

მ ა ი ა ს ა რ ა ლ ი ძ ე

პლაფერონი ლბ, როგორც ოქსიდაციური სტრესის რეგულატორი რადიაციული
დასახივების დროს

14.00.36 - ალერგოლოგია და იმუნოლოგია

დ ი ს ე რ ტ ა ც ი ა

მედიცინის მეცნიერებათა კანდიდატის სამეცნიერო
ხარისხის მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელი - ბიოლოგიურ მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი
თამარ სანიკიძე

თბილისი

2006

ს ა რ ჩ ე ვ ი

შესავალი.

თავი I. ლიტერატურის მიმოხილვა.

1.1. ჟანგბადის რეაქციული ფორმები, როგორც

შიგაუჯრედოვანი რეგულატორული სისტემების მეორადი მესენჯერები.

1.2. ორგანიზმის ანტიოქსიდანტური დაცვის სისტემა.

1.3 პლაცენტარული ფარმაკოლოგიური პრეპარატის _ პლაფერონ ლბ-ს დახასიათება.

1.4. აპოპტოზის განვითარების ზოგიერთი მექანიზმები.

თავი II. კვლევის მასალა და მეთოდები.

2.1. რადიაციული დასხივება.

2.2. ბიოქიმიური კვლევები.

თავი III. საკუთარი კვლევები და მათი შედეგები.

3.1 ვირთაგვების სისხლის ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის რადიაცია-ინდუცირებული ცვლილებები და მისი კორექცია C ვიტამინის და პლაფერონ ლბ-ს მეშვეობით.

3.2. ვირთაგვების სისხლის პრო- და ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობის გამომხატველი ეპრ სიგნალების ინტენსივობის რადიაცია ინდუცირებული ცვლილებები და მისი კორექცია C ვიტამინის და პლაფერონ ლბ-ს მეშვეობით.

3.3 ვირთაგვების სისხლში ლიპიდური ცვლის მაჩვენებლების ცვლილებები რადიაციული დასხივების, C ვიტამინით და პლაფერონ ლბ-თი ზემოქმედების დროს.

3.4 ვირთაგვების სისხლში ერთროციტების დეფორმაბელობის და მეთემოგლობინის შემცველობის ცვლილებები რადიაციული დასხივების და C ვიტამინით და პლაფერონ ლბ-თი ზემოქმედების დროს.

3.5 ღვიძლის პარამაგნიტური ცენტრების ცვლილებები რადიაციული დასხივების და პლაფერონ ლბ-ს და ვიტამინ C-ს სამკურნალო და პრევენციული ზემოქმედების დროს.

3.6 იმუნოჰისტოქიმიური კვლევის შედეგები.

თავი IV. მიღებული შედეგების განსჯა.

დასკვნები.

გამოყენებული ლიტერატურა.

შ ე ს ა ვ ა ლ ი

სხივური თერაპია – არის მაიონიზებული გამოსხივების მიზანმიმართული გამოყენება სიმსივნური და არასიმსივნური (ოპერაციის შემდგომი ინფილტრაციული პროცესები, კიდურების ამპუტაციის შემდგომი გართულება, სახსრების ანთებითი და დეგენერაციული ცვლილებები და სხვა) დაავადებების სამკურნალოდ. როგორც ცნობილია, რადიო- და ქიმიოთერაპიის შესაძლებლობები შეზღუდულია იმ მძიმე გართულებებით, რომლების დაკავშირებულია რადიო-მგრძობიარე ქსოვილების დაზიანებასთან. დაგროვებული ექსპერიმენტული მონაცემების ანალიზიდან გამომდინარეობს, რომ γ -დასხივების დროს რადიომგრძობიარე ორგანოების უჯრედების სწრაფი სიკვდილის მიზეზს ცილა p-53-ზე დამოკიდებული აპოპტოზის განვითარება წარმოადგენს (Assaad W, 2003). არსებობს მოსაზრება, რომ რადიაცი-ინდუცირებული სტრესის განვითარების პირველი საათების განმავლობაში ცილა p-53-ის ფუნქციონირების დათრგუნვა, შესაძლოა, შეამცირებს ნორმალური ქსოვილების დაზიანებას რადიოთერაპიის დროს. სწორედ ასეთი ანტი-აპოპტოზური მოქმედების მქონე პრეპარატების გამოვლინებას ეძღვნება ჩვენი ნაშრომი. როგორც უკვე აღვნიშნეთ, ჩვენს მიზანს შეადგენდა პლაფერონ ლბ-ს რადიოპროტექტორული ეფექტის დადგენა ერთჯერადი ძლიერი რადიაციული დასხივების დროს.

მრავალი კვლევებია ჩატარებული რადიაციული დაზიანების მექანიზმების შესასწავლად ცოცხალი ორგანიზმის ორგანიზაციის ფიზიკო-ქიმიურ, ბიოქიმიურ და მოლეკულურ დონეზე. ცნობილია, რომ რადიაციული დაზიანების ეს ეტაპები მჭიდროდაა დაკავშირებული თავისუფალრადიკალური რეაქციების მიმდინარეობასთან.

რადიაცია-ინდუცირებული დაზიანების პროცესში წამყვანი როლი ენიჭება M ბიოლოგიური მემბრანების ოქსიდაციურ დაზიანებას, რომელიც ხორციელდება მაიონიზებული რადიაციის ზემოქმედებით გენერირებული ჟანგბადის რეაქციული ნაერთების მეშვეობით. მრავალ კვლევებში ნაჩვენებია იქნა, რომ დასხივების დროს იზრდება ლიპიდების პეროქსიდაციის ინტენსივობა, მცირდება ანტიოქსიდანტური ფერმენტების (განსაკუთრებით კატალაზას და გლუტათიონ ოქსიდაზას) აქტივობა. დადგენილია თიოლშემცველი პროტეინების სტატუსის და Mn-SOD მნიშვნელოვანი როლი უჯრედების პოსტრადიაციული ადაპტაციური პასუხის განვითარებაში (Biaglow J.E., et al., 2003, Guo G., et al., 2003).

სუბუჯრედულ ორგანელთა შორის მიტოქონდრია საკმაოდ მგრძნობიარეა ოქსიდაციური სტრესის მიმართ, რაც განაპირობებს მის მნიშვნელოვან როლს რადიაცია-ინდუცირებული ციტოტოქსიურობის და უჯრედის სიკვდილის განვითარების მექანიზმებში. რადიაცია იწვევს ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის განვითარებას როგორც ნორმალური ასევე სიმსივნური უჯრედების მიტოქონდრიაში, მიტოქონდრიების რედოქს-მდგომარეობის მოდულაციას პოტენციური მნიშვნელობა გააჩნია როგორც ნორმალურ ქსოვილებში სხივური დაავადების პრევენციის, ასევე სიმსივნის რეგრესიის დროს (Kamat J.P., et al., 1999).

ნაჩვენებია იქნა, რომ დაგროვებული ექსპერიმენტული მონაცემების ანალიზიდან გამომდინარეობს, რომ γ -დასხივების დროს რადიომგრძნობიარე ორგანოების უჯრედების სრაფი სიკვდილის მიზეზს რადიაცია-ინდუცირებული აპოპტოზი წარმოადგენს, რომელიც მიმდინარეობს პროტეინების, P-53 და Bcl-2-ის მონაწილეობით (Mathieu J., et al., 1999). Bcl-2-ის ანტიოქსიდანტური თვისებების გამო მას გააჩნია უჯრედის რედოქს სტატუსის და რედოქს-დამოკიდებული აპოპტოზის რეგულაციის უნარი (Pan Z., et al., 1999). ინტერესს წარმოადგენს Bcl-2-ის ექსპრესიის ინჰიბირება რადიაცია-ინდუცირებული აპოპტოზის აქტივაციის დროს, რაც

მიუთითებს ამ პროცესში მიტოქონდრიების მნიშვნელოვანი როლის შესახებ. P-53 იწვევს აპოპტოზის განვითარებას სხვადასხვა გენების ტრანსკრიპციაზე დამოკიდებულ და დამოუკიდებელი გზით, სფინგოლიპიდების, ცერამიდის და ჟანგბადის რეაქციული ნაერთების ჩათვლით. ამ აპოპტოზური გზების რეგულირება შესაძლებელია მემბრანა შეკავშირებულ სფინგომიელინაზას ინჰიბირებით და ცერამიდ ინდუცირებული აპოპტოზური კასკადის ინიციაციის გზით (Zavodnik L.B., et al., 2003), L რადიაციის ზემოქმედების დროს აპოპტოზური სიგნალის აღმოცენება დამოკიდებულია არა მხოლოდ რადიაციის დოზაზე, არამედ პოსტრადიაციული ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობაზე (Lyng F.M., et al., 2001). ამასთან, აპოპტოზის რეგულაციისათვის მნიშვნელოვანია ანტიოქსიდანტების და არა ოქსიდანტების აქტივობა. ნაჩვენები იქნა, რომ რადიაციის ზემოქმედების დროს ცერამიდის აკუმულაცია და გლუტათიონის შემცველობის დაქვეითება განპირობებულია p-53-ის გააქტივებით (El-Assaad W., et al., 2003). ამასთან დაკავშირებით ინტერესს წარმოადგენს ორგანიზმში რადიაციული ზემოქმედების საპასუხოდ ანტიოქსიდანტური სისტემის ცვლილებების და პროაპოპტოზური მარკერის P-53-ის ექსპრესიის ინტენსივობის შესწავლა.

რადიაციული დაზიანების პათოგენეზში NO-ს მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება. რადიაციული დაზიანების დროს NO ასრულებს დუალურ, რადიოპროტექტორულ და რადიოტოქსიურ როლს. NO-ს რადიოპროტექტორული როლი, განპირობებულია ამ მოლეკულის ანტიოქსიდანტური თვისებებით (Gisone P., et al., 2003), ხოლო რადიაცია-ინდუცირებულ დაზიანებას საფუძვლად უდევს რადიაცია-ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესის პირობებში NO-ს ციტოტოქსიურ პეროქსინიტრიტად ბიოლოგიური დეგრადაცია (Soloviov A. I., 2003). დადგენილია NO-ს ინჰიბიტორების რადიაცია-ინდუცირებული აპოპტოზის პრევენციული მოქმედება, რომლის საფუძველია დაღმავალი კასპაზების ინჰიბირება მიტოქონდრიების დაზიანების ხარისხის შემცირების გზით (Chen Y., et al., 2001).

ლიტერატურული მონაცემების და ჩვენი კვლევების შედეგების ანალიზის საფუძველზე შეგვიძლია გავაკეთოთ დასკვნა, რომ:

1. რადიაციული დაზიანების პათოგენეზში ოქსიდაციურ სტრესს მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება.

2. რადიაცია-ინდუცირებული აპოპტოზის განვითარების მექანიზმში ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობა გაცილებით მნიშვნელოვანია პროოქსიდანტურ სისტემასთან შედარებით. ორგანიზმის ქსოვილების, ორგანოების Aრადიაციის სხვადასხვა დოზების მიმართ ტოლერანტობის გათვალისწინებით და სიმსივნეების რადიოთერაპიის ეფექტურობის თვალსაზრისით ძალზე მნიშვნელოვანია ქსოვილების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის რადიომგრძობელობის შესწავლა.
3. მიტოქონდრიების მაღალი მგრძობელობა რადიაცია-ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესის მიმართ ამ ორგანოების მნიშვნელოვან როლს განაპირობებს რადიაცია-ინდუცირებული აპოპტოზის განვითარების მექანიზმში.
4. NO-ს ციტოპროტექტორული და ციტოტოქსიური თვისებების გამოვლინება რადიაციული დაზიანების დროს დამოკიდებულია ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობაზე და ორგანიზმის ანტიოქსიდანტური დაცვის პოტენციალზე.

პრეპარატ პლაფერონ ლბ-ს ახასიათებს მკვეთრად გამოხატული მემბრანოპროტექტორული მოქმედება, განპირობებული ამ პრეპარატის არა რეაქციული ჟანგბადის სკავენჯერის (ანტიოქსიდანტური) თვისებებით, არამედ მისი შიგაუჯრედოვანი რედოქს-სტატუსის რეგულაციის უნარით. წინასწარ ექსპერიმენტულ კვლევებზე დაყრდნობით შეგვიძლია ვივარაუდოთ, რომ ამ მექანიზმს საფუძვლად უდევს მიტოქონდრიული სატრანსპორტო ჯაჭვის გადამტანების რედოქს-მდგომარეობის სტაბილიზაცია. უჯრედის (ქსოვილის) რედოქს-სტატუსის შენარჩუნება განაპირობებს მასში როგორც რედოქს- მგრძობიარე ფაქტორების (NF-kappa-B) სტაბილიზაციას, ინდუცირებადი NOS-ის ექსპრესიის შეზღუდვას, ასევე უკვე სინთეზირებული აზოტის პეროქსინიტრიტად ტრანსფორმაციის დაქვეითებას და ამ სასიგნალო მოლეკულის ფიზიოლოგიური ფუნქციის შენარჩუნებას.

ჩატარებულ კვლევებში ნაჩვენებია იქნა პლაფერონ ლბ-ს ზემოქმედებით დასხივებული ადამიანების სისხლში ანტიოქსიდანტური სისტემის მაჩვენებლების (ცერულოპლაზმინი-ტრანსფერინი) ნორმალიზაცია, დაქვეითებული Fe^{3+} -ტრანსფერინის და NO-ს შემცველობის აღდგენა, რაც ხელს უწყობს ორგანიზმში NO-რეგულირებადი რკინის მეტაბოლიზმის ნორმალიზაციას და რკინაშემცველი ცილების

სინთეზის და მასზე დამოკიდებული პროლიფერაციული პროცესების ინტენსივობის აღდგენას. ამავე დროს ნაჩვენებია იქნა, რომ პლაფერონ ლბ-ს გააჩნია სიმსივნურ უჯრედებში აპოპტოზის გააქტივების უნარი (Bachitashvili a., et al., 1..). პლაფერონ ლბ-ს აღნიშნული თვისებების გამო ჩვენ გადავწყვიტეთ შევისწავლოთ მისი ეფექტურობა რადიაციული დაზიანების დროს.

ზემოთქმულიდან გამომდინარე **შრომის მიზნად** დავისახეთ რადიაციული დაზიანების განვითარების მოლეკულური მექანიზმების და პრეპარატ პლაფერონ ლბ-ს პროტექტორული მოქმედების ეფექტურობის შესწავლა რადიაციული დაზიანების დროს.

მიზნის მისაღწევად დასახულია **შემდეგი ამოცანები**:

1. რადიაციული დაზიანების მოლეკულური მექანიზმების დადგენა, რისთვისაც ერთჯერადი დასხივების პირობებში შესწავლილი იქნება:

ა) დასხივებული ვირთაგვების ღვიძლში მიტოქონდრიული სუნთქვის ინტენსივობის და ელექტრონების სატრანსპორტო ჯაჭვის მთლიანობა, ელექტრონულ-პარამაგნიტური (ეპრ) სიგნალები (უბისემიქინონების, NADH დეჰიდროგენაზას FeS ცენტრების, ქსანტინოქსიდაზას), რკინის შემცველი პარამაგნიტური კომპლექსების (Fe^{2+} , Fe^{3+} -ტრანსფერინი), აზოტის ჟანგის მეტაბოლიზმის (თავისუფალი NO, Hb-NO, FeS-NO), თავისუფალრადიკალური ჟანგის ინტენსივობის (სპინმონიშნული ჟანგბადის და ლიპიდების თავისუფალი რადიკალების, აზოტის ჟანგის) ამსახველი პარამეტრები ეპრ-სპექტროსკოპიული მეთოდით, სპინხაფანგების გამოყენებით.

ბ) დასხივებული ვირთაგვების სისხლში ანტიოქსიდანტური ფერმენტების (ცერულოპლაზმინის, Fe^{3+} -ტრანსფერინის, კატალაზას, გლუტათიონ-რედუქტაზას, სუპეროქსიდდისმუტაზას) და პროოქსიდანტური სისტემის (Mn^{2+} , Fe^{2+} იონების, ლიპიდების და ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების, აზოტის ჟანგის) და აგრეთვე Met-Hb, დეზოქსიჰემოგლობინის NO-სთან კომპლექსების (Hb-NO) შემცველობა

ეპრ-სპექტროსკოპიის და სპექტროფოტომეტრული მეთოდების გამოყენებით.

გ) დასხივებული ვირთაგვების ღვიძლში პროაპოპტოზური ცილა p-53-ის ექსპრესიის ინტენსივობა იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით.

2. დასხივებულ ვირთაგვებზე ყველა შესწავლილ (ზემოთ ჩამოთვლილ) პარამეტრზე ანტიოქსიდანტური ტრადიციული პრეპარატის, C ვიტამინის და პლაფერონ ლბ-ს მაკორეგირებელი მოქმედების შესაძლებლობის და მექანიზმების შესწავლა.

