და ქოლესტერინით გადავსება, ლიპოპროტეიდლიპაზას ინაქტივაცია) (Перова Н.В 2001) გამო მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეიდების HDL სახით წარმოდგენილი ქოლესტერინის შემცველობის მკვეთრი კლება (Taskinen M.1992, Laakso M.1995); ფუნქციური ცვლილებებიდან აღწერილ იქნა ჰიპერგლიკემიის ფონზე ლიპოპროტეიდების ცილების გლიკოლიზირება(Schwartz M., Kahn S. 1999) და სისტემური ოქსიდაციური სტრესის ფონზე ლიპოპროტეიდების ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვა (Berthezene F, 1993, Syvanne M., Taskinen M 1997), რის შედეგადაც გლიკოლიზირებულ და დაჟანგულ ლიპოპროტეიდებს უკვე ვეღარ იჭერს ჰეპატოციტებსა და ენდოთელიოციტებზე ექსპრესირებული ლიპოპროტეიდლიპაზა და ისინი ხდებიან ქსოვილებში, მათ შორის იმუნურ ქსოვილებში, ჭარბი უჯრედშიდა ლიპიდური ნაკადის ქრონიკული წყარო. იკვეთება იმუნოკომპეტენტური უჯრედების მიერ ამ ნაწილაკების ფაგოციტოზის სტიმულაციის და ამ გზით მათი "გაუვნებელყოფის" მიმართულება, რაც ათეროსკლეროზის პათოგენეზის წამყვან მექანიზმად იქნა აღიარებული(Pipeng L. 2005).

ამ ექსპერიმენტულ სერიათა მსგავსი სურათი (სისხლის ლიპიდური სპექტრის რაოდენობრივი მხრივ) მივიღეთ DIO-სიმსუქნის ჩვენს ექსპერი-მენტულ

მოდელში, სადაც ექსპერიმენტის ბოლოს განისაზღვრა ვირთაგვების სისხლის ლიპიდური სპექტრი:

მაღალკალორიული დიეტის მიღების ფონზე ვირთაგვების სისხლში საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით საერთო ქოლესტერინის შემცველობა 62%-ით იზრდება, ტრიგლიცერიდების შემცველობა მატულობს 65%-ით, LDL-ის შემცველობა კი 31%-ით, ხოლო HDL–ის კონცენტრაცია კლებულობს 14%-ით. *ამ შედეგების საფუძველზე შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ მაღალკალორიული დიეტის ფონზე ვირთაგვების ორგანიზმში ირღვევა ლიპიდების ცვლა, იცვლება სისხლის ლიპიდური შემადგენლობა და ადგილი აქვს დისლიპიდემიის(IIბ ტიპის) განვითარებას.*

ფიზიოლოგიურ პირობებში ლიპიდების ჭარბ ეგზოგენურ ნაკადს (ჰიპერტრიგლიცერიდემია, ეგზოგენური ჰიპერქოლესტერინემია) ორგანიზმი პასუხობს ენდოგენური ლიპიდების სინთეზითა და მათი ადიპოზურ ქსოვილში დამარაგებით. მაგრამ რაღაც ეტაპზე ან რომელიღაც მექანიზმის ზეგავლენით ჭარბი ნუტრიენტული ენერგეტიკული ნაკადი რთავს ლიპიდების და ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის კომპენსატორულ გზებს, რომლის მიზანი ლიპიდების დამარაგების შეჩერებაა(ე.ი. ლიპოგენეზის ინჰიბირება). სიმსუქნის დროს აღწერილია მეტაბოლური სტრესული სტიმულაციის შემდეგი ბიოქიმიური მიმართულებები: ერთის მხრივ, ლიპიდური ცვლის შუალედური პროდუქტების, კერძოდ დიაცილგლიცეროლის(DAG) (+210%), გრძელჯაჭვიანი აცილ-CoA-ს (+640%) და მალონილ-CoA-ს (+220%), ასევე გლუკოზის ჰექსოზამინური მეტაბოლიზმის პროდუქტის UDP-GlcNAc-ის (+73%) უჯრედშიდა კონცენტრაციის სწრაფი ზრდა, მათ მიერ ზოგიერთი სერინ/ტრეონინ-კინაზური გზების აქტივაცია [ესენია JNK (c-Jun NH_2-terminal kinase), IKK (inhibitor of kappa kinase), PKC-θ(protein kinase C)(Zick Y.2003)], ინსულინის რეცეპტორის IRS-1/2 სუბსტრატის ფოსფორილაცია და ინსულინრეზისტენტობის განვითარება. აღსანიშნავია, რომ იგივე გზები ირთვება მიკრობული პროდუქტების (პეპტიდოგლიკანის, LPS-ის და სხვ) მიერ TLR(Toll-like receptor)-რეცეპტორული გზით თანდაყოლილი იმუნური პასუხის გენერაციისას(Medzhitov 2001). მეორეს მხრივ, დადასტურებულია ინსულინრეზისტენტობის განვითარების პროცესში პრო-ანთებითი გზების მონაწილეობაც: ესაა ტრანსკრიფციული NF-κB (nuclear factor- κB) ფაქტორის აქტივაცია, ციტოკინების TNF-α (+1700%) და IL-1β (+440%) ექსპრესიის გაძლიერება(Boden 2005), რომლის კონცენტრაციის მაჩვენებელი დადებითად კორელირებს სიმსუქნის ხარისხთან (BMI მაჩვენებელთან), ლეპტინის კონცენტრაციასთან(ob/ob მოდელი)(van Dielen F.V. et al 2001), ლეპტინის რეცეპტორის ექსპრესიასთან(db/db მოდელი) (Hansen MJ 2001). საინტერესოა, რომ ადიპოციტები, გარდა თავად პრო-ანთებითი პროტეინებისა, აექსპრესირებენ ასევე მათ რეცეპტორებს, რითაც წარმოგვიდგენენ პრო-ანთებითი რეაქციის მოდელს, სადაც ადიპოციტები არიან პრო-ანთებითი სიგნალის როგორც წყარო, ასევე სამიზნე(Ross SE et al 2002). სტიმულაციის ამ მექანიზმებში თავისუფალი ცხიმოვანი მჟავები გამოდიან ლიგანდების როლში შესაბამისი ნუკლეარული რეცეპტორებისათვის, ისინი ლიგანდურ და ჰიდროფილურ ბუნებას იძენენ უჯრედშიდა FABP (fatty acid binding protein) პროტეინებთან შეკავშირებისას(Zimmerman 2002), ეს პროტეინები ჭარბად ექსპრესირდებიან იმუნურ უჯრედებში და მათი კონცენტრაცია დადებით კორელაციურ კავშირშია სისხლში ქოლესტერინის და ტრიგლიცერიდების შემცველობასთან (Makowski 2004). მაშასადამე, ტრიგლიცერიდების მარაგის ზრდა იწვევს თავად ადიპოციტების მიერვე ზემოთაღწერილი კომპენსატორული მექანიზმების ჩართვას, რომლის მიზანია ლიპოგენეზის შეჩერება, მისი მიღწევა კი შესაძლებელია

ინსულინრეზისტენტობის განვითარების გზით (Mandato C., et al., 2005), ეს ემსახურება ტრანსკრიფციულ ADD-1/SREBP-1c ფაქტორზე ზემოქმედების ინჰიბირებით ლიპოგენეზზე პასუხისმგებელი გენების სტიმულაციის შეწყვეტას (Kim JB et al 1998, Shimomura I 1999, Foretz M 1999) და ლიპოლიზის სტიმულაციას. ყველაზე მეტ ლიპოლიზურ აქტივობას იჩენს ვისცერული (აბდომინალური) ადიპოზური ქსოვილი, რის შესატყვისსაც ვირთაგვებში წარმოადგენს ე.წ. პარაგონადული ცხიმოვანი ქსოვილი (Kissebah AH., 1994.).

ჩვენს ექსპერიმენტში 7-კვირიანი მაღალკალორიული დიეტის ფონზე ვირთაგვების პარაგონადული ცხიმის მასა 57%-ით გაიზარდა საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით და შეადგინა ვირთაგვის სხეულის მასის 5,6%-ს, როდესაც საკონტროლო ჯგუფში ამ მაჩვენებელმა შეადგინა 3,85%-ს. *მაშასადამე, მაღალკალორიული კვების ფონზე იზრდება ცხიმის დეპონირება ვისცერულ (ვირთაგვებში პარაგონადულ) ქსოვილში.*

ბიოქიმიურ ჭრილში ჭარბი ნუტრიენტული ნაკადი ადიპოციტებში ერთი მიმართულებით ცვლის ენერგეტიკულ წონასწორობას (ენერგიის მიწოდება). ენერგიის ჭარბად მიღების პირობებთან სწრაფი ადაპტაცია, როდესაც იგი ვეღარ ბალანსდება დამარაგებით, თავდაპირველად მიიღწევა სუბსტრატების ოქსიდაციის და ენერგიის ხარჯვის პროცესების კომპენსატორული ზრდის გზით (Bouchard C. et al 1990). ამ ეტაპზე ენერგიის ტრანსდუქცია ორი მიმართულებით: ატფ-ს სინთეზის და სითბოს პროდუქციის გზით ხორციელდება. თუმცა უჯრედულ დონეზე ხანგრძლივი დროით ატფ-ს სინთეზის დაძაბულ რეჟიმში შენარჩუნება შეუძლებელია, რადგან ამას ზღვრულ დაძაბულობამდე მიჰყავს უჯრედის ფერმენტული არქიტექტონიკა. ვითარდება ე.წ. ER–სტრესი (ენდოპლაზმური რეტიკულუმის ზე-დატვირთვა) და ROS-სტრესი (მიტოქონდრიების ზე-დატვირთვა, ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების (ROS) ჰიპერპროდუქცია-ოქსიდაციური სტრესი)(Wellen K.,Hotamisligil G 2006).

ჩვენს ექსპერიმენტულ სერიაში ჩატარდა სისხლის, როგორც იმუნური სისტემის პერიფერიული ორგანოს, ეპრ მეთოდით კვლევა. ელექტრონული პარამაგნიტური რეზონანსის (ეპრ) მეთოდი აღიარებულ იქნა და ფართოდ გამოიყენება, როგორც თავისუფალი რადიკალების კვლევის ე.წ. პირდაპირი მეთოდი, რომლის საშუალებითაც შესაძლებელი ხდება რადიკალების კონცენტრაციის და ქიმიური ბუნების დადგენა ქსოვილოვან ნიმუშებში. DIO-ჯგუფის ვირთაგვების სისხლის ეპრ სპექტრში ჩვენს მიერ გამოვლენილ იქნა სუპეროქსიდრადიკალების(O_2^-) (g=2,01), ლიპოპეროქსიდების($LOO^\cdot$) (g=2,00), მაღალსპინოვანი მეთჰემოგლობინის (g=6,00) და Mn^{2+}-შემცველი კომპლექსების (g=2,14) ეპრ სიგნალები, რაც *ადასტურებს თავისუფალრადიკალური ჟანგვის ინტენსიფიკაციის, პრო-ოქსიდანტური სტიმულაციის და ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის პროცესების ინიცირების შედეგად მემბრანული სტრუქტურების რღვევის მექანიზმების ჩართვას.*

ჩვენი კვლევის შედეგად სიმსუქნის DIO-მოდელში ასევე გამოვლინდა ფერმენტული და სისხლის პროტეინული ანტიოქსიდანტური სისტემების აქტივობის მოდულაციის სურათი: კვლევის ბიოქიმიური მეთოდებით მაღალკალორიული დიეტის ფონზე ვირთაგვების სისხლში დაფიქსირდა კატალაზას აქტივობის 44%-ით ზრდა და სოდ-ის აქტივობის 18%-ით შემცირება, ხოლო ეპრ მეთოდით კვლევისას აღინიშნა დაჟანგული ცერულოპლაზმინის (g=2,05) ეპრ სიგნალის ინტენსივობის 21%-ით და Fe^{3+}-ტრანსფერინის (g=4,2) ეპრ სიგნალის ინტენსივობის 10%-ით შემცირება საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით. ეს შედეგები შესაძლებელია ახსნილ იქნას ზღვრული აქტივობის

შემდეგ სტრესული დეკომპენსაციის მდგომარეობის განვითარებით, როდესაც სუპეროქსიდრადიკალის ჭარბი ნაკადი იწვევს სოდ-ის სინთეზური მარაგის ამოწურვას და კატალაზას კომპენსატორულ მომატებას. ასევე ოქსიდაციური სტრესის ფონზე ლზჟ-ს ინტენსიფიკაცია სისხლის ფორმიანი ელემენტების მემბრანული სტრუქტურების დესტრუქციის გზით იწვევს Fe–სატრანსპორტო სისტემის ინჰიბირებას და Fe^{2+}-დამოკიდებულ პრო-ოქსიდანტურ სტიმულაციას. ერითროციტების მომატებული ჰემოლიზის შედეგად, რაც დასტურდება ჰემოგლობინის Fe^{2+}–იონების ჰიდროქსილრადიკალური ჟანგვის პროდუქტის, მეთჰემოგლობინის, ეპრ სიგნალის გამოჩენით, სისხლში იზრდება თავისუფალი რკინის კონცენტრაცია. მისი აღმდგენი ცილების, ცერულოპლაზმინის, რომელიც უზრუნველყოფს Fe^{2+} ტრანსფორმაციას Fe^{3+}–ად, და ტრანსფერინის, რომელიც უზრუნველყოფს Fe^{3+}შეკავშირებას და ტრანსპორტირებას, დეფიციტი ფენტონის და ჰაბერ-ვეისის რეაქციების გზით აძლიერებს სისხლის პრო-ოქსიდანტურ თვისებებს. *მაშასადამე, შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ მაღალკალორიული კვების ფონზე სისხლში ვლინდება თავისუფალრადიკალური ჟანგვის სამივე (ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების გენერაციის, Fe^{2+}-ინდუცირებული და ლზჟ) მიმართულებით ინტენსიფიკაციის და ოქსიდაციური სტრესის, ასევე სისხლის ანტიოქსიდანტური დაცვის სისტემის სტრესული ინჰიბირების სურათი.*

ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები კორელირებს ლიტერატურულ მონაცემებთან, სადაც ადიპოზურ და არაადიპოზურ ქსოვილებში ლიპიდების ჭარბი აკუმულაცია ზეგავლენას ახდენს ჟანგვითი მეტაბოლიზმის ინტენსივობაზე, ხელს უწყობს ჟანგბადის რეაქციული ნაერთების გაძლიერებულ წარმოქმნას (Talior I., et al., 2005, Tirosh O., et al., 2004, Atabek M.E., et al., 2004), ორგანიზმში სისტემური ოქსიდაციური სტრესის განვითარებას (Keaney J.F., et al., 2003, Olust S.O., 2002, Prazny M., et al., 1999), სიმსუქნის დროს სისხლში ანტიოქსიდანტების შემცველობის დაქვეითებას (Cazzola R., 2004), პრო- და ანტი-ოქსიდანტურ სისტემებს შორის დისბალანსის განვითარებას (Robertson G., et al., 2001) და უჯრედების მემბრანების შემადგენელი ფოსფოლიპიდების ზეჟანგურ ჟანგვას - ოქსიდაციურ დაზიანებას (Cazzola R., et al., 2004).

დისლიპიდემიის ლიპოტოქსიური ეფექტის მეორე ტალღა მოიცავს ამ ეფექტის განხორციელებას იმუნოკომპეტენტურ უჯრედებზე. ადიპოზურ ქსოვილში ლიპოლიზის სტიმულაცია განაპირობებს თავისუფალი ცხიმოვანი მჟავების ჭარბი ნაკადის მიმართვას სხვა ქსოვილებისკენ, მათ შორის, იმუნური ქსოვილებისკენ. ჰიპერლიპიდემიის ფონზე იმუნური ფუნქციის დათრგუნვა და ლიპიდური ცვლის კორექციის პირობებში მისი აღდგენა აჩვენებს მათ დადებით კორელაციურ კავშირს და საფუძველს უყრის ცნების – მეტაბოლური იმუნოდეპრესიის – ჩამოყალიბებას (Воробьев А.А. 2003). გამოვლენილია პირდაპირი კორელაცია სიმსუქნის ხარისხს, თავისუფალ-რადიკალური ჟანგვის ინტენსივობასა და იმუნოდეფიციტური სტატუსის განვითარების რისკს შორის (Dandona P., et al., 2001, Keaney J.F., Jr.,et al., 2003, 23, Multu-Turkoglu U.,et al., 2005, Ozcelik O., et al., 2005, Atabek M.F., et al., 2004).აღწერილ იქნა უარყოფითი კორელაციური კავშირები დისლიპიდემიასა და ლიმფოციტების (განსაკუთრებით T-CD4+ და NK) პროლიფერაციულ აქტივობას (Moussa M., 2000), იმუნოგლობულინების (მნიშვ-ნელოვანწილად IgG_3 და IgG_4) სინთეზურ აქტივობას და დადებითი კორელაციური კავშირი ციტოკინების (პრო-ანთებითი კლასის TNF-α,IL-1β,IL-4) ექსპრესიას შორის(Вологжанин ДА.2001), ასევე დადასტურებულ იქნა გენეტიკური სიმსუქნის დროს ლიმფოიდური ორგანოების, განსაკუთრებით თიმუსის კორტიკალური და ელენთის მალპიგის სხეულაკების, ატროფიის განვითარება (Howard JK. Et al 1999), ასევე სიმსუქნის გენეტიკურ მოდელებზე თიმუსში, ელენთასა და