თავი I

ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1. ჟანგბადის რეაქციული ფორმები, როგორც შიგაუჯრედოვანი რეგულატორული სისტემების მეორადი მესენჯერები

თავისუფალრადიკალური ჟანგვა – უჯრედების დაზიანების ერთ-ერთი უნივერსალური მექანიზმია, მაგრამ ამავე დროს მათი ცხოველქმედების აუცილებელი სტადიაა.

თავისუფალრადიკალური ჟანგვის ინიციაცია განპირობებული შეიძლება იყოს სხვადასხვამიზეებით, მაგრამ ამ პროცესებში მთავარ როლს ასრულებელ შუალედური პროდუქტები – ჟანგბადის რეაქციული ნაერთები, რომლებიც უჯრედების ცხოველქმედების (მიტოქონდრიული სუნთქვა, მიკროსომული ჟანგვა, მაკროფაგების აქტივაცია, ჰიდროქსინონების ლეიკოფლავინები, კატექოლამინების, თიოლების და სხვა აუტოდაჟანგვა) ჩვეულებრივ მეტაბოლიტებს წარმოადგენენ. წლების განმავლობაში რეაქციული ჟანგბადი განიხილებოდა არასასურველ ტოქსიკურ გვერდით პროდუქტად. მათი მოქმედების თავიდან ასაცილებლად უჯრედებს გამომუშავებული აქვთ დაცვითი სისტემების მთელი რიგი მექანიზმები, მხოლოდ ბოლო წლების მონაცემებით დადგინდა, რომ ჟანგბადის რეაქციული სახეობების (სუპეროქსიდანიონრადიკალების (O_2^-), წყალბადის ზეჟანგების (H_2O_2), ჰიდროქსილრადიკალების ($O\cdot H$)) წარმოქმნის პროცესი იმყოფება მკაცრი რეგულაციის ქვეშ და მას ფიზიოლოგიური მნიშვნელობა გააჩნია (Allen R.G., 1998).

პირველი მონაცემები იმის შესახებ, რომ სუპეროქსიდურ ანიონს (O_2^-) და წყალბადის ზეჟანგს (H_2O_2) სასიგნალო ფუნქციები გააჩნიათ ბაქტერიებზე და მცენარეებზე იქნა მიღებული. ბაქტერიებში ადგილი აქვს გენთა ტრანსკრიპციის რედოქს-რეგულაციას. მცენარეებში პათოგენის მოქმედების საპასუხო პროცესებში H_2O_2 -ს სასიგნალო მოლეკულის ფუნქცია გააჩნია (Allen R.G., 1998; Allen R.G., 1996).

ძუძუმწოვრებში ჟანგბადის რეაქციული ფორმების დაბალი კონცენტრაციის დადებითი მოქმედება დღესდღეისობით აღარ არის პარადოქსული. ნაჩვენებია, რომ წყალბადის ზეჟანგის მილიმოლარული კონცენტრაციები არ არღვევენ გენომს, პირიქით, ააქტივებენ ანტიოქსიდანტური ფერმენტების ექსპრესიას (Li P.-F., et al., 1999) ნაჩვენებია, რომ წყალბადის ზეჟანგი – მიტოქონდრიებში ATP-ის სინთეზის აუცილებელი კომპონენტია, ნეიტროფილების ფაგოციტური აქტივობის სტიმულატორია. H_2O_2 -ის მიკრომოლარული კონცენტრაციები ასტიმულირებენ სუპეროქსიდდისმუტაზას აქტივობას, მისი მილიმოლარული კონცენტრაციების მაინჰიბირებელი მოქმედების საწინააღმდეგოდ (Devary Y., et al., 1991., Choi A.M.K., et al., 1995).

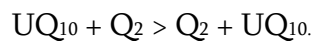
ექვს არ იწვევს, რომ ჟანგბადი ასრულებს ორგანიზმში ერთდროულად რამდენიმე ფუნქციას. იგი წარმოადგენს მიტოქონდრიების სუნთქვის ჯაჭვში ელექტრონების საბოლოო აქცეპტორს, ასრულებს სუბსტრატის როლს ოქსიგენების და ოქსიდაზებისათვის, ჟანგბადის რეაქციული ფორმები გამოიყენება ორგანიზმში, როგორც იარაღი პათოგენური მიკრობების საწინააღმდეგოდ. აგრეთვე ისინი წარმოადგენენ სასიგნალო მოლეკულას, რომელიც იძლევა სიგნალს ორგანელების, უჯრედების, ორგანოების და მთელი ორგანიზმის თვითლიკვიდაციისათვის. წყალბადის ზეჟანგის Fe^{2+} და Cu^{2+} იონებით აღდგენისას წარმოიქმნება ძალზე ტოქსიური ჰიდროქსილური რადიკალი (OH), რომელსაც გააჩნია მრავალი ნივთიერებების, მათ შორის დნმ-ის დაჟანგვის უნარი.

აერობული ორგანიზმების უჯრედებში გამოყენებული ჟანგბადი თითქმის 95%-ით აღდგება მიტოქონდრიული ციტოქრომოქსიდაზას მიერ, ხოლო დანარჩენი – მრავალრიცხოვანი ოქსიდაზების და აერობული დეჰიდროგენაზების მონაწილეობით. ჟანგბადის სრულყოფილი დაჟანგვისათვის აუცილებელია ჟანგბადის მოლეკულაზე (O_2) ერთდროულად ელექტრონის გადატანა, რაც განაპირობებს ორი წყლის

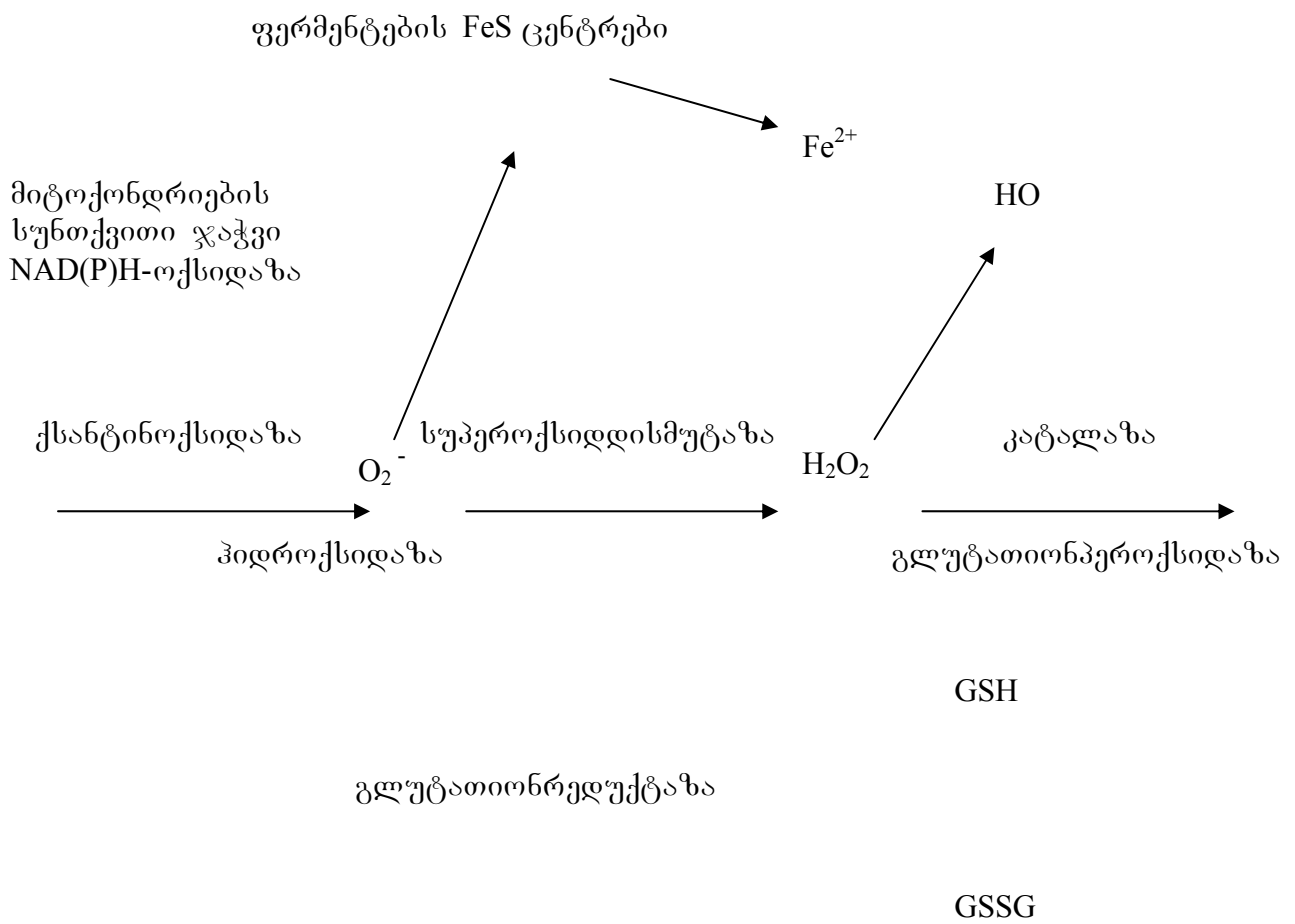
მოლეკულის წარმოქმნას. როცა ჟანგბადის აღდგენაში მონაწილეობს 4-ზე ნაკლები ელექტრონი, წარმოიქმნება არასრული მეტაბოლიტები – ჟანგბადის აქტიური ფორმები, რეაქციული ჟანგბადის წარმოქმნა ძლიერდება ჰორმონების ციტოკინების და სხვა ფიზიოლოგიური სტიმულებით და აგრეთვე გარეგანი ზემოქმედებების შედეგად.

მაღალ კონცენტრაციებში რეაქციული ჟანგბადი ავლენს უჯრედებზე ტოქსიურ ზემოქმედებას, რაც გამოიხატება პირველ რიგში მემბრანების დაზიანებით და დნმ-ის შეუქცევადი მოდიფიკაციით. რეაქციული ჟანგბადის ზომიერი წარმოქმნისას იგი მოქმედებს როგორც სპეციფიური სასიგნალო მოლეკულა და მონაწილეობს იმუნური პროცესების სისხლძარღვოვანი ენდოკრინული და სხვა ფიზიოლოგიური სისტემების რეგულაციაში. ჟანგბადის მოლეკულის (O_2) ერთელექტრონიანი აღდგენისას წარმოიქმნება სუპეროქსიდული ანიონი (O_2^-) ჟანგვითი ფოსფორილირების დროს მორეაგირე ჟანგბადის თითქმის 1 % აღდგენა O_2^- -მდე.

სუპეროქსიდრადიკალების სინთეზის ერთ-ერთი ძირითადი წყარო – ნახევრადაღდგენილი უბიქონინის (UQ_{10}) არაფერმენტული დაჟანგვაა მიტოქონდრიებში.



1. სუპეროქსიდის არაკონტროლირებადი წარმოქმნა მიმდინარეობს აგრეთვე ჰიდროქსილირების რეაქციებში ციტოქრომ P-450-ის მონაწილეობით და მრავალ სხვა ჟანგვა – აღდგენით რეაქციებში, რომლებიც კატალიზდება NAD(P)H-ოქსიდაზით, ქსანტინოქსიდაზით. ინდოლამინდიოქსიგენაზით მიმდინარეობს O_2^- წარმოქმნა, როგორც ერთ – ერთი ძირითადი პროდუქტისა (Morel Y., Barouki). ამის გარდა O_2^- წარმოქმნა შესაძლებელია სხვადასხვა არაფერმენტულ რეაქციებში (კატექოლამინების დაჟანგვის დროს რკინის იონების თანაობისას, ნახევრადაღდგენილი ფლავინების, სემიქინონების და ჰემური რკინის მოლეკულური ჟანგბადით დაჟანგვის დროს წყალთანდისმუტაზურ რეაქციებში სუპეროქსიდი სწრაფად წარმოქმნის წყალბადის ზეჟანგს და O_2 (იხ. სურათი)



წყალბადის ზეჟანგი (H_2O_2) წარმოიქმნება მოლეკულური ჟანგბადის ორი ელექტრონით აღდგენის დროს, რასაც ადგილი აქვს რეაქციებში L ამინომჟავების ოქსიდაზას, ალდეჰიდდეჰიდროგენეზას, სუპეროქსიდდისმუტაზას, NO-სინთაზას, მონოამინოოქსიდაზას, 5-ლიპოოქსიგენაზას, სუპეროქსიდ-დისმუტაზას და რიგი სხვა ფერმენტების მონაწილეობით (Allen R.G., Tressini M., 2000)

O_2 -საგან განსხვავებით წყალბადის ზეჟანგს გააჩნია უნარი უჯრედულ მემბრანებში შეღწევისა და მისი სინთეზის ადგილიდან საკმაოდ დაშორებით უჯრედულ კომპონენტებთან რეაქციაში შესვლისა. O_2 -თან შედარებით წყალბადის ზეჟანგი საკმაოდ სტაბილური ნაერთია, რომელსაც არ გააჩნია მაღალი რეაქციულობის უნარი. ამის მიუხედავად H_2O_2 -ს დაგროვება საკმაოდ საშიშია უჯრედებისათვის, ვინაიდან მისი ერთელექტრონიანი აღდგენისას Fe^{2+} ან Cu^{2+} იონების თანაობისას (ფენტონის რეაქცია) წარმოიქმნება მაღალრეაქციული ჰიდროქსილრადიკალი $H_2O_2 + Fe^{2+} > OH^- + OH^{\cdot} + Fe^{3+}$.

ეს ხანმოკლე სიცოცხლის მქონე რადიკალი ჟანგავს თითქმის ყველა კლასის ორგანულ ნაერთებს (Турпаев K.T., 2002) OH^- -ის ტოქსიური მოქმედება განპირობებულია ნუკლეინური მჟავებისა და ცილების შეუქცევადი მოდიფიკაციით და აგრეთვე უჯერი ცხიმოვანი მჟავების ზეჟანგური ჟანგვის ჯაჭვური რეაქციების ინიციაციით, რასაც საბოლოოდ მივყავართ უჯრედული მემბრანების დარღვევისაკენ.

2. სხვადასხვა ტიპის უჯრედებში არსებული ფერმენტული სისტემების როლი უჯრედთაშორისი სასიგნალო ფაქტორთა მოქმედების საპასუხოდ იწვევს რეაქციული ჟანგბადის სინთეზის ინიციაციას (Thannickal V.J., Fanburg B.I., 2000). ინდოლამინოდიოქსიგენაზას გენის ექსპრესია აქტიურდება ინტერფერონების და ციტოკინების ზემოქმედების შემდეგ (Hayaishio O., 1996) დამოკიდებული პროტეაზების აქტივაცია იწვევს ქსანტინდეჰიდროგენაზას პროტეოლიზურ ტრანსფორმაციას O_2 მაპროდუცირებელ ქსანტინოქსიდაზად (Saksela M., et al., 1999) რეაქციული ჟანგბადის წარმოქმნა მიტოქონდრიებში იზრდება უჯრედებში IL-1 და TNF- α ზემოქმედებისას და ჰიპოქსიის დროს, რეაქციული ჟანგბადის მიტოქონდრიული სინთეზის ციტოკინ-დამოკიდებული აქტივაციის მექანიზმი დადგენილი არ არის. დასაშვებია, რომ ამ პროცესის რეგულაციაში მონაწილეობენ სფინგომიელინაზა და ფოსფოლიპიდების მეტანოლიზმში მონაწილე სხვა მემბრანული ფერმენტები (Турпаев K.T., 2002)

მიტოქონდრიების გარდა რეაქციული ჟანგბადის რეგულირებადი სინთეზის ძირითადი წყაროებია მიტოქონდრიულ მემბრანაზე განლაგებული NAD(P)H-ოქსიდაზა, 5-ლიპოქსიგენაზა. NAD(P)H ოქსიდაზას ექსპრესია დამახასიათებელია სისხლის ფაგოციტარული უჯრედებისათვის (ნეიტროფილები, ეოზინოფილები, მაკროფაგები), ენდოთელური უჯრედებისათვის ქონდროციტებისათვის და ასტროციტებისათვის (Клюбин И.В., Гамалей И.А. 1997). 5-ლიპოქსიგენაზას ექსპრესია დამახასიათებელია ლიმფოციტებისა და ასტროციტებისათვის. NAD(P)H- ოქსიდაზა აკატალიზებს O_2 -ის ერთელექტრონიან აღდგენას და ირებს აღდგენილ ექვივალენტს NAD.H-დან NAD.PH-ზე. NAD(P)H-ოქსიდაზას ცალკეული კომპონენტები ნანახია სხვა ტიპის უჯრედებშიც. NAD(P)H-ოქსიდაზას აქტივაცია მიმდინარეობს ანტიბიოტი ციტოკინების (IFN- γ , TNF- α , TGF- β , IL-1) და სხვა ზრდის ფაქტორების ზემოქმედებით. ამ პირობებში (ე.წ. ჟანგვითი აფეთქება) ნეიტროფილებში გამოყენებული ჟანგბადის 90 % აღდგენა O_2^- - მდე და შემდეგ H_2O_2 -მდე. NAD(P)H ოქსიდაზურ კომპლექსში შედის პლაზმურ მემბრანასთან მუდამ შეკავშირებული ციტოქრომი b_{558} , რომელიც შედგება ორი ცილოვანი სუბერთეულისაგან ($p91^{phax}$ და $p22^{phax}$) და 3 ციტოპლაზმური ცილისაგან ($p40^{phax}$, $p47^{phax}$, $p67^{phax}$), რომელთა მემბრანასთან შეკავშირება აუცილებელია ფერმენტის აქტივაციისათვის. NAD(P)H ოქსიდაზის ვიტოპლაზმური კომპონენტების გადაადგილება რეცეპტორებთან შეკავშირებით და ციტოპლაზმური G ცილა და $p21^{rac}$ შემდგომი აქტივაციით. უკანასკნელი GTP – შეკავშირებული აქტიურ ფორმაში გადაადგილდება პლაზმურ მემბრანაზე. ციტოქრომი b_{558} ტრანსმემბრანული ლოკალიზაციის შედეგად NAD(P)H ოქსიდაზა გამოყოფს O_2^- -ს უჯრედთაშორის არეში (Турпаев К.Т., 2002).

რეაქციული ჟანგბადის წარმოქმნა მიმდინარეობს აგრეთვე არაქილონის მჟავის დაჟანგვისას ციკლოოქსიგენაზას და ლიპოოქსიგენაზას მონაწილეობით. ამ მემბრანული ფერმენტების სუბსტრატს წარმოადგენს არაეთერიფიცირებული არაქილონის მჟავა. მისი წარმოქმნისათვის აუცილებელია ფოსფოლიპაზა A_2 -ის აქტივაცია, რომელიც კონტროლირდება პეპტიდური ჰორმონების (ანგიოტენზინი) ციტოკინების (TNF- α), ზრდის ფაქტორების (DGF) მეშვეობით არაქილონის მჟავას არაფერმენტული დაჟანგვის დროს წარმოიქმნება ზეჟანგური და თავისუფალრადიკალური ეიკოზანოიდები, რომლებსაც გააჩნიათ უნარი რეაქციული

ჟანგბადის გენერირებისა. უჯრედებში მიმდინარეობს რედოქს – მგრძობიარე გენების ექსპრესიის აქტივაცია, რომელთა შორის მრავალი აუცილებელია უჯრედების დაცვისათვის ჟანგვითი სტრესის, ტოქსიური ეფექტისაგან. ამ გენთა შორის არის გლუტათიონპეროქსიდაზა, პინორედუქტაზა, თიორედოქსინი, თიორედოქსინ-რედუქტაზა და მეტალოთიორედოქსინი. ციკლოქსიგენაზას ანტიოქსიდანტური მოქმედება აიხსნება თავისუფალი არაქიდონის მჟავას შემცირებით მისი ზემოქმედების შედეგად. გლუტამინცისტეინსინთაზა მონაწილეობს გლუტათიონის სინთეზში (Thannickal V.J., Fanburg B.I. 2000).

3. რეაქციული ჟანგბადი ააქტივებს აგრეთვე გენების ექსპრესიას, რომელთა მოქმედება მიმართულია არა ჟანგვითი სტრესის მიმართ უჯრედების მდგრადობის გაძლიერებაზე, არამედ პასუხს აგებენ უჯრედთაშორის ურთიერთქმედებაზე. მათ მიეკუთვნებიან ზოგიერთი ჰემოკინები და ინტერლეიკინები (IL – 8, MIP – 12), სტრიმეიზინი, კოლაგენაზა 3 და ზოგიერთი მეტალოპროტეაზები (Турпанев К.Т., 2002).

რეაქციული ჟანგბადის ეუკარიოტული ორგანიზმების ტრანსკრიპციის ფაქტორებზე გამააქტივებელი მოქმედება გაშუალდებულია რთული რედოქს – მგრძობიარე სასიგნალო სისტემებით, რომლებსაც გააჩნია რთული იერარქიული ორგანიზაცია და შედგებიან მარეგულირებელი GTP-ს, ფოსფოლიპაზების, პროტეინფოსფატაზების CGMP, ფოსფოლიპიდდამო-კიდებული MAP პროტეინკინაზებისაგან.

MAP (Mitogen – Activated Protein) –კინაზები გენების ექსპრესიის ერთ – ერთი ძირითადი რეგულატორული სისტემაა (Karin M., Hunter T., 1995, Karin M., et al., 1997) MAP-კინაზების ოჯახი იყოფა სამ ძირითად ქვეჯგუფად – EPK, p38, და JNK. ამ კინაზების აქტივობა კონტროლირდება ორმაგი (ტრეონინთიროზინური) კინაზებით. ჟანგბადის რეაქციული ნაერთების მოქმედება იწვევს MAP-კინაზების აქტივაციას, მაგრამ ცალკეული რეგულატორული ჯაჭვების პასუხი სხვადასხვა ტიპის უჯრედებში განსხვავებულია. MAP-კინაზების აქტივაციის ერთ-ერთი ყველაზე სრულყოფილად შესწავლილი მექანიზმია – რედოქსიდამოკიდებული რეგულაცია ASK-ს (Apoptosis signal – Regulating Kinase) მეშვეობით. ეს კინაზა აკონტროლებს MAP კინაზების p 38 და JNK კასკადებს. მისი აქტივობა დამოკიდებულია თიორედოქსინზე. (მრავალფუნქციური თიორედოქსინი უკავშირდება ASK1 და იწვევს მის ინჰიბაციას, თიორედოქსინის SH –

ჯგუფების დაჟანგვა წყალბადის ზეჟანგთან თიორიდოქსინპეროქსიდაზულ რეაქციაში (H_2O_2) იწვევს მის ინჰიბაციას თიორიდოქსინის SH – ჯგუფების დაჟანგვა წყალბადის ზეჟანგთან თიორიდოქსინპეროქსიდაზულ რეაქციაში (H_2O_2) იწვევს მის დისოციაციას. ASK1 ფოსფორდება და ააქტივებს შემდეგი რეგულაციის დონეს MAP კინაზებს: MKK3, MKK6, MKK7, SEK1, რომლებიც თავის მხრივ იწვევენ MAP-კინაზების p38 და JNK-ს აქტივაციას. ყველა MAP – კინაზური სისტემებიდან JNK-ს კასკადი ყველაზე მეტად მგრძობიარეა რეაქციული ჟანგბადის მიმართ, რომლის მოქმედება იწვევს JNK-ს ხანგრძლივ (რამოდენიმე საათის განმავლობაში) აქტივაციას.

JNK-ს კინაზას ძირითადი სუბსტრატია – ტრანსკრიპციის ფაქტორები C Jun If ATF-2 (Chardin P., et al., 1993) ტრანსკრიპციის ფაქტორებისა და გენების ექსპრესიის რეგულაციის გარდა, NK მოქმედებს უჯრედების რეგულატორულ სისტემებზე, აკონტროლებს აპოპტოზს. JNK წარმოქმნის კომპლექსს ცილა P-53-თან და ამ გზით იწვევს ამ ფაქტორის სტაბილობის ცვლილებას. ამის გარდა, NK ფოსფორილდება და ააქტივებს კასპაზა-3-ს, რომელიც აპოპტოზის რეგულაციაში საკვანძო როლს ასრულებს.

4. აქტივირებული JNK იწვევს ტრანსკრიპციის ფაქტორის (activator protein1) შემადგენლობაში შემავალი ტრანსკრიპციის ფაქტორების c-jun და ATF-ის ფოსფორირებას და აქტივაციას და ხელს უწყობს ფაქტორის ATF-3-ის ინდუქციას (Hai T., et al., 1993). c-jun ფაქტორის მსგავსი რეგულაცია განაპირობებს AP-1-ის ფაქტორის ხანგრძლივ გააქტივებას (რამოდენიმე საათის განმავლობაში) და მასზე დაქვემდებარებული გენების სტაბილურ ექსპრესიას ჟანგვითი სტრესის პირობებში.

ჟანგვითი სტრესი იწვევს აგრეთვე Jun B და c – Fas გენების ხანმოკლე აქტივაციას, რაც განპირობებულია მათი რნმ-ის დაბალი სტაბილობით. ჟანგვითი სტრესისაგან დაცვაში მონაწილე ტრანსკრიპციის ფაქტორთა რიგს მიეკუთვნება NFT (Nuclear respiratory Factor) ოჯახის ფაქტორები. ამ გენების პროდუქტები მონაწილეობენ ქსენობიოტიკების მეტაბოლიზმში და უშუალოდ მათი მონაწილეობით რეაქციული ჟანგბადის წარმოქმნაში.

MAP - კინაზური კასკადის ERK (Extra cellular signal - Regulating Kinase) აქტივობა კონტროლირდება ზრდის ფაქტორების მიერ. ERK ფოსფორილირებს და ააქტივებს ტრანსკრიპციის ფაქტორებს Elk-1 If cEts, რომლებიც თავის მხრივ იწვევენ ტრანსკრიპციის ფაქტორის c-Fos მავადირებელი გენის ინდუქციას. H_2O_2 -ის

ზემოქმედებით სხვადასხვა ტიპის უჯრედებში (ლიმფოციტებში, ენდოთელიუმში, ფიბრობლასტებში) მიმდინარეობს ERK-ს აქტივაცია, მაგრამ ნაკლები ხანგრძლივობის (10-20 წუთი), ვიდრე იგივე პირობებში JNK-ს აქტივაცია (Chardin P., et al., 1993) MAP – კინაზების აქტივობაზე ზემოქმედებით რეაქციული ჟანგბადი მოქმედებს უჯრედული გაყოფის მაკონტროლებელ სისტემებზე.

რეაქციული ჟანგბადი ზოგიერთი ტიპის უჯრედებში ააქტივებს აგრეთვე ბირთვულ ფაქტორს NK – KB-ს, რომელიც აკონტროლებს მრავალი ათეული გენების ექსპრესიას, რომელთა მოქმედება მიმართულია უჯრედების მდგრადობის გაძლიერებისაკენ, ოქსიგენური სტრესის მიმართ, აპოპტოზის დათრგუნვისაკენ და უჯრედული იმუნიტეტის რეგულაციისაკენ.

ჟანგბადის აქტიურ ფორმებზე დამოკიდებული NF-KB-ს აქტივაციაში მონაწილეობენ უჯრედების მთავარი სასიგნალო სისტემები.

ერთ-ერთი რეგულატორული გზა ეფუძნება რედოქს – დამოკიდებული G ცილა p21^{Ras} აქტივაციას, რაც იწვევს მემბრანული ფოსფაცილინოზიტოლ – კინაზას და ინოზიტოლ 3,4,5 ტრიფოსფატზე დამოკიდებული კინაზების აქტივაციას. NFkB-ს რეგულაციაში მონაწილეობენ MAP – კინაზურ კასკადებში JNK, p38. უჯრედებში დაჟანგული თიორედოქსინის დაგროვებისას ადგილი აქვს NF-Kb-ს აქტივაციას. NF-KB-ს რედოქსდამოკიდებულ რეგულაციაში მონაწილეობს ციტოპლაზმური ციტორედოქსინპეროქსიდაზა, რომელიც ჟანგავს თიორედოქსინს H₂O₂-თან რეაქციაში. აღდგენილი თიორედოქსინის მომატება აინჰიბირებს NF-KB-ს (Meyric B., Magnuson M.A., 1994, Wan X.S. et al., 1994).

ფაქტორები c Jun და cFas, ცილა p-50 (NFkB-ს სუბერთეული) შეიცავენ თავის დნმ შემაერთებელ დომენებში რეაქციული ჟანგბადის მიმართ მაღალმგრძობიარე ცისტეინის ნაშთებს. მათი SH ჯგუფების დაჟანგვა იწვევს AP-1-ის და NFkB-ს შეუქცევად ინაქტივაციას (Morel V., 1999) ამ ჯგუფების უკუდაჟანგვა მიმდინარეობს თიონილშემცველი ცილოვანი ფაქტორის Fet-1-ის (Redox – factor) მონაწილეობით, რომლის რედაჟანგვა ხდება თიორედოქსინთან ჩანაცვლების რეაქციაში.

ტრანსკრიპციის ფაქტორების AP-ს და NF-KB ჟანგვითი ინაქტივაცია მიმდინარეობს რეაქციული ჟანგბადის გაცილებით უფრო მაღალ კონცენტრაციაზე, ვიდრე ამ ფაქტორთა აქტივაცია MAP-კინაზების მეშვეობით. ინტენსიური ჟანგვითი

სტრესის დროს ადგილი აქვს AP-1 და NFκB-ს აქტივობისა და მათი დაქვემდებარებული გენების ტრანსკრიპციის შემცირებას. ამ გენთა პროდუქტების უმრავლესობა მონაწილეობს სტრესული ზემოქმედებისაგან უჯრედთა დაცვით სისტემებში.

დასაშვებია, რომ რეაქციული ჟანგბადის განსაზღვრული ზღვრული დონიდან უჯრედის დაცვითი სისტემების მობილიზაცია სუსტდება, იმ დროს, როცა აპოპტოზის სტიმულაცია აქტიურდება. რეაქციული ჟანგბადის ზემოქმედებით ადგილი აქვს აქტიური SH ჯგუფების დაჟანგვას და ტრანსკრიპციის კონსტიტუციური ფაქტორების NF-1, Sp', USF ინჰიბირებას. ამის შედეგად ადგილი აქვს გენების ექსპრესიის დათრგუნვას. ასე მაგალითად, NF-1m-ის ფაქტორის დაჟანგვა იწვევს ციტოქროიმ P-450-ის ზოგიერთი იზოფორმების ტრანსკრიპციის დაქვეითებას.

ტრანსკრიპციის სპეციფიური ფაქტორების მოდულაციას და სპეციფიური გენების ექსპრესიის შემდგომ ცვლილებას ადგილი აქვს არა მხოლოდ ოქსიგენური სტრესის, არამედ ჟანგბადის უკმარისობის დროს (ჰიპოქსია, ანოქსია). აღსანიშნავია, რომ AP-1-ის აქტივაციას ადგილი აქვს როგორც ჰიპოქსიის, ასევე ჟანგვითი სტრესის დროს (Morel Y., Barouki R., 1999, Турпаев K.T. 2002), მაგრამ მისი ცალკეული კომპონენტები სხვადასხვაგვარად პასუხობენ ამ ზემოქმედებაზე. AP-1-საგან განსხვავებით რედოქსმგრძობიარე ტრანსკრიპციის ფაქტორი NF-κB დადებითად პასუხობს მხოლოდ ჟანგვით სტრესზე, ხოლო ჰიპოქსიის დროს მისი აქტივობა ითრგუნება. აღსანიშნავია, რომ ჰიპოქსიის, ისევე როგორც ჟანგვითი სტრესის დროს, რიგი რედოქს – მგრძობიარე გენთა ექსპრესია შეიძლება დაკავშირებული იყოს შესაბამისი რნმ-ის სტაბილიზაციასთან. ფერიტინის და რიგი სხვა გენების ექსპრესია რეგულირდება FeS-კლასტერების შემცველ რნმ-შემაერთებელი ცილებით IKP-1 და IKP-2.

5. AP-1-თან განსხვავებით HIF-1 (Hypoxia Inducet Factor-1) ტრანსკრიპციის ფაქტორის რედოქსდამოკიდებული აქტივაცია მიმდინარეობს მხოლოდ ჟანგბადის, არამედ სხვა ფაქტორების ციტოკინების პეპტიდური ჰორმონების, NO-ს (Peyтов B.И. 2002) ზემოქმედებით. ჰიპოქსიის დროს NO აინჰიბირებს HIF-1-ბc ტრანსკრიპციას.

ე.ი. როგორც ჩანს, ჟანგბადის რეაქციული ფორმები და მაპროდუქცირებელი უჯრედების სპეციალიზირებული ფერმენტული სისტემების მიერ ნორმალურ ფიზიოლოგიურ პირობებში ასრულებენ ორგანიზმში სასიგნალო მილეკულების როლს.

რეაქციულ ჟანგბადზე დამოკიდებული სიგნალის სისტემებს მიეკუთვნება თიორედოქსინი ცილა Ref-1, ტრანსკრიპციული ფაქტორი AP-1, NF-KB, თიორედოქსინზე დამოკიდებული ASK-1-კინაზას რეგულაცია და რეაქციულ ჟანგბადზე დამოკიდებული ტრანსკრიპციული ფაქტორის HIF-12-ის რეგულაცია.