სისხლში ნანახი იქნა CD4+ და CD8+ T-ლიმფოპენია(Tanaka S,1998, Moriguchi S, 1998); ზოგიერთი კლინიკური ექსპერიმენტის ფარგლებში მსუქანი მოზარდების 78%-ში(Chandra RK, 2003) ნანახი იქნა სიმსუქნესთან დაკავშირებული NK–უჯრედების და ციტოტოქსიური T-ლიმფოციტების სუბპოპულაციების დაბალი მიტოგენ-სტიმულირებული პროლიფერაცია (Nieman DC 1999), ასევე, კლიმაქტერული ასაკის ჭარბი წონის მქონე ქალების ჯგუფში ნანახი იქნა T–უჯრედული ფუნქციის (PHA და ConA-სტიმულირებული პროლიფერაცია) მკვეთრი და B–უჯრედული ფუნქციის (PWM-სტიმულირებული პროლიფერაცია) მცირედი შემცირება, ასევე გრანულოციტების ფაგოციტური აქტივობის შემცირება (Nieman DC et al. 1996), B-ჰეპატიტის ვაქცინაციის შემდგომ ანტისხეულების წარმოქმნის მაჩვენებლების შემცირება (Weber DJ 1996). უახლეს შედეგებს მიეკუთვნება მაღალკალორიული კვების ფონზე გრიპის ვირუსის მაღალვირულენტური შტამით ინფიცირებული თაგვების სიცოცხლისუნარიანობის მკვეთრი შემცირება (ნორმალური წონის თაგვებში ლეტალობა 4%, ჭარბი წონის მქონე თაგვებში 40%) (Beck S. et al 2006).

სიმსუქნის პათოგენეზის განმავლობაში იმუნოკომპეტენტური უჯრედების რაოდენობრივი და ფუნქციური ცვლილებების მექანიზმების ძიებისას იკვეთება, რომ ქრონიკული მაღალკალორიული ნაკადი, გამოდის რა უჯრედული სტრუქტურების უნივერსალური დამაზიანებელი მექანიზმის – ოქსიდაციური სტრესის ინიციატორი, ენერგიის ხარჯვის კომპენსატორულ ბიოქიმიურ მიმართულებებზე ზემოქმედების შემდეგ ეტაპზე უკვე იწვევს საპასუხო კომპენსატორული ენერგიის ხარჯვის ატფ-ს წარმომქმნელი მიმართულების მზარდი ბიოქიმიის ინჰიბირებას(Leibel RL., 1995), რაც გენეტიკურადაა დეტერმინირებული (ტრანსკრიფციული ფაქტორების, კერძოდ PPARα, ექსპრესიის შემცირება(Lefebvre P. 2006)) და რითიც ორგანიზმი იცავს თავის მემბრანულ შენებას. კომპენსაციის ეს მიმართულება მოიცავს თავისუფალი ცხიმოვანი მჟავების მიტოქონდრიაში იმპორტის(Lewis G.F., 2002), ასევე β-ოქსიდაციაში მონაწილე ენზიმების (აცილ-CoA სინთეტაზას, აცილ-CoA დეჰიდროგენაზას, 3-კეტოაცილ-CoA თიოლაზას) აქტივობის დათრგუნვას (Kim J.1998, Patel L.2003). თუმცა ოქსიდაციური სტრესის დროს, გარდა კომპენსატორული მექანიზმებისა, უჯრედის ბიოენერგეტიკული ცვლის მოშლის წამყვან მექანიზმს მიტოქონდრიის მემბრანული პოტენციალის (**Δψм**) შემცირების და ელექტრონების გადატანის სუნთქვითი ჯაჭვის მუშაობის დათრგუნვის ფონზე ატფ-ს სინთეზის ინჰიბირება წარმოადგენს.

ჩვენს ექსპერიმენტულ მოდელში მაღალკალორიული დიეტის ფონზე ვირთაგვების ელენთის უბიქინონებისა და ფლავოპროტეიდების სემიქინონური ფორმების თავისუფალრადიკალური ცენტრების (g=2,005) ეპრ სიგნალის ინტენსივობა 32%-ით, მისი ნახევარგანი (ΔH) 24%-ით იზრდება საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით; ამ მონაცემების ინტერპრეტაციია საშუალებას გვაძლევს გავაკეთოთ დასკვნა: სპლენოციტებში მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის I (NADH უბიქინონ-ოქსირედუქტაზულ) და III(უბიქინონ-ციტოქრომ C რედუქტაზულ) უბნებზე ადგილი აქვს ელექტრონების ჯაჭვური ხასიათის გადატანის წყვეტას, ელექტრონების "გაჟონვას", რის შედეგადაც ელენთის ქსოვილში იზრდება შუალედური ფლავო- და უბისემიქინონური თავისუფალრადიკალური ფორმების კონცენტრაცია. ეს მონაცემი ოქსიდაციური სტრესის ინიცირების ადრეულ მარკერს წარმოადგენს და ადასტურებს *ელენთის ქსოვილში ოქსიდაციური ცვლილებების ესკალაციას.* თავისუფალი რადიკალებით ინიცირებული ლზჟ-ს პირობებში *მიტოქონდრიის მემბრანული შენების რღვევა* დასტურდება Mn^{2+}-შემცველი კომპლექსების (g=2,14) ეპრ სიგნალების 2,8-ჯერ ინტენსიფიკაციით. ამ ცვლილებებს თან ახლავს Fe^{3+}-ტრანსფერინის (g=4,2) ეპრ

სიგნალის ინტენსივობის 30%-ით შემცირება და მაღალსპინოვანი მეთჰემოგლობინის (g=6,0) ეპრ სიგნალის გამოჩენა, რაც გვაფიქრებინებს, რომ *მაღალკალორიული დიეტის ფონზე ელენთაში მიმდინარეობს ერითროციტების მემბრანების ლზჟ-ინიცირებული ჰემოლიზის პროცესის ინტენსიფიკაცია და Fe^{2+}-დამოკიდებული პრო-ოქსიდანტური სტიმულაცია.*

ამ ექსპერიმენტულ სერიაში სპლენოციტების მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის NADH-დეჰიდროგენაზას რკინაგოგირდოვანი (FeS) ცენტრების (g=1,94) ეპრ სიგნალის ინტენსივობა 24%-ით მცირდება საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით, რაც *მეტყველებს მათი აღდგენილი ფორმების დეფიციტის შესახებ და ავლენს მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის ატფ-წარმომქმნელი ინტენსივობის შემცირებას.*

მაღალკალორიული დიეტის ფონზე ვირთაგვების ელენთაში ბაზალური NO–ს (g=2,01) ეპრ სიგნალის ინტენსივობა 2-ჯერ იზრდება და ჩნდება $FeSNO^-$ ნიტროზილური კომპლექსების (g=1,94) პარამაგნიტური ცენტრების ეპრ სიგნალი, რაც მეტყველებს NO^- დონორის ზემოქმედებით მიტოქონდრიული სუნთქვის ჯაჭვის I და IV კომპლექსებში რკინის იონების ნიტროლიზირების შესახებ და მიტოქონდრიული ჟანგვითი ფოსფორილირების (შესაბამისად, ატფ-წარმომქმნელი შესაძლებლობის) NO-ინდუცირებულ დათრგუნვას უკავშირდება.

მაშასადამე, შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ მაღალკალორიული დიეტის ფონზე ვითარდება რა ოქსიდაციური ცვლილებები, მიმდინარეობს მათი მემბრანების ინტენსიური რღვევა. ორივე მექანიზმს მივყავართ სპლენოციტების მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის ელექტრონული ტრანსპორტის ინტენსივობის და, შესაბამისად, ატფ-მასინთეზირებელი შესაძლებლობების დაქვეითდებამდე.

ჩვენს ექსპერიმენტულ სერიაში ელენთაში განვსაზღვრეთ ფერმენტის რიბონუკლეოტიდრედუქტაზას, როგორც სპლენოციტების პროლიფერაციული აქტივობის ბიოქიმიური მარკერის, ეპრ სიგნალის ინტენსივობა. ეს ფერმენტი, აკატალიზებს რა 2-რიბოზული ნაშთის შემადგენლობაში OH–ჯგუფის წყალბადის ატომით შენაცვლებას, ახორციელებს დნმ-ს უშუალო წინამორბედის 2-დეზოქსირიბონუკლეოზიდ-5-ტრიფოსფატის ექსკლუზიურ სინთეზს და დნმ-ს სინთეზის სიჩქარის ლიმიტირების ადრეული მარკერია. რიბონუკლეოტიდრედუქტაზას აქტიური ცენტრი შეიცავს თიროზინულ თავისუფალ რადიკალს და მისი ეპრ კვლევა საშუალებას იძლევა აღირიცხოს დნმ-ს წინამორბედის სინთეზის ინტენსივობა და ამ გზით დაუზიანებელ ქსოვილში განისაზღვროს უჯრედების პროლიფერაციული ინტენსივობა. მაღალკალორიულ ჯგუფში ელენთაში დაფიქსირდა რიბონუკლეოტიდ-რედუქტაზას (g=2,005) ეპრ სიგნალის ინტენსივობის 54%-ით შემცირება, *რაც სპლენოციტების* პროლიფერაციის უნარის დაქვეითებაზე მეტყველებს.

მაშასადამე, შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ ელენთაში მაღალკალორიული კვების და დისლიპიდემიის ფონზე ადგილი ჰქონდა ოქსიდაციური სტრესის გენერირებას, რომელიც ჩვენს მიერ იდენტიფიცირდა როგორც სტრუქტურული (მემბრანული შენების რღვევა), ფუნქციური (ატფ-მასინთეზირებელი აქტივობის ინჰიბირება) და პროლიფერაციული შესაძლებლობების (ატფ-დეფიციტი და რიბონუკლეოტიდრედუქტაზას აქტივობის ინჰიბირება) დარღვევის მექანიზმი.

იმუნური ფუნქციის ქსოვილოვან და ბიოქიმიურ დონეზე განხილვისას იკვეთება, რომ იმუნოკომპეტენტური უჯრედების ჰისტოქიმიურ თავისებურებას წარმოადგენს მათი უკიდურესი მგრძნობელობა და დამოკიდებულება ენერგეტიკულ წონასწორობაზე

(Хаитов Р.М. 2000): თითქმის მუდმივად მიმდინარე პროლიფერაციის გამო იმუნური უჯრედები დროის შედარებით მცირე მონაკვეთში ახორციელებენ გენეტიკური ინფორმაციის კვლავწარმოქმნას და გადაცემას, რისთვისაც მათ ყველაზე ხშირად უხდებათ მოსვენების G0 ფაზიდან პრესინთეზურ G1 ფაზაში გადასვლა, G1/S რესტრიქციის ზღვარის გადალახვა და მიტოზური გაყოფის ციკლის დასრულება. ყველა ეს ეტაპი განსაკუთრებით "ენერგოტევადია", ამიტომ ატფ-დამოკიდებული ენერგეტიკული უზრუნველყოფის დეფიციტის პირობებში უჯრედები შესაბამისი სტიმულაციის საპასუხოდ ვერ ასრულებენ უჯრედული ციკლის ამ ეტაპებს და იღუპებიან G0 ფაზაშივე, ამას თან ერთვის პრო-აპოპტოზური სტიმულაციაც, რაც იწვევს მათ რაოდენობრივ დეფიციტს (Романовский Ю.М. 1984, Труфакин В.А. 2000, Gavrilova O. et al. 2003). ბიოქიმიურ დონეზე განხილვისას, ატფ-დამოკიდებულია იმუნური უჯრედების მთელი ქიმიზმი, მათ შორის უჯრედებისათვის საინფორმაციო სიგნალების გადაცემის და გაძლიერების ატფ-დამოკიდებული მექანიზმი, როდესაც სიგნალის გადამცემ ფაქტორსა და მემბრანულ რეცეპტორს შორის ურთიერთქმედების ეფექტი რეალიზდება ე.წ. სასიგნალო ატფ-ის საშუალებით(Демидова В.С. 1994), რომლის სინთეზირებას ახორციელებს უჯრედის გარე პლაზმურ მემბრანაზე აღმოჩენილი NADH–სპეციფიური პროტონოფორული რედოქს-სისტემა და Na^+/K^+-ატფ-აზა(Crane FL. 1990) როგორც მიტოქონდრიული, ასევე მემბრანული რედოქს-სისტემის ატფ-წარმომქმნელი აქტივობის საფუძველს მათი მემბრანული შენების მთლიანობა წარმოადგენს, ამიტომ იმუნურ უჯრედებში ოქსიდაციური სტრესით ინიცირებული მემბრანული სტრუქტურების რღვევა ქმნის ატფ-დეფიციტური ფუნქციური უკმარისობის საფუძველს (Карелин А. 1998, Доценко 2001).

ოქსიდაციური დაზიანებების ფონზე მიტოქონოდრიის მემბრანის წერტილოვან გარღვევასაც კი მივყავართ მემბრანული პოტენციალთა სხვაობის (Δψм) კოლაფსამდე(Kowaltowski et al 1996,Vercesi et al 1997) არა მარტო დაზიანების წერტილში, არამედ მიტოქონდრიის მთელ სიგრძეზე, რადგან მიტოქონდრია თავისი ბუნებით წარმოადგენს ეკვიპოტენციალური ზედაპირის მქონე გამტარს(Ионичева Л.В.2006). ამ ცვლილებებს თან ახლავს მიტოქონდრიიდან ციტოპლაზმაში აპოპტოგენური ცილების გამოთავისუფლდება (ციტოქრომ C, პროკასპაზების 2,3,9, AIF ფლავოპროტეინის(apoptosis inducing factor)). გამოთავისუფლებული ციტოქრომ C, განაპირობებს რა ციტოპლაზმური ფაქტორის ARAF-1(apoptosis protease activating factor-1) კონფორმაციულ ცვლილებებს, ზრდის CARD დომენის ხელმისაწვდომობას და იწვევს პროკასპაზა-9-ის აუტოკატალიზურ პროცესინგს. წარმოქმნილი ARAF-1-ციტოქრომ C–პროკასპაზა-9 კომპლექსი განაპირობებს კასპაზების კასკადის შემდგომ აქტივაციას და აპოპტოზური სიკვდილის მექანიზმის ჩართვას(Buttke and Sandstrom 1994, Slater et al 1995, Rollet-Labelle et al 1998, Chandra et al 2000, Mates and Sanchez-Jimenez 2000) მაშასადამე, მიტოქონდრიის მემბრანული პოტენციალის Δψм მნიშვნელობა, რომლის კოლაფსის ინიცირება ხდება ოქსიდაციური სტრესის ფონზე, წარმოადგენს ატფ-მგრძნობიარე ქსოვილებში განვითარებული პრო-აპოპტოზური უჯრედშიდა სტიმულაციის ადრეულ მარკერს(Szewezyk A. 2002).

ამიტომ, ჩვენს in vitro ექსპერიმენტში ვირთაგვების სპლენოციტების უჯრედულ კულტურაზე შევისწავლეთ ჟანგბადის რეაქციული ნაერთების (წყალბადის ზეჟანგის H_2O_2) როლი აპოპტოზის ინიციაციაში. საკონტროლო ჯგუფში მაღალი მიტოქონდრიული პოტენციალის მნიშვნელობის მქონე უჯრედთა პოპულაცია 69%, ხოლო დაბალი მნიშვნელობის მქონე პოპულაცია 31% შეადგენს. წყალბადის ზეჟანგთან 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ სპლენოციტების უჯრედულ პოპულაციაში მაღალი მიტოქონდრიული პოტენციალის ($Δψ_m$) მქონე უჯრედების

(M1) რაოდენობა მცირდება 5-ჯერ, დაბალი მიტოქონდრიული პოტენციალის ($\Delta\psi_m$) მქონე უჯრედების (M2) რაოდენობა იზრდება 55,4%-ით. *მაშასადამე, დადასტურებულ იქნა ოქსიდაციური სტრესის ზეგავლენით სპლენოციტების პრო-აპოპტოზური (მისი მარკერის $\Delta\psi_m$) უჯრედშიდა სტიმულაციის მექანიზმების ინტენსიფიკაცია.*