1.2. ორგანიზმის ანტიოქსიდანტური დაცვის სისტემა

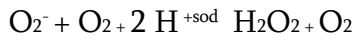
ჟანგბადის აქტიური ფორმების ტოქსური მოქმედების საპასუხოდ ორგანიზმში მოქმედებს ბიოლოგიური დაცვის მექანიზმი, რომელიც პირველ რიგში მიმართულია ლიპიდების თავისუფალრადიკალური ჟანგვითი რეაქციების წინააღმდეგ – ეს არის ანტიოქსიდენტური დაცვის სისტემა.

ანტიოქსიდენტური სისტემა ორგანიზმში წარმოდგენილია ფერმენტული და არაფერმენტული ფორმით. ენდოგენური ანტიოქსიდანტები 3 დიდ ჯგუფად იყოფა: I ჯგუფი – ანტიოქსიდანტური ფერმენტებია, რომლებიც ძირითადად ორგანიზმის საკუთარ ანტიოქსიდანტურ დაცვას უზრუნველყოფენ. ესენია: კატალაზა, სუპეროქსიდდისმუტაზა, გლუტათიონპეროქსიდაზა. II ჯგუფის ანტიოქსიდანტები – არაფერმენტული ცილოვანი ანტიოქსიდანტებია, რომლებიც ძირითადად სისხლის პლაზმაში და წარმოდგენილია ცილებით: ტრანსფერინით, ალბუმინით, ცერულოპლაზმინით. ამ უკანასკნელს აგრეთვე ფერმენტული აქტივობაც (სუპეროქსიდდისმუტაზური, ფეროქსიდაზური, პეროქსიდაზური) გააჩნია.

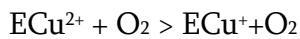
III ჯგუფის ანტიოქსიდანტები – ძირითადად პლაზმაში, უჯრედშიგა და უჯრედგარეთა სითხეში და უჯრედულ მემბრანაში. ეს ჯგუფი იყოფა წყალში ხსნად და ცხიმში ხსნად ანტიოქსიდანტებად. წყალში ხსნადებიდან აღსანიშნავია ასკორბინის მჟავა, შარდმჟავა და ბილირუბინი; ცხიმში ხსნად ანტიოქსიდანტებს მიეკუთვნებიან α -ტოკოფეროლი, β -კაროტინი, უბიქინონი.

ანტიოქსიდანტებს ეკუთვნის აგრეთვე პლაზმაში და უჯრედშორის სითხეში არსებული დაბალმოლეკულური ნივთიერებები – ფენოლური ესტროგენები (17 β ესტრადიოლი, ესტრიოლი), თიორედოქსინი, კატექოლამინები.

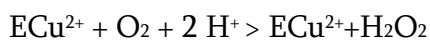
სუპეროქსიდდისმუტაზა (სოდ) აკატალიზებს სუპეროქსიდანიონ რადიკატან, დისმუტაციის რეაქციას მოლეკულური ჟანგბადის და ნაკლებაქტიური წყალბადის ზეჟანგის (H₂O₂) წარმოქმნით.



იგი უჯრედის ანტიოქსიდანტური დაცვის მნიშვნელოვანი ფაქტორია. ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის ინიცირების სტადიაზე სოდ-ი თრგუნავს უჯრედისათვის ტოქსიურ სუპეროქსიდრადიკალების წარმოქმნას, რითაც ახდენს ლზჟ-ის პროცესების ინჰიბირებას ჟანგბადის აქტივაციის სტადიაზე. სოდ-ის მიერ ვალენტობის შეცვლის უნარი განაპირობებს ფერმენტის აქტიური ცენტრის ელექტრონის სატრანსპორტო ფუნქციას. ის ახდენს თავისუფალი რადიკალების დისმუტაციას. ამ პროცესში მნიშვნელოვან როლს თამაშობს სპილენძის ატომი, ხოლო თუთიის ატომი ასრულებს სტაბილიზატორის როლს.



ამ რეაქციაში სპილენძის იონების აღდგენასთან ერთად ადგილი აქვს სუპეროქსიდური რადიკალების აღდგენას მოლეკულურ ჟანგბადამდე. იმ შემთხვევაში კი, როცა რეაქციაში მონაწილეობს, რომელიც მუდმივად არსებობს უჯრედში, რეაქციის შედეგად წარმოიქმნება წყალბადის ზეჟანგი, ხოლო სპილენძის ვალენტობა უცვლელი რჩება:



ამ შემთხვევაში წყალბადის ზეჟანგის წარმოქმნის გამო ანტიოქსიდანტური დაცვა არასრულყოფილია.

სუპეროქსიდრადიკალების დისმუტაციის რეაქცია წყალთან H₂O₂-ის წარმოქმნით მიმდინარეობს სპონტანური ან სუპეროქსიდდისმუტაზას წარმოქმნით. სოდ-ის ეფექტიანობა ძალზე მაღალია. უჯრედის ყველა კომპონენტებიდან მხოლოდ აზოტის ჟანგი (NO) შედის O₂-თან რეაქციაში სოდ-ზე უფრო სწრაფად. NO-ს დაბალი კონცენტრაციის დროს სუპეროქსიდი, როგორც წესი იშლება სუპეროქსიდდის-მუტაზების მეშვეობით და ვერ ასწრებს სხვა ქიმიურ რეაქციაში ჩართვას. მაშასადამე H₂O₂-ის დაგროვება უჯრედში O₂-ის სინთეზის ძირითადი შედეგია. წყალბადის ზეჟანგის მოცილება ხდება სხვადასხვა კლასის ფერმენტებით. კატალაზას, გლუტათიონპეროქსიდაზას, თეორედოქსიპეროქსიდაზის, გლუტათიონისა და თეორე-

დოქსინის თეორიული ჯგუფების შემდგომი აღდგენა მიმდინარეობს რეაქციაში, რომლებიც კატალიზდება შესაბამისი, რედუქტაზების NADPH-ის მონაწილეობით. გლუტათიონპეროქსიდაზა H_2O_2 -თან ერთად ორგანული ჰიდროპეროქსიდებს (ROH) აღადგენს.

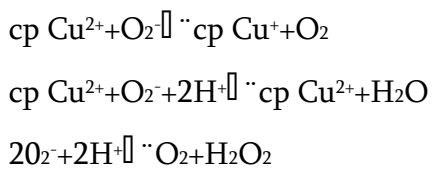
6. OH-ის წარმოქმნისაგან უჯრედების დაცვისათვის დიდი მნიშვნელობა ენიჭება რკინის იონების იმობილიზაციასა და ჰემური ჯგუფების მოცულობას. ამ პროცესებში მონაწილეობენ: ფეროდოქსინი, მეტალოთიონგინ პიკოლინის მჟავა, ჰემოქსიგენეზა (Turpaev K.T., 2002). თავისუფალი რადიკალების გენერაციის სემიქინონების დაჟანგვის დროს ხელს უშლის ქინონრედუქტაზა. ლიპიდებისა და უჯრედების სხვა კომპონენტების ინიცირებულ პეროქსიდაციას ხელს უშლის ასკორბინის მჟავა, ლიპოფილური ანტიოქსიდანტი α -ტოკოფეროლი (E ვიტამინი), მელანინი და ბილირუბინი. დაბალმოლეკულური ანტიოქსიდატები გამოდიან ელექტრონების დონორების როლში და გარდაიქმნებიან ქიმიურად ინერტულ თავისუფალრადიკალურ ნაერთებად (Reiter R.J. 1995). გარკვეულ პირობებში ანტიოქსიდანტის როლს ასრულებს აზოტის ჟანგი, რომელიც ხსნადია უჯრედული მემბრანების ჰიდროფობულ არეში და წყვეტს ლაპიდების ზეჟანგური ჟანგვის ჯაჭვურ რეაქციებს. NO აგრეთვე წარმოქმნის ნიტროლიზურ კომპლექსებს რკინის იონებთან და ხელს უშლის ჰიდროქსილური რადიკალების გენერაციას (Stamler J.S., et al., 1992). ანტიოქსიდების კიდევ ერთი ჯგუფი მონაწილეობს დაჟანგული თეორიული ჯგუფების აღდგენაში. ეს არის გლუტათიონი და SH ჯგუფების შემცველი ცილოვანი ფაქტორები თირეოდოქსინი და Ret-1 (Morel Y., Barouki R., 1999).

ძირითადი ფერმენტები, რომლებიც ახორციელებენ წყალბადის ზეჟანგის დაშლას წყლის ორ მოლეკულად – არის კატალაზა და პეროქსიდაზები. კატალაზას შემადგენლობაში რკინის შემცველი პროსცეტიული ჯგუფია, რომელიც აგებულებით ჰემოგლობინის ჰემური ნაწილის მსგავსია. კატალაზას შეუძლია კატალაზური და პეროქსიდაციური რეაქციების კატალიზება მოლეკულური ჟანგბადის წარმოქმნით. კატალაზა არსებობს ყველა ქსოვილში, თუმცა მიოკარდსა და თავის ტვინში უფრო მცირე რაოდენობით. სავარაუდოდ, ეს დაკავშირებულია ამ ორგანოთა სტრუქტურული და ცვლადი პროცესების თავისებურებებით. გლუტათიონპეროქსიდაზა – სელენიუმის (Se) შემცველი ცილაა. უჯრედთა ციტოპლაზმაში იგი აკატალიზებს ჰიდროჟენის და

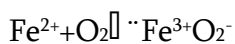
H₂O₂-ის აღდგენას გლუტათიონის მეშვეობით. მისი ერთ-ერთი ფუნქციაა უჯრედი ცხიმოვანი მჟავების ჰიდროჰექსანგების აღდგენა ჰიდროქსილცხიმოვანი მჟავებად (ROH), რაც წყვეტს თავისუფალრადიკალური ჟანგვის ჯაჭვურ რეაქციებს.

გლუტათიონპეროქსიდაზას მეორე ფუნქციაა წყალბადის ზეჟანგის (H₂O₂-ის) აღდგენა, რაც ამცირებს ჰიდროქსილრადიკალების წარმოქმნის საშიშროებას. გლუტათიონპეროქსიდაზას შეიცავს ორგანიზმის ფაქტიურად ყველა ქსოვილი, მათ შორის სისხლის პლაზმაც.

შედარებით ნაკლებად არის შესწავლილი უჯრედგარეთა ანტიოქსიდანტები. ასე სისხლის პლაზმის ანტიოქსიდანტური აქტივობა მნიშვნელოვანწილად დაკავშირებულია ისეთ ცილებთან, როგორცაა ცერულოპლაზმინი, ტრანსფერინი, ალბუმინი. ცერულოპლაზმიანი წარმოადგენს Cu-ის შემცველ ცილას. მას გააჩნია როგორც პეროქსიდაზური, ასევე სუპეროქსიდდისმუტაზური თვისებები.



ცერულოპლაზმინი ჟანგავს რა Fe²⁺ იონების Fe³⁺-ად, ხელს უწყობს მის ჩართვას აპოტასფერინში. ამის შედეგად სისხლის შრატის თავისუფლდება Fe²⁺ იონებისაგან, რომლებიც ზეჟანგური ჟანგვის უშუალოდ პრომოტორები არიან. ე.ი. ისპობა O₂-ის რადიკალების წარმოქმნის შესაძლებლობა, რომლის გენერირება შესაძლებელია განხორციელებულიყო Fe²⁺-ის არაფერმენტული დაჟანგვის გზით.



ტრანსფერინი – ორგანიზმის რკინის გადამტანი ცილაა. მისი ანტიოქსიდანტური მოქმედება დაკავშირებულია მოახდინოს რკინის ადსორბაცია. ტრანსფერინთან კომპლექსში ყოფნისას რკინა, როგორც თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნის კატალიზატორი, არააქტიური ხდება. აღსანიშნავია, რომ კავშირი რკინასა და ტრანსფერინს შორის pH-ის მჟავიანობისკენ გადახრის დროს სუსტდება, რაც შესაძლებელია იშემიზირებულ ქსოვილში ლჰჟ-ის პროცესის აქტივაციის მიზეზი იყოს. ალბუმინის, ჰაპტოგლობინის ანტიოქსიდანტური მოქმედება აიხსნება მისი უნარით მოახდინოს ანტიოქსიდნტური თვისებების მქონე ჰემოგლობინის ადსორბირება.

მიუხედავად იმისა, რომ უჯრედებში თავისუფალი რადიკალური პროცესების და ანტიოქსიდანტური დაცვის სისტემის შესწავლას მრავალი გამოკვლევა მიემდგინა, ამ მიმართულებით ბევრი საკითხი შემდგომ შესწავლასა და დაზუსტებას მოითხოვს.

1.3 პლაცენტარული ფარმაკოლოგიური პრეპარატის _

პლაფერონ ლბ-ს დახასიათება

პლაფერონი ლბ ადამიანის პლაცენტის ამნიონური გარსიდან მიღებული ცილა-პეპტიდური პრეპარატია. იგი შეიცავს ენდოგენური წარმოშობის ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებებს, რომლებიც განაპირობებენ მის მრავალმხრივ ფარმაკოლოგიურ მოქმედებას. პლაფერონი ლბ არ შეიცავს პლაცენტისა და ნაყოფისათვის დამახასიათებელ ზოგიერთ ცილას: ფეტოპროტეინს, ქორიონულ გონატროპინს, ტროფობლასტურ გლობულინს. ცილებიდან მაჟორულია ალბუმინი (Мерабишвили Д., 1988).

პრეპარატის ფარმაკოლოგიური თვისებებიდან, უპირველეს ყოვლისა ყურადღებას იმსახურებს მისი იმუნომამოძღვლირებელი მოქმედება.

პლაფერონი ლბ სხვადასხვა ეტიოლოგიის იმუნოდეპრესიის პირობებში ზრდის ადამიანის პერიფერიული სისხლის T-ლიმფოციტების საერთო რაოდენობას და აღადგენს T-ჰელპერებისა და სუპრესორების დარღვეულ ბალანსს (ჩიქოვანი თ.ი. 1997).

ადამიანის მონონუკლეურ უჯრედებსა და თავის სპლენოციტებზე პლაფერონი ლბ ახდენს დოზადამოკიდებულ ანტიპროლიფერაციულ ეფექტს ბლასტრანსფორმაციის რეაქციაში. ანტიპროლიფერაციული აქტიურობა ყველაზე მეტად უჯრედის G1 და G2 ფაზაში გადასვლის დროს ვლინდება. ამ ეფექტის მოლეკულური მექანიზმი პროტეინკინაზა C-ს ინჰიბირებაში მდგომარეობს (კუკულაძე ნ.მ. 1993). პროტეინკინაზა C-ს აქტიურობის დათრგუნვის უნარი განაპირობებს პლაფერონი ლბ-ს ანთების საწინააღმდეგო მოქმედებას. პლაფერონი ლბ თრგუნავს მიტოგენით სტიმულირებული ადჰეზიური უჯრედების მიერ ინტერლეიკინ_1-ს სინთეზს, ამასთანავე იგი არ მოქმედებს ლიმფოციტების მიერ ინტერლეიკინ_2-ს პროდუქციაზე (Бахуташвили А.В., 1991)

ადამიანის პერიფერიული სისხლის მონონუკლეურ უჯრედებში პლაფერონი ლბ არეგულირებს c-ამგ-ის მეტაბოლიზმს. ციკლურინუკლეოტიდების დარღვეული მეტაბოლიზმის აღდგენა პრეპარატის ზეგავლენით პირველად მწვავე ვირუსული ჰეპატიტის დროს იქნა შენიშნული (Квиташвили Г.И., 1991).

იმუნომამოძლიერებელი მოქმედების გარდა პლაფერონ ლბ-ს ანტიჰიპოქსიური, დეზონტოქსიკაციური, ანტიოქსიდანტური თვისებებიც აღმოაჩნდა (Бахутაშვილი В.И., Кузнецов В.П., 1985; Гогитаშვილი К.В., 1992; რუხაძე რ.გ., 1999).

მიოკარდიუმის ინფარქტის ლეტალური მოდელის გამოყენებით თავდაპირველად დადგენილი იქნა წინამდებარე პრეპარატის – პლაფერონის ანტიჰიპოქსიური მოქმედება. გავრცობილი ტრანსმურული ეფექტის მიუხედავად, პრეპარატის ერთჯერადი შეყვანის შემდეგ 27 ძალიდან 26 გადარჩა. გამოკვლევებმა აჩვენა, რომ პლაფერონი უზრუნველყოფს კარდიოგენური შოკის, ფატალური არითმიისა და დისემინირებული მიკროინფარქტების განვითარების თავიდან აცილებას, რაც ძირითადად “დაუზიანებელი პატარა არტერიების” რეფლექსური სპაზმითაა გამოწვეული (Джавахишвили Н.А., Цагарели З.Г., Бахутაშვილი А.В., Бахутაშვილი В.И., 1989). მოგვიანებით დადგინდა, რომ პრეპარატის ასეთი მოქმედება საფუძვლად უდევს მიოკარდიუმის ქსოვილში თავისუფალი NO-ს Fშემცველობის მომატება, რაც რეფლექტორული სპაზმისაგან დაცვას უზრუნველყოფს და მიოკარდიუმში ჟანგვითი პროცესების სტაბილობას განაპირობებს, რის შედეგადაც მცირდება კარდიომიოციტების დესტრუქციის ხარისხი (Джавахишвили Н. и др., 2001).