ანტიოქსიდანტური თერაპიის შედეგების მრავალწლიანმა კვლევამ აჩვენა მისი ეფექტურობა მრავალი იმუნური პათოლოგიის დროს (Иларионов М.Ю. 2000). ქრონიკული ანთებითი პროცესის დროს ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის მაჩვენებლების დინამიკაზე დაკვირვებით გამოვლენილ იქნა ანტიოქსიდანტური თერაპიის მემბრანების მასტაბილიზირებელი შესაძლებლობები. სხვადასხვა ნოზოლოგიის დროს ოქსიდაციური სტრესის ფონზე დაფიქსირდა ბუნებრივი ფერმენტული და არაფერმენტული ანტიოქსიდანტების "დეფიციტი", რის შესავსებადაც მიზანშეწონილად ჩაითვალა ეგზოგენური არაფერმენტული ანტიოქსიდანტების მიღება, რომელთა ბიოაქტივობის საფუძველია თავისუფალი რადიკალების უშუალო ინაქტივაცია და სხვა, ენდოგენური, ანტიოქსიდანტების აღდგენის გზით თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნის შეჩერება (Голиков А.П.2003). ვერ ხერხდება მრავალი სინთეზური ანტიოქსიდანტური თვისებების მქონე ნაერთის პრაქტიკაში დანერგვა მათი არამდგრადობის ან მრავლობითი უკუჩვენების და გვერდითი ეფექტის დადგენის გამო. ამიტომ, მნიშვნელოვანია იმ საკვები მცენარეების შემადგენელი აქტიური კომპონენტების შესწავლა, რომლებიც საუკუნეების მანძილზე შეადგენდნენ ადამიანების კვებითი ქცევის საფუძველს(Chandra et al 2004). რადგანაც კვებითი ქცევის მოდელი მკვეთრად შეიცვალა ბოლო საუკუნის მანძილზე და მას განიხილავენ სიმსუქნის ერთ-ერთ ეტიოლოგიურ ფაქტორად(Дедова В.С. 2004), მიზანშეწონილი იქნება სწორედ ტრადიციული საკვები მცენარეების აქტიური ნივთიერებები იქნენ გამოკვლეულნი, როგორც პროფილაქტიკური და შესაძლოა თერაპიული ეფექტების მქონე საშუალებები.

ჩვენი ექსპერიმენტის განმავლობაში სიმსუქნის სწორედ ალიმენტურ მოდელზე შევისწავლეთ მწვანე ჩაისგან ექსტრაგირებული კატექინების კომპლექსის ანტიოქსიდანტური და ლიპიდური ცვლის მაკორეგირებელი თვისებები: 7 კვირის მანძილზე მაღალკალორიული კვების ფონზე ვირთაგვების წონის მატების ინტენსივობა (40%), მოხმარებული საკვების ინტენსივობა (22%) სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ განსხვავდება მაღალკალორიული ჯგუფის შესაბამისი მაჩვენებლებისგან. *მწვანე ჩაის კატექინები მაღალკალორიული კვებით სტიმულაციის დროს არ ახდენენ მნიშვნელოვან ზეგავლენას ცხოველების წონის მატების ინტენსივობის მაჩვენებლებზე, აღსანიშნავია მხოლოდ ბოლო 4 კვირის მანძილზე ჰიპერფაგიის ინტენსივობის შემცირების ტენდენციები.*

მწვანე ჩაის კატექინების ფონზე მაღალკალორიული საკვების მოხმარების დროს პარაგონადული ცხიმის მასა მცირდება (-1,8%-ით) საკონტროლო მაჩვენებლების დონემდე და შეადგენს ვირთაგვის სხეულის მასის 3,7%-ს, რაც *გვაფიქრებინებს კატექინების ლიპოგენეზზე მაინჰიბირელი ზეგავლენის შესაძლებლობების შესახებ.*

მაღალკალორიულ დიეტაზე მყოფ ვირთაგვებზე მწვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედებით სისხლში საერთო ქოლესტერინის, ტრიგლიცერიდების და LDL-ის შემცველობა მცირდება, HDL–ის კონცენტრაცია მატულობს და შეადგენს საკონტროლო მაჩვენებლების 117%, 88%, 87%, 104%-ს შესაბამისად. მაშასადამე, *მწვანე ჩაის კატექინებს გააჩნია ორგანიზმში ლიპიდური ცვლის კორეგირების უნარი.*

სისხლში ასევე აღინიშნება პრო-ანტი-ოქსიდანტური წონასწორობის აღდგენის ტენდენციები: სოდ-ის აქტივობა 26%-ით იზრდება (ს. მაჩვ-ის 108%); იზრდება ასევე დაჟანგული ცერულოპლაზმინის (+16%-ით), Fe^{3+}-ტრანსფერინის (ს. მაჩვ-ის 98%-მდე), მცირდება მაღალსპინოვანი მეთჰემოგლობინის (3,5-ჯერ), Mn^{2+}-შემცველი კომპლექსების (2,7-ჯერ) შესაბამისი ეპრ სიგნალების ინტენსივობა, ქრება სუპეროქსიდრადიკალების(O_2^{-})და ლიპოპეროქსი-დების($LOO^{\cdot}$) ეპრ სიგნალები. *მაშასადამე, შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ მაღალ-კალორიული კვების ფონზე სისხლში ვლინდება თავისუფალრადიკალური ჟანგვის ინტენსიფიკაციის, სისხლის ანტიოქსიდანტური დაცვის სისტემის ინჰიბირების სურათი, მწვანე ჩაის კატეხინების ფონზე კი ვღებულობთ ამ პარამეტრების ნორმალიზაციის შედეგებს.*

ასევე მწვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედებით მაღალკალორიულ ჯგუფში ელენთაში მცირდება უბიქინონებისა და ფლავოპროტეიდების სემიქინონური ფორმების თავისუფალრადიკალური ცენტრების ეპრ სიგნალის ინტენსივობა (ს. მაჩ-ის 88%-მდე), მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის NADH-დეჰიდრო-გენაზას რკინაგოგირდოვანი (FeS) ცენტრების ინტენსივობა 99%-მდე უახლოვ-დება შესაბამის საკონტროლო მაჩვენებელს; ამავდროულად, Mn^{2+}-შემცველი კომპლექსების ეპრ სიგნალები 2-ჯერ მცირდება; საკონტროლო მაჩვენებლის 92%-მდე იზრდება Fe^{3+}-ტრანსფერინის ეპრ სიგნალის ინტენსივობა და მაღალსპინოვანი მეთჰემოგლობინის ეპრ სიგნალი 2,9-ჯერ კლებულობს.

მაშასადამე, მაღალკალორიული დიეტის ფონზე მწვანე ჩაის კატექინების ინექციების შედეგად ადგილი აქვს სპლენოციტების დაქვეითებული მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის ელექტრონული ტრანსპორტის ინტენსივობის აღდგენას, რაც განაპირობებს მათი მემბრანების რღვევის და ერითროციტების ლზჟ-ინიცირებული ჰემოლიზის პროცესების შენელებას, ასევე მკს-ს პირობებში ატფ-მასინთეზირებელი აქტივობის შენარჩუნებას.

მწვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედებით მაღალკალორიულ ჯგუფში ელენთაში დაფიქსირდა დნმ-ის სინთეზის მალიმიტირებელი ფერმენტის, რიბონუკლეოტიდრედუქტაზას, ეპრ სიგნალის ინტენსივობის 2-ჯერ ზრდა. მისი ინტენსივობა 92%-მდე უახლოვდება შესაბამის საკონტროლო მაჩვენებელს, *რაც მაღალკალორიული კვების და ამ დროს ინიცირებული ოქსიდაციური სტრესის პირობებში სპლენოციტების პროლიფერაციის უნარის შენარჩუნებაზე მეტყველებს.*

მწვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედებით მაღალკალორიულ ჯგუფში ელენთაში ბაზალური NO^{-}-ს ეპრ სიგნალის ინტენსივობა 46%-ით მცირდება, რაც განაპირობებს $FeSNO^{-}$ ნიტროზილური კომპლექსების ეპრ სიგნალის ინტენსივობის მნიშვნელოვან შემცირებას და აჩვენებს, რომ *მწვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედებით აღინიშნება მიტოქონდრიული ჟანგვითი ფოსფორილირების NO-ინდუცირებული დათრგუნვის რევერსია.*

წყალბადის ზეჟანგთან და მწვანე ჩაის კატექინებთან ერთდროული 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ უჯრედების 22,0%-ში მიტოქონდრიული მემბრანული პოტენციალის ($\Delta\psi_m$) მნიშვნელობა იზრდება და აღწევს 35%-ს. *ჩვენი კვლევების შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ მწვანე ჩაის კატექინები უზრუნველყოფს სპლენოციტების მემბრანული პოტენციალის ($\Delta\psi_m$) შეფარდებით სტაბილიზაცის.*

ლიტერატურული მონაცემებიც ადასტურებს, რომ მწვანე ჩაის კატექინები ხასიათდებიან მკვეთრად გამოხატული ანტიოქსიდანტური (Loest H.B., et al., 2002, Murse T., et al., 2005, Wang Z.Y., et al., 1994,.Pan M.H., et al., 2000, Higdon J.V., Frei B.,

2003, Yokozawa T., et al., 2002, Skrzydlewska E., et al., 2002, Negishi H., et al., 2004, Chen C., et al., 2000, Negishi Het al., 2004,) და ლიპიდური ცვლის მარეგულირებელი (Raedestorff D.G., et al., 2003, Raedestorff D.G., et al., 2003, Loest H.B.,et al., 2002, Murase T., et al., 2002, Tjburg L.B., et al., 1997, Crespy V., et al., 2004, Wu L.Y., et al., 2004) აქტივობით. მათი მოქმედების ფარმაკოლოგიურ საფუძველს წარმოადგენს ამ ნაერთების უშუალო ანტიოქსიდანტური აქტივობა - როგორც ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების უშუალო დეტოქსიკაციის უნარი, ასევე ანტიოქსიდანტურ ფერმენტებზე და ტრანსკრიპციული ფაქტორების ექსპრესიაზე მასტიმულირებელი ზემოქმედება (Yokozawa T.,et al., 2002, Yokozawa T., et al., 1999, Yokozawa T.,et al., 2002).