მოგვიანებით, ვირთაგვებში გულის ადრენალური დაზიანების შემთხვევაში პლაფერონ ლბ-ს გამოყენებამ უზრუნველყო ჰიპოქსიისაგან ენდოთელიოციტებისა და კარდიომიოციტების დაცვა (Гибрадзе Т.А., Бахутაშვილი В.И., Лорткипანიძე Т.Г., 1994).

ლ. დადიანის მიერ 1993 წელში დადგენილ იქნა პრეპარატის ანტიჰიპოქსიური მოქმედება ღვიძლის უკმარისობის ექსპერიმენტულ მოდელზე. აღნიშნული ეფექტი გამოვლინდა აგრეთვე ობსტრუქციული ნეფროპათიისა და თირკმლის სითბური იშემიის პირობებშიც (Хвадиანი Г.Г., 1990).

ექსპერიმენტში შესწავლილ იქნა პლაფერონ ლბ-ს მოქმედება თავის ტვინში ცირკულაციური ჰიპოქსიით გამოწვეულ მიკროცირკულაციურ, მეტაბოლურ და ულტრასტრუქტურულ ძვრებზე. აღმოჩნდა, რომ პრეპარატის წინასწარი შეყვანა

აძლიერებს ნერვული და გლიური უჯრედების, ასევე კაპილარების ფუნქციურ აქტივობას, აფერხებს იშემიისათვის დამახასიათებელი დესტრუქციული ცვლილებების განვითარებას.

თავის ტვინის ფოკალური იშემიის არაინვაზიური მოდელის პირობებში (ტვინის სისხლძარღვთა ფოტოქიმიური თრომბოზი) პლაფერონი ლბ-ს წინასწარი შეყვანა ინფარქტით დაზიანებული ზონის დაახლოებით 85%-ით შემცირებას უზრუნველყოფს, ნარჩენი დაზიანების ზონაში კი თრომბირებულ სისხლძარღვთა სიმკვრივე კონტროლთან შედარებით 20%-ითაა შემცირებული (ქაცარავა ზ.რ. 1995).

მწვავე ვირუსული ჰეპატიტის დროს პრეპარატის მოქმედების გამოკვლევამ მისი ჰეპატოპროტექტური, ანტიტოქსიური და იმუნომამოდიულირებელი მოქმედება დაადასტურა.

მწვავე ვირუსული ჰეპატიტის დროს ავადმყოფთა სისხლის შრატში მიკროგლობულინების შემცველობა (რაც ღვიძლის პარენქიმის დაზიანების მაჩვენებელია) პროგრესულად კლებულობდა ავადმყოფთა იმ ჯგუფში, სადაც ტრადიციული მეთოდებით მკურნალობის ფონზე გამოიყენებოდა პლაფერონი ლბ. ამრიგად, პრეპარატის გამოყენება უზრუნველყოფდა ღვიძლის პარენქიმის დაზიანებული ფართობის შემცირებას (Квиташвили Г.И., 1991).

პლაფერონ ლბ-ს პოზიტიური კლინიკური ეფექტი გამოვლინდა, აგრეთვე ღვიძლის ქრონიკული დაავადებების დროსაც. აღინიშნებოდა სასქესო ჰორმონების დისბალანსის ნორმალიზება, ელექტროლიტური დარღვევების თავიდან აცილება, ღვიძლის ფუნქციური მდგომარეობის ბიოქიმიური მაჩვენებლების გაუმჯობესება (ქაცარავა ზ.რ. 1995).

პლაფერონ ლბ-ს ჰეპატოპროტექტური ეფექტი შესწავლილია, აგრეთვე მწვავე ექსპერიმენტული ჰიპო- და ჰიპერთირეოზის დროს. პრეპარატი უზრუნველყოფს უჯრედების ანტიოქსიდანტური უნარის შენარჩუნებას, თავისუფალი რადიკალების გენერატორების წარმოების შეფერხებას და ლიპიდების ზეჟანგვითი ჟანგვის ნორმალიზებას. ეს ეფექტი გამოხატულებას ჰპოვებს მემბრანების სტაბილიზაციის, უჯრედებში დესტრუქციული ცვლილებების შემცირების, ქსოვილის ნორმალური სტრუქტურის შენარჩუნების სახით. აღდგენით პერიოდში კი პრეპარატი აჩქარებს ეპრ-სიგნალების მაჩვენებლების ნორმაში მოყვანას (რუხაძე რ.გ. 1999), სტრუქტურული

ცვლილებების უკუგანვითარებას და ხელს უწყობს რეგენერაციის პროცესის მიმდინარეობას.

პრეპარატის ანტიტოქსიური მოქმედების შესწავლისას დადგინდა, რომ ორგანული შხამით CC14-ით მოწამლულ ვირთაგვებში პრეპარატი აბრკოლებს ჰეპატოციტების მიტოქონდრიების მემბრანებიდან CC14-ის გავლენით ციტოქრომ C-ს ერთ-ერთი გადამტანის გამორეცხვას. CC14 ოთხდღიანი ინექციის შედეგად ვირთაგვების მიტოქონდრიათა სუნთქვითი კონტროლის კოეფიციენტი მინიმალურ დონემდე მცირდება, რაც ატფ-ს სინთეზის შეწყვეტის მაუწყებელია. პლაფერონ ლბ-ს გამოყენების შემთხვევაში კი სუნთქვის კონტროლის კოეფიციენტი საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით მხოლოდ 80%-მდე ქვეითდება; ე.ი პრეპარატის გამოყენება ატფ-ის სინთეზის შენარჩუნებას უზრუნველყოფს (აზიკური გ.შ. 1997).

ექსპერიმენტული ქოლესტაზის დროს პლაფერონ ლბ-ს გამოყენებით დადგინდა, რომ ჰეპატოციტების მიტოქონდრიების სუნთქვით ჯაჭვში პრეპარატი ასწორებს ელექტრონთა ტრანსპორტს NADH უბიქინონ-ოქსირედუქტაზულ უბანზე, სტაბილურს ხდის უჯრედში ენერგეტიკულ პროცესებს და აძლიერებს ანტიოქსიდანტური და დეტოქსიკაციური სისტემების ფუნქციურ აქტივობას.

პლაფერონ ლბ-ს ორგანიზმში ნახშირწყლოვანი ცვლის რეგულაციის უნარი აქვს. ძალღებში და ვირთაგვებში ალოქსანური დიაბეტის დროს ადგილი ჰქონდა სრულ შესაბამისობას პრეპარატის შეყვანასა და სისხლის შაქრის შემცველობის დაქვეითებას შორის (გამყრელიძე მ., 2005) ჰეპატოციტებსა და კარდიომიოციტებში პრეპარატის გავლენით გლიკოგენის შემცველობის ნორმალიზება აღნიშნული უჯრედების ფუნქციური აქტიურობის აღდგენაზე მეტყველებს. *in vitro* ექსპერიმენტებით ნაჩვენებია იქნა, რომ გლიკოლიზის გააქტივების გზით პლაფერონი ლბ აძლიერებს უჯრედებში მიმდინარე ენერგეტიკულ პროცესებს. პრეპარატის თანაობისას უჯრედი ენერგიას იღებს ორი წყაროდან – ჟანგვითი და სუბსტრატული ფოსფორილირებით. ამის გარდა პრეპარატი გავლენას ახდენს გლუკოზის ტრანსპორტის სისტემაზეც. გამოუფიტავ უჯრედებში იგი იწვევს გლუკოზის სწრაფ შთანთქმას და აბლოკირებს მის გადასვლას არემში. პრეპარატის ეფექტი დამოკიდებულია უჯრედების ფუნქციურ მდგომარეობაზე (Ягужинский Л.С., Имедидзе Э.А., Дадиანი Л.Н., Бахуташвили В.И., 1995).

აღმოჩნდა, რომ პრეპარატი დოზადადამოკიდებულად აინჰიბირებს Na, K-ატფ-აზას აქტიურობას, რაც შესაძლოა მასში ენდოგენური დიგოქსინის მაგვარი ფაქტორების არსებობაზე მიუთითებდეს.

უჯრედთა რეცეპტორულ აპარატზე პლაფერონი ლბ-ს გავლენის შესწავლის შედეგად დადგინდა, რომ ეს უკანასკნელი ნერვულ უჯრედებში აქვეითებს ადრენორეცეპტორების, H1-ჰისტამინისა და M-ქოლინორეცეპტორების რაოდენობას და ზრდის ალფა-2 და ბეტა ადრენორეცეპტორების აქტიურობას. პრეპარატი შეიცავს სინაფსური მემბრანის სიგმა რეცეპტორებზე მოქმედ ნივთიერებას. საინტერესოა, რომ პლაფერონი ლბ ზემოქმედებს ჰალოპერიდოლმგრძობიარე სუბტიპზე ანუ NMDA_გლუტამინის რეცეპტორთან დაკავშირებულ ცილაზე (Джанашия Н.Н., Джанаშვილი Ц.А., Бахутაშვილი В.И., Картозия Д.Б., 1995).

ნერვული, ზოგიერთი სისხლძარღვოვანი, ინფექციური და აუტოგენური დაავადებების დროს პლაფერონი ლბ-ს გამოყენებამ აჩვენა, რომ იგი დადებით გავლენას ახდენს ნევროლოგიურ სიმპტომატიკაზე.

პლაფერონ ლბ-ს გამოყენებამ ნეიროქირურგიული პროფილის პაციენტებში გართულებით მიმდინარე პოსტოპერაციულ პერიოდში გამოავლინა შემდეგი თვისებები:

1. პრეპარატი ავლენს მეტაბოლიტურ ეფექტს, რაც ტვინში ნივთიერებათა ცვლის პროცესების ოპტიმიზაციით გამოიხატება;

2. მიიღება ე.წ. “გამოღვიძების ეფექტი”, რაც შეიძლება აიხსნას ოპიოიდური პეპტიდის_ენდორფინის კონცენტრაციის შემცირებით; აგრეთვე, პრეპარატის გავლენით მეტაბოლურ პროცესებზე.

3. გამოვლენილია ბიოქიმიური ცვლილებები; აგრეთვე ნეირო- და პერიფერიული ჰორმონების კონცენტრაციების ცვლილებები, რაც პრეპარატის სისტემური და ნეიროტროპული მოქმედების მაჩვენებელია (Сировский Э.Б., Амчеславский В.Г., Инаури Г.Н., Дадиანი Л.Н., Пагава К.И., Бахутაშვილი В.И., 1995).

პლაფერონ ლბ NO-ს სინთეზზე მამოძლერიბელი მოქმედება გააჩნია. პლაფერონ ლბ-ს წინასწარი ზემოქმედების შედეგად მცირება აზოტის ჟანგის შემცველობა ჰემორაგიული შოკის (Kakulia S.V., et al., 2001, Нозадзе и др., 2005), თირკმლის ლიტოტრიპსიის (Chavchanidze D., et al., 1998), ექსპერიმენტული ინსულტის

(მითაგვარია ნ., და სხვ., 2000), კრამ სინდრომის (Германашвили Т. и др., 1999) დროს. ამავე დროს აღსანიშნავია პლაფერონ ლბ-ს NO-ს სინთეზზე გამააქტივებელი მოქმედება ექსტრემალური მდგომარეობაში მყოფი ბავშვების და B ვირუსული ჰეპატიტით დაავადებულთა ორგანიზმში (Барамидзе и др., 1999; პავლიაშვილი დ., და სხვ., 1999). ტრავმული შოკის (Накашидзе И., и др. 2003) დროს პლაფერონ ლბ აზოტის ჟანგის სინთეზის მოდულაციას და შესაბამისად ფერმენტების ნიტროლიზირების შემცირებას უზრუნველყოფს, რაც მათი ფუნქციური აქტივობის აღდგენით, ჟანგბადის მოხმარების გაუმჯობესებით და ორგანიზმის რედოქს სტატუსის კორექციით ვლინდება. ამავდროულად, სისხლში ნორმალიზდება ანტიოქსიდანტური ფერმენტების (სუპეროქსიდდისმუტაზას, კატალაზას, გლუტათიონრედუქტაზას, ცერულოპლაზმინის, Fe³⁺-ტრანსფერინის) აქტივობა.

ექსპერიმენტული ვიტრეორეთინოპათიის მოდელზე პლაფერონ ლბ ხელს უწყობს როგორც აზოტის ჟანგისა, ასევე რეაქციული ჟანგბადის ჭარბი წარმოქმნის შემცირებას (Chichua G., et al., 2001).

დამტკიცებულია პლაფერონ ლბ-ს LPS-ინდუცირებული NO-ს სინთეზის დათრგუნვის უნარი *in vitro* და *in vivo* (Gongadze M, et al., 2001, ნიჟარაძე ნ., და სხვ., 2002). აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ, პლაფერონ ლბ-ს დაცვითი ეფექტი უფრო ძლიერია, ვიდრე ჰიდროკორტიზონის (Chichua G., et al, 2001, Gongadze M., et al., 2001, Kakulia S.V, 2001).

არსებობს მონაცემები პლაფერონ ლბ-ს მიტოქონდრიების ელექტრონების სატრანსპორტო ჯაჭვის მუშაობის აღდგენის უნარის შესახებ (Насрашвили М.Г. и др., 2005). პლაფერონ ლბ-ს მემბრანომასტაბილიზირებელი მოქმედება კი მიტოქონდრიებში ენერგოწარმომქნელ პროცესების ნორმალიზაციას უზრუნველყოფს, რასაც თან მოჰყვება მიტოქონდრიების ტრანსმემბრანული პოტენციალის აღდგენა და ციტოზოლში აპოპტოზის ინიციაციის მიტოქონდრიული ფაქტორების (cyt-c, AIF, cas-3) განთავისუფლების შემცირება. უკანასკნელი კი პრეპარატის ანტი-აპოპტოზურ მოქმედებას უდევს საფუძვლად (Bachutashvili A., et al., 2001).

ის გარემოება, რომ პლაფერონ ლბ-ს შენარჩუნებული აქვს ამნიონის უნიკალური თვისება დააინჰიბიროს უჯრედის პროგრამული სიკვდილი (აპოპტოზი) და

გაადლიეროს უჯრედთა პროლიფერაცია ამ პრეპარატის ფართე გამოყენების პრესპექტივას განაპირობებს.

ამრიგად, დღემდე წარმოებული კლინიკურ-ექსპერიმენტული კვლევის საფუძველზე შეიძლება ითქვას, რომ პლაფერონი ლბ მრავალმხრივი მოქმედების პრეპარატია. მას ახასიათებს იმუნომარეგულირებელი, ანტიტოქსიური, ანტიჰიპოქსიური, ანტიოქსიდანტური მოქმედება; იგი აუმჯობესებს ტვინის, გულის, თირკმელებისა და ღვიძლის მიკროცირკულაციას; აღადგენს იშემიისა და ინტოქსიკაციის შედეგად დარღვეულ უჯრედულ ენერგოწარმომქნელ და ანტიოქსიდანტურ ფუნქციას, უზრუნველყოფს ორგანიზმში ოქსიგენ-ნიტროგენური სტრესის შემცირებას.

1.4. აპოპტოზის განვითარების ზოგიერთი მექანიზმები

აპოპტოზი ეს არის უჯრედების სიკვდილის მაღალრეგულირებადი ფორმა, რომელიც აუცილებელია როგორც განვითარებისათვის, ასევე მრავალუჯრედოვანი ორგანიზმის ჰომეოსტაზის შენარჩუნებისათვის. ორგანიზმის ნორმალური განვითარების პროცესში აპოპტოზი - ფიზიოლოგიური მექანიზმია, აუცილებელი უჯრედების განახლებისათვის. აპოპტოზი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ემბრიონის განვითარებაში და ქსოვილის რემოდელირებაში, ასევე, ნორმალური ქსოვილის უჯრედულ ციკლში (Wyllie A.H., 1987, Steler H., 1995), ხოლო აპოპტოზის დისრეგულაციამ შეიძლება გამოიწვიოს მთელი რიგი დაავადებების განვითარება (Nijhawan D., et al., 2000).

აპოპტოზი პირველად აღმოაჩინეს კერნმა და მისმა კოლეგებმა 1972 წელს. აპოპტოზის დროს ადგილი აქვს ციტოპლაზმის კონდენსაციას, უჯრედების ზომაში შემცირებას (შეჭმუხვნას), მიტოქონდრიების და რიბოსომების აგრეგაციას, ქრომატინის კონდენსაციას ბირთვის და დნმ-ის ფრაგმენტაციას, მემბრანების გაბერვას და მემბრანით შემოსაზღვრული ვეზიკულების ფორმირებას, რომლებსაც აპოპტოზურ სხეულაკებს უწოდებან (Kerr JF, et al., 1972). აპოპტოზური სხეულაკების მოცილება ხორციელდება ფაგოციტოზის გზით, რის გამოც აპოპტოზით დაღუპული უჯრედების

მიდამოებში არ შეინიშნება გარემომცველი ქსოვილის დაზიანება და ანთების განვითარება.