დასკვნები:

1. ვისცერული ცხიმის დეპონირების ხარჯზე. ვირთაგვების მასის მატება მიმდინარეობს ჰიპერფაგიის (დღეში მიღებული საკვების ოდენობის ზრდის) და დისლიპიდემიის ფონზე.
2. დიეტ-ინდუცირებული სიმსუქნის მოდელში ვირთაგვების ორგანიზმში განვითარებული დისლიპიდემია იმუნური უჯრედების (სპლენოციტების) მიტოქონდრიული სუნთქვის და ენერგოგენეზის დარღვევის მიზეზს წარმოადგენს. მაღალკალორიულ დიეტაზე მყოფი ვირთაგვების სპლენოციტებში მიტოქონდრიული სუნთქვის დარღვევა პეროქსიდაციული პროცესების ინიციაციას და ამ უჯრედების მებრანული სტრუქტურების დაზიანებას განაპირობებს.
3. დიეტ-ინდუცირებული სიმსუქნის მოდელში ელენთაში ენერგოგენეზის დაქვეითება, ოქსი- და ლიპო-პეროქსიდაციის ინტენსიფიკაცია სპლენოციტების პროლიფერაციული აქტივობის განმსაზღვრელი დნმ-ს სინთეზის დაქვეითებას განაპირობებს.
4. სპლენოციტების უჯრედულ კულტურაში რეაქციული ჟანგბადის ნაერთის სიჭარბე იწვევს მიტოქონდრიული მემბრანული პოტენციალის ($\Delta\psi m$) შემცირებას, რაც განაპირობებს მიტოქონდრიის მემბრანის განვლადობის ზრდას და მათ პრო-აპოპტოზურ სტიმულაციას.
5. მწვანე ჩაის კატექინების ჟანგვით და ლიპიდურ მეტაბოლიზმზე მაკორეგირებელი მოქმედება სპლენოციტების დარღვეული ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის აღდგენას და ლიპოაპოპტოზის ინიციაციისაგან დაცვას უზრუნველყოფს.

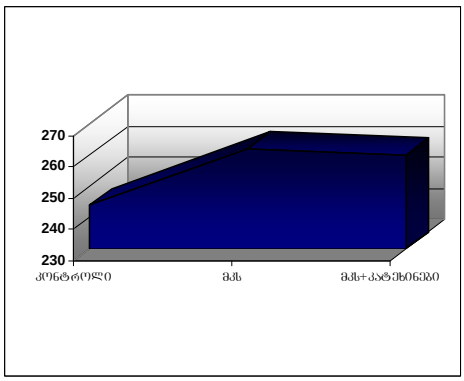
დისერტაციის თემაზე გამოქვეყნებულ ნაშრომთა სია

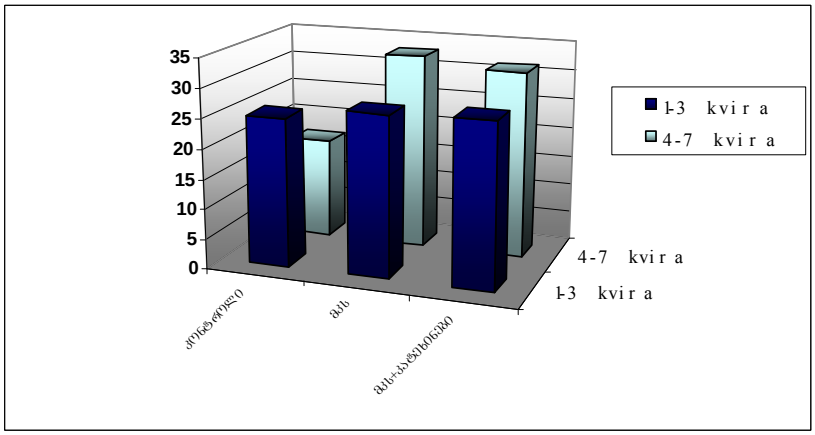
1. Эффективность катехинов зеленого чая при коррекции алиментарного ожирения в эксперименте. Georgian Medical News №9(126) сентябрь 2005, Стр 61-63 (соавт. Саникидзе Т.В.,Есаиашвили М.В.,Чхиквишвили И.Д., Датунашвили И.Т.)
2. Effect of preparations on the intensity of weight gaining and lipid metabolism parameters during experimental alimentary obesity. Annals of Biomedical research and Education, Tbilisi State Medical University, Vol 5, Issue 1, July-September 2005, p. 14-17 (co-avt Sikharulidze M.,Esaiashvili M.,Chkhikvishvili I.,Tkhilava N.,Ekaladze E.,Machavariani M.)
3. Нарушение окисьлительного метаболизма печени при экспериментальном алиментар-ном ожирении и его коррекция. Georgian Medical News №2(131) февраль 2006, Стр 85-87 (соавт.Есаиашвили М.В.,Чхиквишвили И.Д.)
4. Катехины зеленого чая – регуляторы апоптоза в спленоцитах крыс. ექსპერიმენტული

და კლინიკური მედიცინა №4(29) მარტი 2006, გვ 60-62.

მაღალკალორიული დიეტის ფონზე წვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედება ვირთაგვების წონის მატების (Δგ) დინამიკაზე

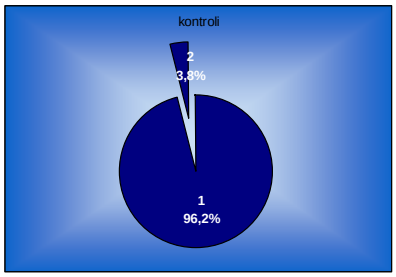
	კვირა							
	1-0	**2-1**	**3-2**	**4-3**	**5-4**	**6-5**	**7-6**	**7-1**
კონტროლი	9,0±1,7	12,0±3,0	13,0±3,0	7,0±1.5	3,0±1.5	3,0±1,5	4,0±1,5	**42,0±1,0**
მკს	11,0±3,5 p_k	16,0±2,5 p_k	11,0±2,5 p_k	8,0±2,5 p_k	9,0±1,0 p_k	7,0±0,7 p_k	9,0±0,5 p_k	**60,0±2,6 p_k**
მკს+ კატექინები ВКП+катехины	8,0±3,0 p_{mks}	16,0±3,0 p_{mks}	11,5±2,5 p_{mks}	14,5±2,5 p_{mks}	6,0±2,7 p_{mks}	6,5±0,7 p_{mks}	5,0±0,5 p_{mks}	**69,0±3,0 p_{mks}**

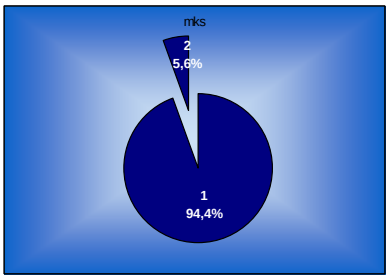


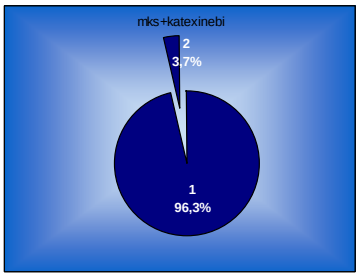


მწვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედება მაღალკალორიულ დიეტაზე მყოფი ვირთაგვების პარაგონადული ცხიმის მასაზე (გ)

Воздействие катехинов на интенсивность прибавления парагонадного жира (г) у крыс, находящихся на высококалорийной диете



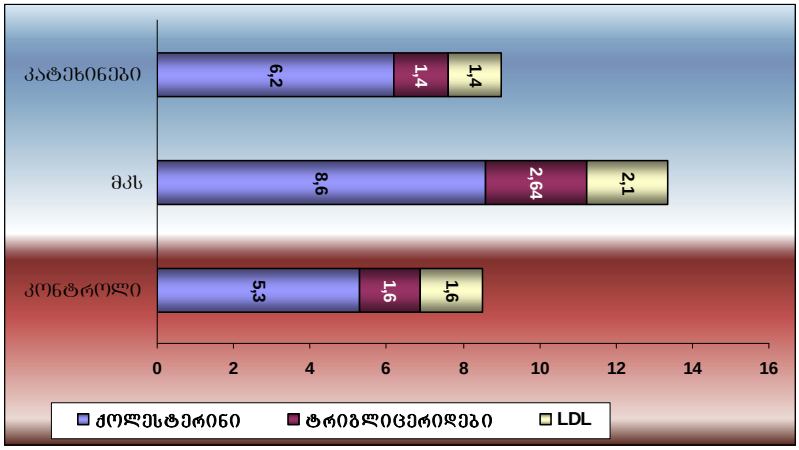




მწვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედება მაღალკალორიულ დიეტაზე მყოფი ვირთაგვების სისხლში საერთო ქოლესტერინის, ტრიგლიცერიდების და ლიპოპროტეიდების შემცველობაზე

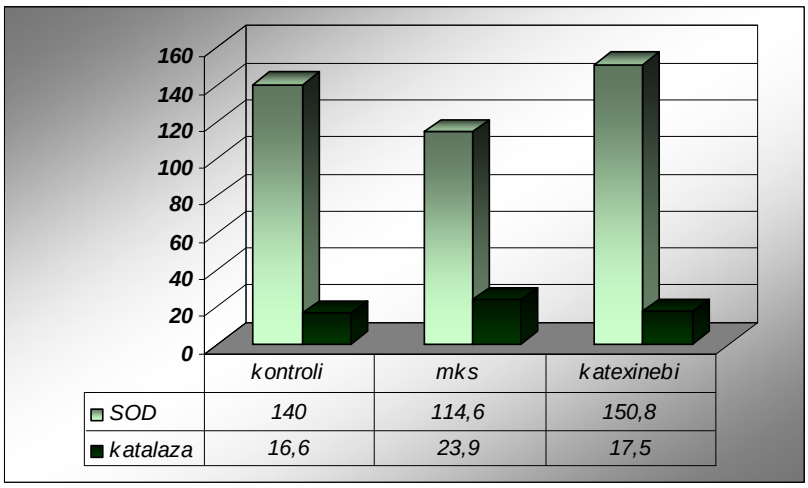
Воздействие катехинов зеленого чая на содержание общего холестерола, триглицеридов и липопротеидов в крови у крыс, находящихся на высококалорийной диете

	კონტროლი **Контроль** **1**	**მკს** **ВКП** **2**	**მკს+კატექინები** **ВКП+катехины** **3**
საერთო ქოლესტერინი (მმოლ/ლ) Общий Холестерол (ммол/л)	5,3±1,5	8,6±2,1 p_{12}<0,001	6,2±1,3 p_{13}<0, 05 p_{23}<0,001
ტრიგლიცერიდები (მმოლ/ლ) Триглицериды (ммол/л)	1,6±0,8	2,64±1,13 p_{12}<0,001	1,4±0.9 **p_{12}<0,01** p_{23}<0,001
LDL (mg/dl) (мг/дл)	121,0±3,2	158,0±5,1 p_{12}<0,001	104,7±5,3 **p_{13}<0,01** p_{23}<0,001
HDL (მგ/დლ) (мг/дл)	78,7±3,0	67,5±3,7 p_{12}<0,001	81,05±3,7 **p_{13}<0,01** p_{23}<0,001



მწვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედება მაღალკალორიულ დიეტაზე მყოფი ვირთაგვების სისხლის ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობაზე

Воздействие катехинов зеленого чая на активность антиоксидантных ферментов крови у крыс, находящихся на высококалорийной диете



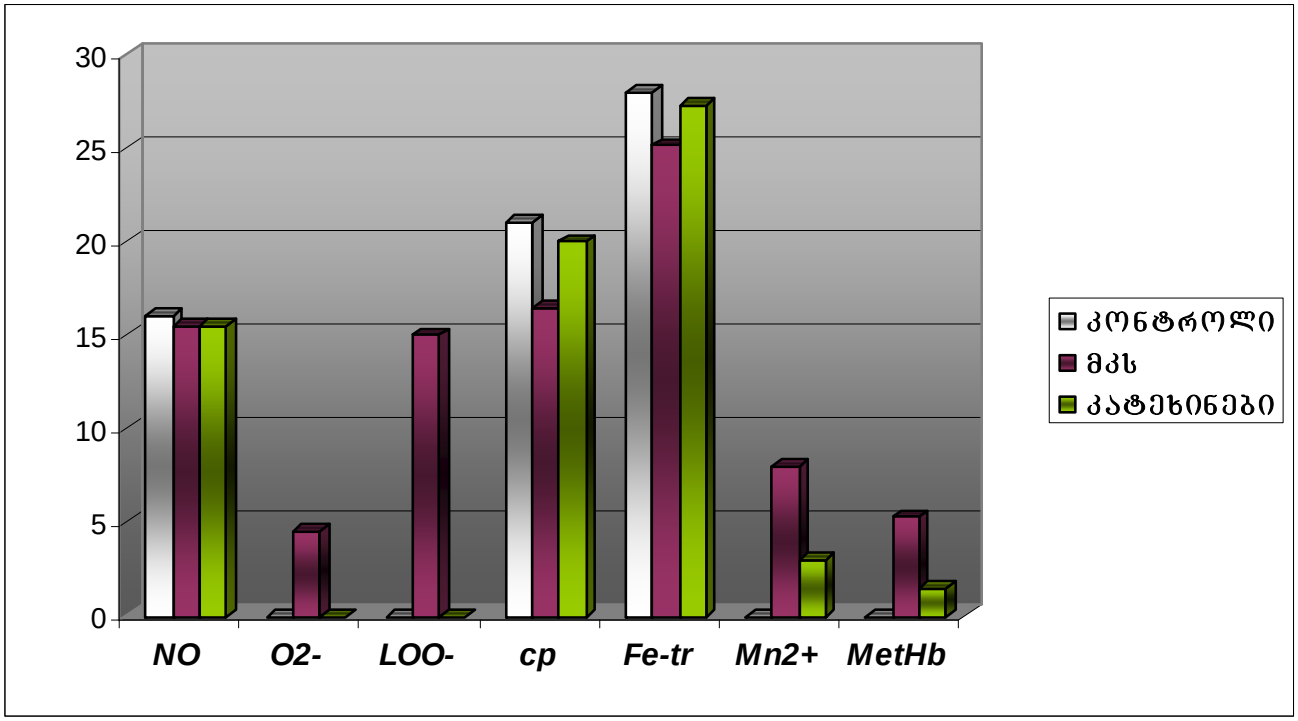
მწვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედება მაღალკალორიულ დიეტაზე მყოფი ვირთაგვების სისხლში პარამაგნიტური ცენტრების ინტენსივობაზე

Воздействие катехинов зеленого чая на интенсивность парамагнитнытных центров крови у крыс, находящихся на высококалорийной диете

	NO g=2,01 1(ᲛᲛ/ᲛᲒ)	O_2^- g=2,00 1(ᲛᲛ/ᲛᲒ)	$LOO^{\cdot}$ g=2,00 1(ᲛᲛ/ᲛᲒ)	ცპ-cp g=2,05 1(ᲛᲛ/ᲛᲒ)	Fe^{3+}-ტრანსფ. g=4,2 1(ᲛᲛ/ᲛᲒ)	Mn^{2+} g=2,14 1(ᲛᲛ/ᲛᲒ)	MetHb g=6,0 1(ᲛᲛ/ᲛᲒ)
კონტროლი Контроль	16,0±0,5	-	-	21,0±1,5	28,0±1,4	-	-
მკს ВКП	14,0±0,5 P_{12}<0,01	4,5±0,7 P_{23}<0,001	15,0±1,5 P_{23}<0,01	16,5±2,0 P_{12}<0,001	25,1±1,9 P_{12}<0,001	8,0±0,5 P_{23}<0,001	5,3±1,5 P_{23}<0,001
მკს+ კატექინები ВКП+катехины	15,5±0,6 P_{14}>0,1	-	-	20,0±1,8 P_{13}>0,1	27,3±1,1 P_{13}>0,1	3,0±1,0 P_{23}<0,001	1,5±0,6 P_{23}<0,001

მწვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედება მაღალკალორიულ დიეტაზე მყოფი ვირთაგვების სისხლის პარამაგნიტური ცენტრების ინტენსივობაზე