1993 წლის დასაწყისში აღმოჩენილ იქნა აპოპტოზის ინიციატორზე პასუხისმგებელი ced-3, ced-4 და egl-1 გენები (Horvitz H.R., 1999). გენი ced-9 პასუხს აგებს აპოპტოზის ინჰიბიციაზე. იდენტიფიცირებულ იქნა ced-3-ის (კასპაზები), ced-4 (Apaf-1), ced-9 (Bcl-2), და egl-1-ის (BH3-only protein) ჰომოლოგები (Yuan J., et al., 1993, Miura M., et al., 1993, Li P., et al., 1997, Hengartner M.O., Horvitz H.R., 1994, Conradt B., Horvitz H.R., 1998).

აპოპტოზის პროცესი მრავალეტაპობრივი პროცესია, ის შეიძლება დაიყოს სამ ფაზად: ინიციაციის ფაზა, ეფექტორული ფაზა და დეგრადაციის ფაზა.

არსებობს ორი (Hengartner M.O., 2000), ან, შეიძლება სამი (Mehmer H., 2000) აპოპტოზური გზა. აპოპტოზური კასკადის აქტივაცია ხორციელდება სხვადასხვა, მათ შორის შიგაუჯრედოვანი და უჯრედგარეშე სტიმულების ზემოქმედებით. მათ მიეკუთვნება მეტაბოლური დისბალანსის განვითარება, დნმ-ის დაზიანება და უჯრედგარეშე ფაქტორები, როგორცაა სიკვდილის რეცეპტორების აქტივაცია პროანთებითი ციტოკინების მიერ. აპოპტოზის სიგნალი ექვემდებარება ანალიზს და შემდგომში გადაიცემა შუამავალ ეფექტორულ მოლეკულებს. აპოპტოზის ეფექტორულ ფაზაში აქტიურდება აღმასრულებელი მოლეკულური მექანიზმები. დეგრადაციის ფაზაში ადგილი აქვს აპოპტოზისათვის დამახასიათებელი მორფოლოგიური ცვლილებების განვითარებას და დნმ-ის ფრაგმენტაციას (Lazebnik YA, et al., 1993; Solary E, et al., 1993).

აპოპტოზის პროგრამის შესრულება ხორციელდება სპეციალიზებული ფერმენტების, კასპაზების სასიგნალო გზის მეშვეობით (Hengartner M.O., 2000, Alnemri E.S., 1996).

კასპაზები (ციეტეინ დამოკიდებული, ასპარტატ სპეციფიური პროტეაზები) მიეკუთვნებიან ევოლუციურად კონსერვატიულ პროტეაზების ოჯახს, ფერმენტებს, რომლებიც აკატალიზებენ უჯრედული ცილების გახლეჩვას (Salvesen G.S., 1999.). იდენტიფიცირებულია კასპაზების ოჯახის 14-ზე მეტი წევრი (Yuan J., et al., 1993). კასპაზები ჰომოლოგიურია ced-3 გენის მიმართ. ინტერლეიკინ-1 β -converting enzyme (აგრეთვე ცნობილი როგორც კასპაზა 1) იდენტიფიცირებულ იქნა მისი ced-3-ის მიმართ

ჰომოლოგიის მიხედვით (Yuan J., et al., 1993, Miura M., et al., 1993). ფერმენტის აქტიურ ცენტრში ცისტეინის ნაშთია. კასპაზები გამოიცილებენ ცილების სპეციფიურ ტეტრაპეპტიდულ ჯაჭვებს ასპარაგინის მჟავას ნაშთის კარბოქსილური დაბოლოების მიხედვით. უჯრედებში კასპაზები სინთეზირდება ლატენტური წინამორბედების – პროფერმენტების, ეგრეთ წოდებული პროკასპაზების სახით. პროკასპაზები (მოლეკულური მასა 50კდა) შედგება სამი შემადგენელი სუბერთეულისაგან: N-დამაბოლოებელი ჯაჭვისაგან (პრედომენისაგან), შუალედური დომენის დიდი სუბერთეულის წინამორბედისაგან (20 კდა) (p20 სუბერთეული) და C-დამაბოლოებელი დომენის, მომწიფებული ფერმენტის მცირე სუბერთეულის წინამორბედისაგან (10 კდა) (p10 სუბერთეული). აქტიური კასპაზები წარმოადგენენ ჰეტეროტეტრამერებს, რომლებიც შეიცავენ ორ p10 და ორ p20 სუბერთეულს, მიღებულს ორი პროკასპაზული მოლეკულიდან. კასპაზები წარმოადგენენ ფარულ პრეკურსორს, რომლის აქტივაციის შემთხვევაში ადგილი აქვს უჯრედული სიკვდილის პროგრამის ინიციაციას. უკანასკნელი ხორციელდება უჯრედული ინფრასტრუქტურის საკვანძო კომპონენტების დარღვევით და უჯრედის დამაზიანებელი ფაქტორების აქტივაციით.

კასპაზები შეიძლება დაჯგუფებულ იყოს ორ ჯგუფად, მათი აქტივაციის მამოძღვრებელი მოლეკულების, ანუ სუბსტრატული სპეციფიურობის მიხედვით. განასხვავებენ ინიციაციურ და ეფექტორულ, ანუ აღმავალ და დაღმავალ კასპაზებს. კასპაზების მიერ ინიცირებული უჯრედების სიკვდილის, ანუ აპოპტოზის პროცესი, რეგულირდება საინიციაციო და ეფექტორული კასპაზების მეშვეობით. აღმავალი ინიციაციური კასპაზები (კასპაზა 2, 8, 9, 10 და 12) პროაპოპტოზური სიგნალის მატარებლები არიან, დაღმავალი ეფექტორული კასპაზები (კასპაზა 3, 6 და 7) პასუხს აგებენ უჯრედის მორფოლოგიურ ცვლილებებზე აპოპტოზის დროს.

საინიციაციო პროკასპაზებს (პროკასპაზები 1, 2, 4, 5, 9, 11, 12, და 13) აქვთ გრძელი N-ტერმინალური პროდომენი (100 მეტი ამინომჟავური ნაშტი), რომელიც არეგულირებს მათ აქტივობას (Hengartner M.O., 2000, Alnemri E.S., et al., 1996, Shi Y., 2002). კასპაზები 8 და 10-ს აგრეთვე გააჩნია გრძელი N-ტერმინალური პროდომენი, ეგრეთ წოდებული death-effector domain (DED). აქტივირებული აღმავალი კასპაზები იწვევენ დაღმავალი კასპაზების აქტივაციას (Hengartner M.O., 2000, Alnemri E.S., et al., 1996, Shi Y., Bouchier-Hayes L. Martin D.J., 2002) ეს მოკლე პროდომენის მქონე კასპაზები

(Kuhn G.G., et al., 2001, Hengartner M.O., 2000, Alnemri E.S., et al., 1996, Wyllie A.H., et al., 1980) არიან ეფექტორული კასპაზები. კასპაზა 14 ირთვება ციტოკინების გამოყოფის პროცესში. აღმასრულებელი კასპაზები იწვევენ უჯრედის სიკვდილს ორი ძირითადი მექანიზმის, დესტრუქციის და აქტივაციის მეშვეობით. უჯრედის საკვანძო სუბსტრატების დესტრუქცია გადამწყვეტია. სიკვდილის პროცესი იწყება ტერმინალურ ფაზაში, როცა აღმასრულებელი კასპაზები ააქტივებენ დნმ-ის დეგრადაციის გამომწვევ მექანიზმს (Liu X., et al., 1997, Sakahira H., et al., 1998, Enari M., et al., 1998, Liu X., et al., 1998).

პროკასპაზების პროდომენები ასრულებენ მნიშვნელოვან ფუნქციას ფერმენტის აქტივაციაში - აწარმოებენ ცილა-ადაპტორებთან ურთიერთქმედებას. ამ ცილების ურთიერთქმედების პროცესში მონაწილეობენ პროდომენების სპეციალიზირებული მონაკვეთები. სხვადასხვა კასპაზებისათვის ეს არის DED (death effector domain – სიკვდილის ეფექტორის დომენი), CARD (caspase recruitment domain – კასპაზას რეკროიტირების დომენი), DID (death including domain – სიკვდილის გამომწვევი დომენი). ასე, პროკასპაზა-9-ს გააჩნია CARD, პროკასპაზა-8-ს – ორი მიმდევრულად შეერთებული. ასეთივე დომენები გააჩნიათ ადაპტერულ მოლეკულებს, რაც საშუალებას იძლევა პროკასპაზას და ადაპტერს შორის დომენთაშორისო ჰომოფილური ურთიერთქმედების რეალიზაციისთვის (CARD-CARD, DED-DED).

ეფექტორული პროკასპაზების პროდომენები უფრო მოკლეა (შეიცავენ 30-ზე ნაკლებ ამინომჟავურ ნაშთს) და ასრულებენ პროკასპაზების ინჰიბიტორის ფუნქციას. გამოვლენილ იქნა ცილები (IAP), რომლებიც აბლოკირებენ ეფექტორული პროკასპაზების პროდომენის მოცილებას და ამ გზით უშლიან მათ აქტივაციას და თრგუნავენ აპოპტოზს

კასპაზას აქტივაცია მიმდინარეობს პროდომენის პროტეოლიზურ მოცილების, დიდი და მცირე სუბერთეულს შორის კავშირის გაწყვეტის და ჰეტეროდიმერის შემდგომი აწყობის მეშვეობით. ორი ჰეტეროდიმერი, შეკავშირებული ერთმანეთთან მცირე სუბერთეულების მეშვეობით წარმოქმნის ტეტრადიმერს – კასპაზას აქტიურ ფორმას, რომელსაც გააჩნია ორი იდენტური კატალიზური ცენტრი.

საინიციაციო კასპაზები იწვევენ ეფექტორული კასპაზების აქტივაციას, რომლებიც დეგრადაციის ფაზის, დნმ-ის ფრაგმენტაციისა და უჯრედის მორფოლოგიური

ცვლილებების ჩათვლით, ინიციატორები და აღმასრულებელი არიან.

საინიციაციო კასპაზების აქტივაცია ხორციელდება აპოპტოზის სასიგნალო მოლეკულების მიერ გარეგანი სიკვდილის რეცეპტორების ან შიგამიტოქონდრიული სიგნალების მეშვეობით. აპოპტოზის გამოწვევის ერთ-ერთი გზა ხორციელდება CD4⁺ და CD48⁺ T უჯრედების მიერ მაპროდუცირებელი ციტოკინების, მათ შორის TNF- α და INF- α მეშვეობით, რომლებსაც გააჩნია სიკვდილის რეცეპტორების (Fas(CD95) და TNFR1) ექსპრესირების უნარი. ამ რეცეპტორების მეშვეობით ხორციელდება კასპაზების აქტივაცია. ამის გარდა ნაჩვენებია იქნა, რომ TNF- α აინდუცირებს აპოპტოზს - რეცეპტორ- (TNF /TNF -რეცეპტორ) ასოცირებული უჯრედების სიკვდილის დომენის (TRAD) მეშვეობით (McDaniel M.L., 1996).

Fas – მემბრანა გამჭოლი ცილაა. იგი ექსპრესირდება სხვადასხვა ორგანოების ქსოვილებში: თიმუსის, ღვიძლის, გულის, კანის, თირკმლის ქსოვილებში. მილი ლიგანდი FasL, ძირითადად ექსპრესირდება ციტოტოქსიური T-ლიმფოციტების (T-კილერების) და ნატურალური კილერების (NK-უჯრედების) მიერ.

სიკვდილის რეცეპტორების, Fas, ან TNF- α -ს ლიგანდები, იწვევენ უჯრედულ მემბრანაზე რეცეპტორის ოლიგომერიზაციას. აქტივირებული სამჯაჭვიანი სიკვდილის რეცეპტორი ექვემდებარება სპეციფიურ კონფორმაციულ ცვლილებებს პლაზმური მემბრანის ციტოპლაზმურ მხარეზე, რაც განაპირობებს რეგულატორული მოლეკულების და, განსაკუთრებით, კასპაზების შემდგომ მიზიდვას. რეგულატორული მოლეკულები უერთდებიან სპეციფიურ CARD/DED დომენტან, რაც განაპირობებს კასპაზების აქტივაციას. ეს მოლეკულები კასპაზა- და ინიციატორ-სპეციფიურია. მაგალითად, TNF- α -ს თავის რეცეპტორთან შეკავშირებისას, TNF-რეცეპტორი უერთდება DED მოლეკულას, რომელიც იწვევს კასპაზა 8-ს აქტივაციას. E მიმდევრული protein-protein აქტივაცია იწვევს სიკვდილის მაინდუცირებელი სასიგნალო კომპლექსის (DISC) ფორმირებას და კასპაზების აქტივაციას (Krammer P.H., 2000).

გრძელი პროდომენის მქონე კასპაზებს შორის კასპაზა 2, 8, 9, და 10 აპოპტოზის ინიციატორები არიან, ხოლო კასპაზები 1, 4, 5, 11, 12 და 13 ირთვებიან ციტოკინების აქტივაციაში. (Shi Y., 2002, Bouchier-Hayes L., Martin D.J., 2002). არსებობს მრავალი დამადასტურებელი მონაცემები, რომ კასპაზა 1, მისი, ანთების განვითარებაში მნიშვნელოვანი როლის გარდა, წარმოადგენს მნიშვნელოვან აღმავალ კასპაზას (Li M., et

al., 2000, Chgen M., et al., 2000).

კასპაზების რეგულირება შესაძლებელია აგრეთვე ტრანსკრიპციის დონეზე.

აპოპტოზის ინიციაციის სხვა გზა - პერფორინ-გრანზიმის გზა. CD8⁺ ციტოტოქსიური T უჯრედები და NK უჯრედები ათავისუფლებენ პერფორინს, რომელიც ერთვება სამიზნე უჯრედების მემბრანაში ტურბულური სვრეტული კომპლექსების სახით და ქმნის მასში ტრანსმემბრანულ არხებს. ამ არხების მეშვეობით სამიზნე უჯრედების ციტოზოლში ხვდება T უჯრედების გრანულების მეორე კომპონენტი, გრანზიმი (ფრაგმენტინი), რომელიც წარმოადგენს პროტეოლიზური ფერმენტების ნარევს. გრანზიმი წარმოადგენს პროტეაზას, რომელიც ააქტივებს უჯრედში მისი სიკვდილის გამომწვევი ნუკლეოზურ და კასპაზურ სასიგნალო გზებს. ამ ნარევის მნიშვნელოვანი კომპონენტია – გრანზიმი B – სერინის პროტეაზა, სპეციფიური ასპარაგინის მჟავას ნაშთის მიმართ. გრანზიმი B მონაწილეობს პროკასპაზა 3-ის კასპაზა 3-ად გარდაქმნაში და ხასიათდება ამ პროცესში გაცილებით მაღალი აქტივობით, ვიდრე საინიციაციო კასპაზები 8 და 10 (შესაბამისად 2 და 7 ჯერ).

აპოპტოზური კასკადის ალტერნატიული გზა ხორციელდება მიტოგენ-აქტივირებული და სტრეს-აქტივირებული პროტეინკინაზების MAPK/SAPK მეშვეობით, რომლებიც მიეკუთვნებიან სერინ/ტრეონინ კასპაზებს. სტრეს-აქტივირებული პროტეინკინაზების (SAPK) აქტივაცია, როგორც დადმავალი კასპაზების აქტივაციის სიგნალი, ამტკიცებს, რომ უჯრედთაშორის სასიგნალო სისტემას შეუძლია მონაწილეობა უჯრედის სიკვდილის გამოწვევაში ქსოვილის დაზიანების დროს. პრო-აპოპტოზური სიგნალების რეცეპტორები, TNF α -ს და ინტერლეიკინ-1 β -ს (IL-1 β) ჩათვლით, ექსპრესირდება დაზიანებულ ქსოვილში და მონაწილეობენ უჯრედების დაზიანებაში.

არსებობს MAPK/SAPK-ის ძირითადი ჯგუფები: 1) ERKs (extracellular signaling regulated kinases), 2) cJun NH2-ტერმინალური კინაზა (JNK) ან SARK და 3) პროტეინკინაზების p38 ჯგუფი. MAPK-ური სასიგნალო გზა, ERK-აზას ჩათვლით ძირითადად აქტიურდება ზრდის ფაქტორების და მიტოგენების მეშვეობით. JNK და p38 სასიგნალო გზები კი აქტიურდება ძირითადად სხვადასხვა ეგზოგენური და ენდოგენური სტრეს-ინდუცირებული სტიმულების მეშვეობით, როგორცაა ოქსიდაციური სტრესი, პროანთებითი ციტოკინები, ოსმოსური სტრესი, სითბური შოკი,

ულტრაიისფერი დასხივება (Schwartz A., et al., 1995, 104, 922-927, Takahashi H., et al., 1995).

ERK და JNK/p38 გზებს შორის ბალანსი განსაზღვრავს ექსტრაუჯრედულ სტიმულზე პასუხის ზრდას და დიფერენციაციას, ან აპოპტოზის მიმართულებას. JNK/p38-ის აქტივაციის პრევალირება იწვევს აპოპტოზს, ამ დროს, როცა ERK სელექტიური აქტივაცია ხელს უშლის აპოპტოზის განვითარებას და განაპირობებს უჯრედის გადარჩენას (Mandrup-Poulsen T., 2001).

აპოპტოზის ინიციაციის შიგაუჯრედოვანი სტიმული წარმოდგენილია ციტოქრომ c-ს და ზოგიერთი სხვა ცილების სახით. ციტოქრომ c - მიტოქონდრიების ელექტრონების სატრანსპორტო ჯაჭვის ცილა რომელიც მონაწილეობს ATP-ის გენერაციაში. ფიზიოლოგიურ პირობებში ციტოქრომ c ლოკალიზებულია სივრცეში გარეთა და შიგა მიტოქონდრიულ მემბრანებს შორის. დადებითად დამუხტული ცილა ელექტროსტატიურად უკავშირდება მიტოქონდრიის შიდა მემბრანის უარყოფითად დამუხტულ ზედაპირს. სტრესორული ზემოქმედებების (ციტოტოქსიური ნაერთების, ზრდის ფაქტორების დეფიციტის, ჟანგბადის აქტიური ნაერთების, დნმ-ის დაზიანების) ფონზე შესაძლებელია მიტოქონდრიის გარეთა მემბრანაში გიგანტური ფორის წარმოქმნა. მისი დიამეტრი (3 ნმ) იძლევა 1,5 კდა-მდე მოლეკულური მასის მქონე ნივთიერებების მემბრანაში გავლის საშუალებას, რაც განაპირობებს მიტოქონდრიული მატრიქსის გაბერვას, მიტოქონდრიის გარეთა მემბრანის დაზიანებას და მემბრანაშორისი სივრცის ხსნადი ცილების ციტოპლაზმაში გასვლას. ამ ცილებს შორის აღსანიშნავია ციტოქრომ c და რამოდენიმე აპოპტოზური ფაქტორი: პროკასპაზები 2, 3, 9, ცილა AIF (apoptosis inducing factor- აპოპტოზის გამომწვევი ფაქტორი).

ციტოქრომ c, თავისუფლდება მიტოქონდრიული მემბრანაშორისი სივრციდან ციტოზოლში, შემდგომში იწვევს მემბრანის დეპოლარიზაციას და წარმოქმნის კომპლექსს (ეგრეთ წოდებულ აპოპტოზომას) Apaf-1-თან, ადენოზინ ტრიფოაფატთან (ATP) და პროკასპაზა 9-სთან, რომელიც შემდეგ აქტიურდება. აქტიური კასპაზა 8-ს (და შესაძლოა კასპაზა 10) DISC-იდან, ან კასპაზა 9-ს (მიტოქონდრიული სასიგნალო სისტემიდან) შეუძლია შემდეგ დადმავალი კასპაზების (კასპაზა 3, -6 და -7) გამოწვევა და აქტივაცია. აპოპტოზი, მაშასადამე, აინდუცირებს პროტოლიზისის კასკადს, რომელშიც კასპაზები ინიციატორები უერთდებიან და ააქტივებენ დადმავალ კასპაზებს,

რომლებიც უჯრედული პროტეინების დამუშავების მეშვეობით ხელს უწყობენ უჯრედის დაშლას.

პროკასპაზა 3 ვლინდება როგორც მიტოქონდრიების მემბრანათაშორის სივრცეში, ასევე ციტოპლაზმაშიც. ენერგოპროდუქციაში მისი მნიშვნელოვანი როლის გარდა, ციტოქრომ c, კასპაზების კასკადის მნიშვნელოვანი ტრიგერია. ციტოქრომ c-ს გაშუალედებული აპოპტოზის გზა ირთვება ციტოქრომ c-ს მიტოქონდრიიდან ციტოპლაზმაში განთავისუფლების შემთხვევაში. ციტოპლაზმაში ციტოქრომ c უერთდება APAF-1-ს (აპოპტოზის protease activating factor-1 – აპოპტოზური პროტეაზას გამააქტივებელი ფაქტორი) აპოპტოზომის (მოლეკულური კომპლექსი, შემცველი ციტოქრომ c, Aპაფ-1, ATP, და პროკასპაზა 9). წარმოქმნით. აპოპტოზომა ააქტივებს აპოპტოზის ადმავალ ინიციატორს, კასპაზა 9-ს (Li P., Nijhawan D., 1997, Liu X., et al., 1996). ეს მექანიზმი რეგულირდება აპოპტოზის ინიციაციის საკვანძო რგოლის, ციტოქრომ c-ს განთავისუფლების მეშვეობით (Hengartner M.O., 2000, Wang X., 2001).

APAF-1 – 130 კდა მოლეკულური მასის მქონე ცილა, N- დაბოლოებაზე შეიცავს 12 განმეორებად WD-40 მიმდევრობებს (WD – ტრიპტოფანისაგან და ასპარტატისაგან შემდგარი დიპეპტი, რომელიც აბოლოებს 40 ამინომჟავური ნაშთისაგან შემდგარ მიმდევრობას) C-დაბოლოებაზე. WD-გამეორებები დამახასიათებელია უჯრედების გაყოფის და დიფერენციაციის, გენების ტრანსკრიპციის მრნმ-ის მოდიფიკაციის რეგულაციაში მონაწილე ცილებისათვის.

მიტოქონდრიის მემბრანათაშორისი სივრცის მეორე ცილა, AIF– ფლავოპროტეიდია. ციტოპლაზმაში იგი განიცდის ტრანსლოკაციას უჯრედის ბირთვში, სადაც ააქტივებს ბირთვული დნმ-ის მსხვილ ფრაგმენტებად (50000 და მეტი ნუკლეოტიდების წყვილი) გამწყვეტ ნუკლეაზას. AIF-ის მიერ გამოწვეული აპოპტოზი მიმდინარეობს კასპაზების გარეშე. ზოგიერთ შემთხვევაში დადმავალ კასპაზებს გააჩნია აპოპტოზის შემშლელი პროტეინების ინაქტივაციის უნარი. მაგალითად, DNM-ის ფერმენტი-რეპარატორი, პოლი(ადენოზინ დიფოსფატ [ADP]-რიბოზა) პოლიმერაზა (PARP), რომელიც აკატალიზებს ADP რიბოზა ერთეულების NAD-დან ბირთვულ პროტეინებზე მიერთებას, განიცდის ინაქტივაციას კასპაზა-3-ის მიერ ინიცირებული დაშლის გამო, რაც განაპირობებს ენერგია-დამოკიდებული აპოპტოზისათვის აუცილებელ ATP-ის ზრდას. სხვა შემთხვევებში, აქტიურ დადმავალ კასპაზებს შეუძლია

ფერმენტების აქტივაცია. მაგალითად, კასპაზა-3 იწვევს კასპაზა-აქტივირებული DNA-ზას ინჰიბიტორის (ICAD) დაშლას, რაც განაპირობებს მისი აპოპტოზურ ენდონუკლეაზასთან (CAD) მიერთების და რეპრესიის უნარის დარღვევას. საბოლოოდ ICAD-ის დაშლის შედეგად ადგილი აქვს CAD-ის აქტივაციას, და აპოპოზისათვის დამახასიათებელი DNM-ის ფრაგმენტაციას (Nagata S. et al., 2003). ეფექტორული კასპაზების სუბსტრატები წარმოდგენილია სხვადასვა ცილებით (60-ზე მეტი). ფუნქციური კუთვნილების მიხედვით ეს ცილები იყოფა რამოდენიმე ჯგუფად: დნმ-ის ფრაგმენტაციაზე პასუხისმგებელი დნა-აზები. დნმ-ის დეგრადაცია და ფრაგმენტაცია ხორციელდება კასპაზა-დამოკიდებული დნმ-აზების მეშვეობით, როგორცაა DFF40 (DNA ფრაგმენტაციონ ფაქტორ - დნმ-ის ფრაგმენტაციის ფაქტორი) (Liu X, et al., 1998), CAD (caspase activated DNA-se – დნმ-აზა გამააქტივირებელი კასპაზა) (Enari M, et al., 1998, Sakahira H, et al., 1998). DFF40 და CAD ნორმალურ უჯრედებში წარმოდგენილი არიან ინაქტივირებული ჰეტეროდიმერების სახით მაინჰიბირებელ DFF45 (Liu X, Zou H, 1997.) და ICAD (CAD-ის ინჰიბიტორი) ცილებთან (Sakahira H, Enari M, Nagata S., 1998). ამ ფერმენტების აქტივაცია ხორციელდება სელექტიურად კასპაზა 3-ის (Sakahira H, et al., 1998, Stamler, J.S., et al., 1898.), ან კასპაზების ოჯახის სხვა წევრების მიერ (Tang D, Kidd VJ., 1998.). აქტივირებული CAD-ის ან FDFF40-ის მოქმედება იწვევს აპოპოტოზისათვის დამახასიათებელ ბირთვის მორფოლოგიურ ცვლილებებს (Liu X, Li P, et al., 1998; Enari M, et al., 1998).

- დნმ-ის რეპარაციაში მონაწილე ცილები – პოლი(ADP-პიბოზო)პოლინერაზა (PARP). ეს ფერმენტი აკატალიზებს ჰისტონების და დნმ-თან დაკავშირებული სხვა ცილების ADP რიბოლიზირებას და წარმოადგენს კასპაზების სამიზნეს. PARP-ის აქტივობა 500 ჯერ იზრდება დნმ-ის გახლეჩილ უბნებთან შეკავშირებისას. უჯრედის აპოპტოზური სიკვდილი მიმდინარეობს PARP-ის დაშლით. დნმ-ის მასიური დაზიანების დროს PARP-ის ჭარბი აქტივაცია იწვევს ამ ფერმენტის სუბსტრატის (ADP-რიბოზას) დონორის, NAD⁺-ის გამოლევას, რაც იწვევს გლიკოლიზის და მიტოქონდრიული სუნთქვის დათრგუნვას უჯრედების სიკვდილს ნეკროზის გზით.

- ციტოქონჩხის ცილები (ლამინები, აქტინი, ფოდრინი, კერატინი) იშლება ეფექტორული კასპაზების ზემოქმედებით.

- უჯრედების გაყოფის მარეგულირებელი ცილები და ციკლინდამოკიდებული

კინაზების დამთრგუნველი ცილები (p21 და p27) წარმოადგენენ კასპაზების სამიზნეს.

- ანტი-აპოპტოზური Bcl-2 ოჯახის ცილები, პროაპოპტოზური ცილა Bid, ცილები IAP.

- კასპაზები ახორციელებენ უჯრედთაშორის სიგნალიზაციაში მონაწილე ცილების და ბირთვული ფაქტორების მოდიფიკაციას.

ეფექტორული კასპაზებიდან განსაკუთრებით მაღალი აქტივობით ხასიათდება კასპაზა 3. ითვლება, რომ მისი აქტივაციის შემდეგ უჯრედი განიცდის აპოპტოზს.

აპოპტოზის ზოგიერთი რეგულატორები, პროტეინები იდენტიფიცირებულია ჯანმრთელ უჯრედებში. Bcl-2 იდენტიფიცირებულ იქნა ფოლიკულურ ლიმფომაში, როგორც ანტი-აპოპტოზური პროტეინი, რომელიც ხელს უწყობდა უჯრედებში აპოპტოზის დაქვეითებას და პროლიფერაციის ინტენსიფიკაციას და მამასადამე სიმსივნის განვითარებას. Bcl-2 ოჯახის ყველა წევრი განაწილებულია ერთ რეგიონზე, ეგრეთ წოდებული Bcl-2 ჰომოლოგიური (BH) დომენი. აღმოჩნდა, რომ Bcl-2-I ოჯახის სხვა წევრები, რომლებიც მოიცავენ მხოლოდ BH3 დომენს, ხასიათდებიან პროაპოპტოზური მოქმედებით (Egl-1, Bax). ზოგიერთი, BH3-ერთადერთი პროტეინებია (Bid), რომლებიც მოქმედებენ ანტი-აპოპტოზური Bcl-2 ოჯახის წევრებთან მიერთებით და მათი მოქმედების პრევენციის მეშვეობით, მაშინ როცა სხვებს (შესაძლოა Bax) გააჩნია გარეთა მიტოქონდრიულ მემბრანაში შეღწევის და პროაპოპტოზური მესენჯერის (ციტოქრომ c-ს) მიმართ მისი განვლადობის გაზრდის უნარით (Korsmeyer შ.ჟ. ეტ ალ., 2001)

აპოპტოზური პროცესის მოდულაცია ხორციელდება Bcl-2-ის და მისი ჰომოლოგიური პროტეინის Bax და Bcl-xl-ის მეშვეობით (Yang E., Korsmeyer S.J., 1996), რომლებიც ურთიერთქმედებენ ერთმანეთთან ჰომო- და ჰეტეროდიმერების წარმოქმნით (Kandouz M., et al., 1996, Oltvai Z.N., et al., 1993). Bcl-2-ის ოჯახის წევრები ხასიათდებიან პროაპოპტოზური და ანტი-აპოპტოზური მოქმედებით. ბალანსი Bcl-2 ოჯახის პროაპოპტოზური და ანტი-აპოპტოზური სიგნალებს შორის ასრულებს გადამწყვეტ როლს ციტოქრომ c-ს განთავისუფლებაში (Hengartner M.O., 2000, Wang X., 2001, Gross A., et al., 1999, Deveraux Q.L., et al., 2001, 19, 57-74). უფრო მრტივ, კასპაზების ოჯახის წევრებს გააჩნია Bcl-2-ის პროაპოპტოზური და ანტი-აპოპტოზური სიგნალის რეგულაციის უნარი. მაგალითად, კასპაზა 8 და 1 იწვევს Bcl-2-ის ოჯახის წევრის, Bid-ის

გახლეჩვას და აგენერირებს პროაპოპტოზური აქტივობის მქონე ფრაგმენტს (Li H., et al., 1998). როცა ანტიაპოპტოზური მოლეკულები, Bcl-2 ან Bcl-xL, ურთიერთქმედებენ Bax-თან, Bcl/Bax ან Bcl-xL/Bax ჰეტეროდიმერი აინჰიბირებს Bax-ის აპოპტოზურ ეფექტს (Oltvai Z.N., et al., 1993, Adams J.M., Cory S., 1998).

აპოპტოზის გამომწვევი კასპაზების აქტივაცია კონტროლირდება კასპაზების მაინჰიბირებელი მოლეკულების მიერ. მათ მიეკუთვნება აპოპტოზის მაინჰიბირებელი პროტეინები, რომლებიც ძირითადად ურთიერთქმედებენ აპოპტოზის მოდულატორებთან. მაგალითად, X-შეკავშირებული აპოპტოზის ინჰიბიტორი - პროტეინი, რომელიც აინჰიბირებს კასპაზა 30ის აქტივობას (Shi Y., 2002, Bouchier-Hayes L. Martin D.J., 2002, Deveraux Q.L., et al., 2001, Xu D., et al., 1999). კარგავს გადარჩენის შანსს.