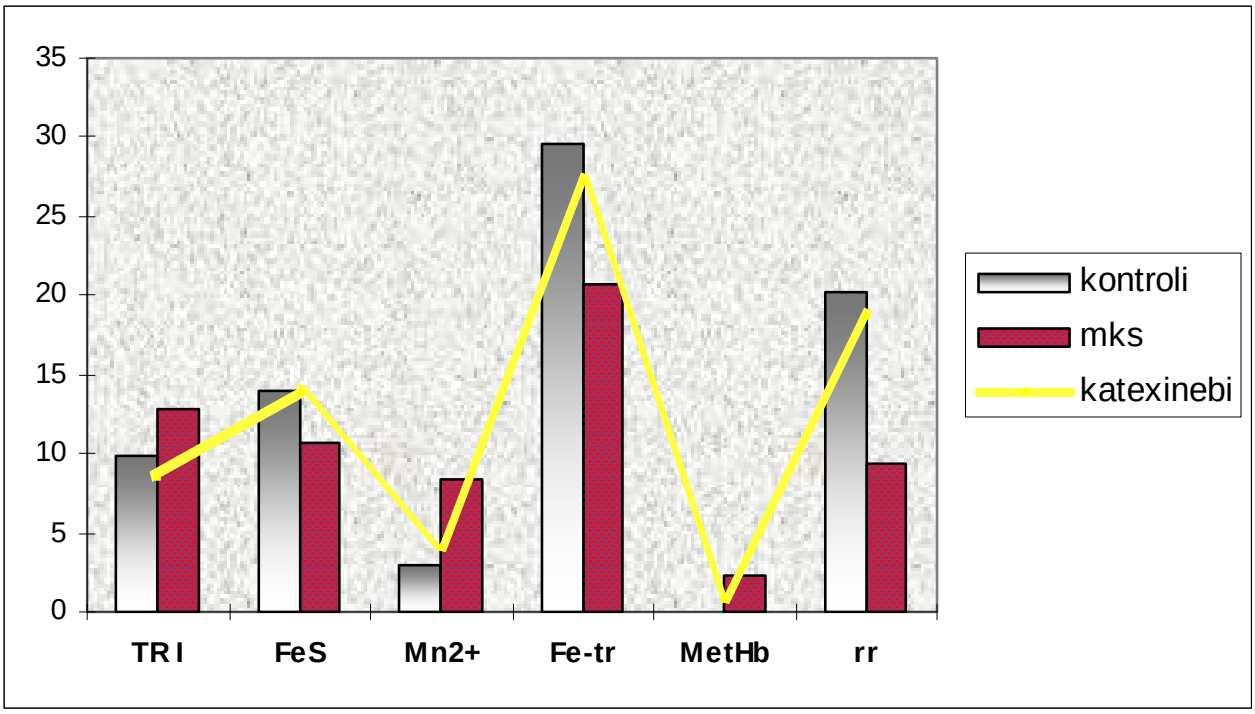
Воздействие катехинов зеленого чая на интенсивность парамагнитнытных центров крови у крыс, находящихся на высококалорийной диете



მწვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედება მაღალკალორიულ დიეტაზე მყოფი ვირთაგვების ელენთის პარამაგნიტური ცენტრების ინტენსივობაზე

Воздействие катехинов зеленого чая на интенсивность парамагнитнытных центров селезенки у крыс, находящихся на высококалорийной диете

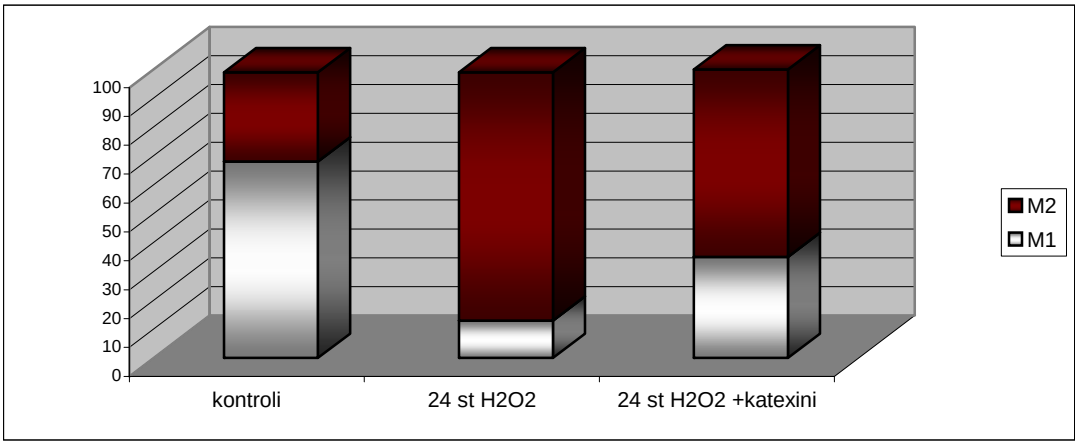
	Mn^{2+} g_1=2,14 1(ᲐᲐ/ᲐᲒ)	Fe^{3+}-tr g=4,2 1(ᲐᲐ/ᲐᲒ)	MetHb g=6,0 1(ᲐᲐ/ᲐᲒ)	FeS g_2=1,94 1(ᲐᲐ/ᲐᲒ)	თ.რ. G=2,005		rr g=2,005 1(ᲐᲐ/ᲐᲒ)
					I 1(ᲐᲐ/ᲐᲒ)	ΔH (Hs)	
კონტროლი Контроль	3,0±0,2	29,6±0,8	-	14,0±0,8	9,8±0,4	12,3±0,5	20,2±1,5
მკს ВКП	8,3±0,5 P_{12}>0,1	20,7±0,6 P_{12}<0,001	2,3±0,6 P_{12}<0,001	10.7±0,6 P_{12}<0,001	12,89±1,5 P_{12}<0,001	15,2±0,4 P_{12}>0,1	9,3±1,8 P_{12}<0,001
მკს+ კატექინები ВКП+катехины	4,1±0,2 $2p_{13}$>0,1 P_{23}>0,1	27,3±0,7 p_{13}>0,1 P_{23}>0,1	0,8±0,7 p_{13}>0,1 P_{23}>0,1	13,9±0,7 p_{13}>0,1 P_{23}>0,1	8,6±0,7 p_{13}>0,1 P_{23}>0,1	11,9±0,5 p_{13}>0,1 P_{23}>0,1	18,7±1,8 p_{13}>0,1 P_{23}<0,01

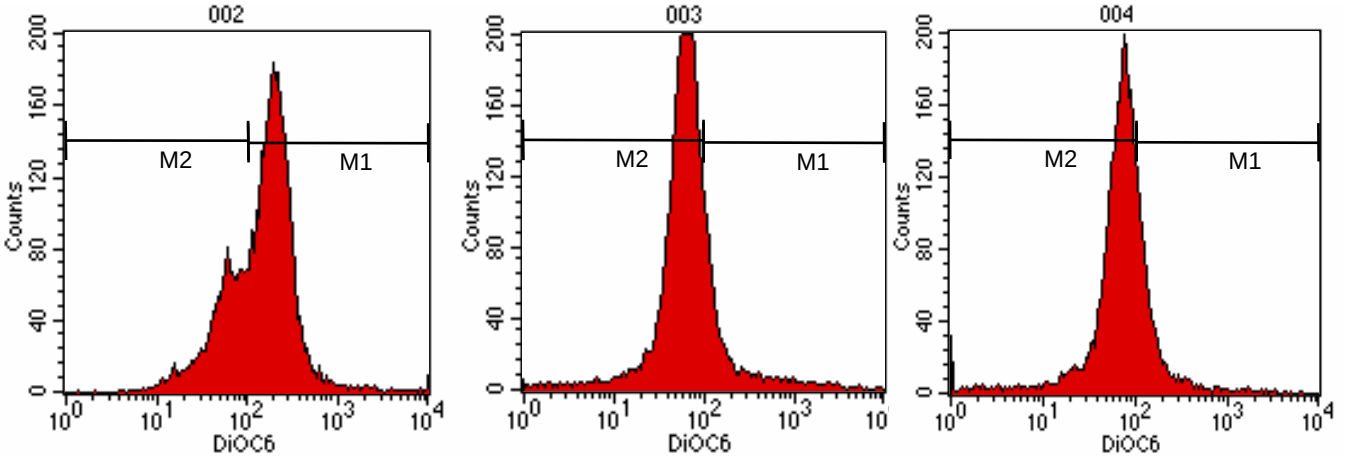


მწვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედება წყალბადის ზეჟანგთან სპლენოციტების ინკუბაციის პირობებში

Воздействие катехинов зеленого чая на апоптозную активность клеточной культуры

спленоцитов



სპლენოციტთა უჯრედული კულტურის ფლუოროგრამა

Флюорограмма клеточной культуры спленоцитов