ანტიაპოპტოზური ოჯახის წევრები ასოცირდებიან მიტოქონდრიულ მემბრანასთან ისევე, როგორც ენდოპლაზმურ რეტისკულუმთან და ბირთვულ მემბრანასთან. არსებობს მოსაზრება, რომ ისინი განაპირობებენ მემბრანული მთლიანობის შენარჩუნებას და მიტოქონდრიიდან ციტოქრომ c-ს განთავისუფლების პრევენციას. აპოპტოზის ინჰიბიტორების (IAP) ოჯახის წევრები მოქმედებენ როგორც კასპაზების ენდოგენური ინჰიბიტორები (Salvesen G.S., Duckett C.S., 2002). ისინი შეიცავენ ორიდან სამამდე გადარჩენილ საიტს (BIR), რომელიც ურთიერთქმედებს კასპაზებთან, აბლოკირებს მათ კატალიზურ საიტებს. ზოგიერთი IAP აგრეთვე შეიცავს C-ტერმინალური დაბოლოების (RING) დომენს, რომელიც საშუალებას იძლევა პროტეინების ფართო გავრცელებისა და მამასადამე მათი დესტრუქციის პროტეოსომებში. ბოლო წლებში იდენტიფიცირებულია რიგი სხვა პროტეინებისა, რომლებსაც გააჩნია მიტოქონდრიიდან განთავისუფლების, მემბრანის დეპოლარიზაციის და აპოპტოზის აქტივაციის უნარი (van Loo G. et al., 2002). მათ შორის, Smac / DIABLO და HtrA2/Omi. პირველი უერთდება და აინჰიბირებს IAP-ს და ამ გზით აბლოკირებს კასპაზების აქტივაციას. HtrA2/Omi. აგრეთვე ააქტივებს კასპაზა-დამოუკიდებელი უჯრედების სიკვდილს მისი სერინ-პროტეაზული აქტივობის მეშვეობით. სხვა პროტეინები თავისუფლდებიან მიტოქონდრიიდან და ააქტივებენ აპოპტოზს კასპაზებზე დამოუკიდებლად. მათ შორის ენდონუკლეაზა G, და აპოპტოზის მაინდუცირებელი ფაქტორი (AIF), ნუკლეაზების აქტივატორი, რომელიც იწვევს

ქრომატინის კონდენსაციას და მაღალი მოლეკულური მასის DNМ-ის ფრაგმენტაციას. ბოლო წლებში აღწერილია აპოპტოზის ინიციაციის მესამე გზა, რომელიც ხორციელდება კასპაზა12-ის მონაწილეობით, რომელიც ლოკალიზირებულია ენდოპლაზმურ რეტიკულუმზე (ER) და აქტიურდება Eღ-ის სტრესის შემდეგ შეგაუჯრედოვანი კალციუმის მარაგის განთავისუფლების მეშვეობით (Nakagawa T. et al., 2000). მაგრამ კასპაზა-12 პროტეინი არ ექსპრესირდება ადამიანის უჯრედებში, ასე რომ, მისი როლი ადამიანის უჯრედების ცხოველქმედების პროცესში ან სხვა კასპაზების ფუნქცია მის ადგილზე გაუგებრია.

უჯრედების სიკვდილი შეიძლება ვითარდებოდეს სხვადასხვა გზებით, რომლებისთვისაც დამახასიათებელია განსაზღვრული მორფოლოგიური კრიტერიუმები. ნეკროზის დროს უჯრედის სიკვდილი განპირობებულია ძლიერი გარეგანი ინსულტით, რომელიც აზიანებს უჯრედულ ორგანელებს, მიტოქონდრიებს, მემბრანული მთლიანობის დარღვევით და ციტოპლაზმის განდევნით უჯრედთა-შორისი მატრიქსში. პირიქით, უჯრედები, რომლებიც იღუპებიან აპოპტოზის გზით, ასრულებენ კარგად განსაზღვრულ და მაღალ რეგულირებად უჯრედის სიკვდილის გენეტიკურ პროგრამას. ისინი არ კარგავენ მემბრანის მთლიანობას და ორგანელები ძირითადად რჩება ინტაქტური. ბოლო სტადიაზე უჯრედული ფრაგმენტები იფარება შექმუხნული მემბრანით და წარმოქმნიან აპოპტოზურ სხეულებს, რომლებიც განიცდიან ფაგოციტოზს ჯანმრთელი მეზობელი უჯრედების მიერ.

აპოპტოზი ბიოქიმიურად და გენეტიკურად ახორციელებს პროგრამირებულ უჯრედების სიკვდილს, რომელსაც ესაჭიროება დრო, ენერგია, ახალი გენების ტრანსკრიპცია და ტრანსლაცია. მაგრამ, განსხვავება ნეკროზს და აპოპტოზს შორის არ არის ყოველთვის მკვეთრად გამოხატული და უჯრედის სიკვდილის ეს ორი ტიპი ენაცვლება უჯრედებში დაზიანების საპასუხოდ.

თავი II

კვლევის მასალა და მეთოდები

2.1. რადიაციული დასხივება.

ექსპერიმენტი ტარდებოდა ზრდასრულ მდედრობითი სქესის თეთრ ვირთაგვებზე, წონით 180-200 გ. (90 ვირთაგვა). ექსპერიმენტული ცხოველები დაყოფილი იყო 6 ჯგუფად:

I ჯგუფი - საკონტროლო ცხოველები (15 ვირთაგვა);

II ჯგუფი – რადიაციული დასხივება (15 ვირთაგვა);

III ჯგუფი – რადიაციული დასხივება + C ვიტამინი (15 ვირთაგვა);

IV ჯგუფი – რადიაციული დასხივება + პლაფერონი ლბ (15 ვირთაგვა);

V ჯგუფი – C ვიტამინი + რადიაციული დასხივება (15 ვირთაგვა);

VI ჯგუფი – პლაფერონი ლბ + რადიაციული დასხივება (15 ვირთაგვა).

ექსპერიმენტულ ცხოველებს უტარდებოდათ ერთჯერადი γ -რადიოთერაპია დოზით 6 Gr აპარატი AGAT PC მეშვეობით. რადიოპროტექტორები (C ვიტამინი და პლაფერონი ლბ) ცხოველებში შეგვყავდა კუნთებში დასხივებისთანავე და დასხივებიდან 18 საათის შემდეგ (3 და 4 ჯგუფები) და დასხივებამდე 5 დღის განმავლობაში (5 და 6 ჯგუფი) დოზებით 0,40 მგ/კგ და 0,25 მგ/კგ, შესაბამისად. ცხოველებს ვკლავდით ეთერის ნარკოზის ქვეშ დასხივებიდან 1 და 24 საათის შემდეგ.

2.2. ბიოქიმიური კვლევები.

სისხლის შრატში კატალაზას აქტივობის განსაზღვრა

ანტიოქსიდანტურ ფერმენტ კატალაზას აქტივობას ვსაზღვრავდით Aebi-ის მეთოდით (1984), რომელიც მოდიფიცირებულ იქნა M. A. Королюк, Л. И. Иванова-ს და სხვების მიერ (1988) სპექტროფოტომეტრი CФ-46 ЛОМО-ს გამოყენებით.

მეთოდის პრინციპი დამყარებულია წყალბადის ზეჯანგის უნარზე მოლიბდენის მარილებთან წარმოქმნას მყარი შეფერილი კომპლექსი. 0.1 მლ სისხლის შრატს ვუმატებდით 2.0 მლ 0.03% H_2O_2 -ის ხსნარს. ცრუ სინჯში შრატის ნაცვლად ვიღებდით 0.1 მლ დისტილირებულ წყალს. რეაქციას ვაჩერებდით 10 წთ-ის შემდეგ 1.0 მლ 4%-იანი ამონიუმის მოლიბდატით. წარმოქმნილი შეფერილობის ინტენსივობას ვსაზღვრავდით 410 ნმ ტალღის სიგრძეზე სპექტროფოტომეტრ CФ-46 ЛОМО-ზე საკონტროლო სინჯის მიმართ, რომელშიც H_2O_2 -ის მაგივრად ვუმატებდით 2 მლ წყალს.

კატალაზას აქტივობას შრატში ვიკვლევდით შემდეგი ფორმულით:

$$E=(A_{\text{გრუ}}-A_{\text{ცდა}})V_1(\text{მკატ/ლ-ზე})$$

სადაც E არის კატალაზას აქტივობა (მკატ/ლ-ზე), $A_{\text{გრუ}}$ და $A_{\text{ცდა}}$ – ცრუ და ცდის სინჯის ექსტინქციები; V შეტანილი სინჯის რაოდენობა (0,1მლ), t - ინკუბაციის დრო (10წთ), k - H₂O₂-ის მილიმოლარული ექსტინქციის კოეფიციენტი, $22,2 \cdot 10^3 \text{ მმ}^{-1} \text{ სმ}^{-1}$.

სისხლის შრატში სუპეროქსიდდისმუტაზას (სოდ) აქტივობის განსაზღვრა

სუპეროქსიდდისმუტაზის (სოდ) აქტივობას ვსაზღვრავდით რიედ-ის (1970) მეთოდით, რომელიც მოდიფიცირებული იყო E.B.Макаренко-ს მიერ (1988).

ერთროციტებს ვრეცხავდით ფიზიოლოგიურ ხსნარში. 0.5 მლ ერთროციტული მასის ჰემოლიზს ვახდენდით 0,5 მM ტრის- HCl-ით (pH=7,4). ჰემოგლობინის დალექვის მიზნით ჰემოლიზატს ვუმატებდით 0,25 მლ 96%-იან ეთანოლს და 0.15 მლ ქლოროფორმს; ვრეცხავდით 5წთ-ის განმავლობაში სიცივეზე და ვაცენტრიფუგებდით 10წთ 5000°C -ზე.

სოდ-ის განსაზღვრისათვის 0.02 მლ სუპერნატანტს ვუმატებდით საინკუბაციო არეს, რომელიც შეიცავდა 2,7 მლ ბუფერს (0,05M K₂HPO₄ და 0.1 mM EDTA-ს), 0.1 მლ 1.5 მM ნიტროლურჯ ტეტრაზოლს, 0.1 მლ N- მეთილ-ფენაზონ-მეთილსულფატს და ვსაზღვრავდით ოპტიკურ სიმკვრივეს 540 ნმ ტალღის სიგრძეზე. შემდეგ სინჯს ვუმატებდით 0.1 მლ NADH-ს, ვტოვებდით 10 წთ სიბნელეში t=30°C ტემპერატურაზე და ამის შემდეგ ისევ ვზომავდით ოპტიკურ სიმკვრივეს. რეაქციაზე ვმსჯელობდით შთანთქმას შორის მიღებული სხვაობით, აქტივობის ერთეულად ვიღებდით ნიტროლურჯი ტეტრაზოლის აღდგენის რეაქციის დამუხრუჭების 50%-ს. ფერმენტის აქტივობას გამოვხატავდით 1 მლ ერთროციტებზე.

სისხლის შრატში ქოლესტეროლის და ტრიგლიცერიდების და დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეიდების (LDL) განსაზღვრა. სისხლის პლაზმაში ქოლესტეროლის და ტრიგლიცერიდების შემცველობას ვსაზღვრავდით Acctrend-GCT ტიპის (Roche-ს ფირმა) რეფლექტოფოტომეტრის გამოყენებით.

ელექტრონული პარამაგნიტური რეზონანსის (ეპრ) სპექტროსკოპული კვლევები.

ეპრ კვლევები ტარდებოდა რადიოსპექტრომეტრზე PЭ-1307 (რუსეთი), რომელიც ოპერირებს ზემდალი სიხშირის არეში 9.77 GHz მოდულაციის სიხშირით 50 kHz, თხევადი აზოტის (-196°C) ტემპერატურაზე.

ვსაზღრავდით სისხლის და ღვიძლის ეპრ სპექტრებს. სისხლში ისაზღვრებოდა პროოქსიდანტური (ცვალებადი ვალენტობის მქონე იონების (Mn^{2+} ($g_1=2,14$), Fe^{2+} ($g=2,37$, $\Delta H=350Gc$), მეთემოგლობინის (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). სპექტრების რეგისტრაცია ტარდებოდა მოდულაციის ამპლიტუდაზე 0,6mT დამიკროტალღოვანი გამოსხივების სიმძლავრეზე 100 мВт.

ღვიძლში ვსაზღრავდით მიტოქონდრიული სუნთქვის (ფლავინების და უბიქინონების სემიქინონური ფორმების ($g=2,00$) და რკინაგოგირდოვანი (FeS) ცენტრების ($g=1,94$) ეპრ სიგნალები) მაჩვენებლები, მიკროსომული ციტოქრომ P-450-ის ($g=2,25$), Mn^{2+} შემცველი ცენტრების ($g=2,14$) ეპრ სიგნალებს.

სისხლში და ღვიძლში თავისუფალი აზოტის ჟანგის განსაზღვრის მიზნით ვიყენებდით სპინ-ხაფანგს ნატრიუმის დიეთილდითიოკარბამატს (DETC) (SIGMA). DETC (დოზით 500 მგ/კგ) და Fe^{2+} -ციტრატი (50 მგ $FeSO_4 \cdot 6H_2O + 250$ მგ ნატრიუმის ციტრატი კგ-ზე) შეგვყავდა ინტრაპერიტონიალურად (Beltran B., et al., 2000). ცხოველებს ვკლავდით სპინხაფანგის შეყვანიდან 10...წუთის შემდეგ; $NO-Fe^{2+}-(DETC)_2$ კომპლექსების ეპრ სპექტრები ისაზღვრებოდა თხევადი აზოტის ტემპერატურაზე მიკროტალღოვან სიმძლავრეზე 20 мВт (Галаган М.Е., Киладзе А.Ф., 1997; Meng F., Lowell C.A., 1997).

სისხლში და ღვიძლში პეროქსიდრადიკალების ($LOO\cdot$) განსაზღვრის მიზნით ვიყენებდით სპინხაფანგს α -ფენილ-*tert*-ბუტილნიტრონ (PBN) (SIGMA), რომელიც შეგვყავდა ინტრაპერიტონიალურად დოზით 10 მგ/კგ (Sweet M.J., Hume D.A., 1996). ცხოველებს ვკლავდით სპინხაფანგის შეყვანიდან 10... წუთის შემდეგ. $LOO\cdot$ -ს ეპრ სპექტრებს ვსაზღრავდით ოთახის ტემპერატურაზე მიკროტალღოვან სიმძლავრეზე 20 мВт.

სისხლში ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების (სუპეროქსიდრადიკალების) განსაზღვრის მიზნით ვიყენებდით სპინ-ხაფანგს 5,5 დიმეთილ-1-პიროლინ-IV-ოქსიდი (DMPO) (SIGMA). ვაეწარმოებდით სისხლის ინკუბაციას DMPO-თან (დოზით 50 mM 1 მლ სისხლზე) 3 წუთის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე (Sweet M.J., Hume D.A.,

J. Leukocyte Biol., 1996, v. 60, p. 8-26.). სუპეროქსიდრადიკალების ეპრ სპექტრებს ვსაზღვრავდით ოთახის ტემპერატურაზე მიკროტალღოვან სიმძლავრეზე 20 მВт.

ერიტროციტების მემბრანის დეფორმაბელობის უნარის განსაზღვრა.
ერიტროციტების მემბრანის დეფორმაბელობის უნარის გამოკვლევას კომპიუტერული ფილტრაციულ-ფოტომეტრული მეთოდის გამოყენებით ვაწარმოებდით (ხულუზაური ო., ტყემელაშვილი ბ., 1990).

ჰისტოლოგიური კვლევები.

უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობის შეფასებისათვის ვიყენებდით იმუნოჰისტოქიმიურ მეთოდს – უჯრედის ბირთვში პროაპოპტოზური მარკერის ცილა p53-ის გამოვლინებას თავის IgG-2b კლასის მონონუკლეალური ანტისხეულების A(Novo-Castra, კატალოგის RTU-p53-D07) გამოყენებით. რეაქციის პროდუქტების ფიქსაცია ხდებოდა ფირმა Novo-Castra უნივერსალურ შრატებში და სტრეპტოვიდინ-პეროქსიდაზას კომპლექსში (Novostain Universal Quick Kit, ფირმა Novo-Castra, კოდი NCL-RTU-QU); ვიზუალიზაციას ვაწარმოებდით 3,3-დიაბენზიდინტეტრაქლორიდში (DAB; 0,5 მგ/მლ; pH 7,6; 0,001% H₂O₂, BD Biosciences Pharmingen).

თავი III

საკუთარი კვლევები და მათი შედეგები

3.1. ვირთაგვების სისხლის ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის რადიაცია-ინდუცირებული ცვლილებები და მისი კორექცია C ვიტამინის და პლაფერონ ლბ-ს მეშვეობით

ცხრილში 1 და დიაგრამაზე 1 მოყვანილია ვირთაგვების სისხლში კატალაზას, სუპეროქსიდდისმუტაზას (სოდ) და გლუტათიონ რედუქტაზას (გრ) აქტივობის ცვლილებები γ -რადიაციული დასხივების და პლაფერონ ლბ-ს და C ვიტამინის ზემოქმედების დროს. როგორც ცხრილში მოყვანილი მონაცემებიდან გამომდინარეობს, დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ ვირთაგვების სისხლში კატალაზას აქტივობა 71%-ით მცირდება საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით. დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ

მისი აქტივობა კიდევ უფრო კლებულობს და შეადგენს საკონტროლო მაჩვენებლების 4%-ს.

იმ ექსპერიმენტულ სერიაში, სადაც ვირთაგვებს დასხივების შემდეგ უტარდებოდა მკურნალობა პლაფერონ ლბ-ს ინექციებით (დასხივებისთანავე და დასხივებიდან 18 საათის შემდეგ) დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ კატალაზას აქტივობა სარწმუნოდ არ იცვლება მე-2 ჯგუფის ცხოველებისათვის დამახასიათებელ მაჩვენებლებთან შედარებით, ხოლო დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ 82%-ით აღემატება მე-2 ჯგუფის ცხოველებისათვის დამახასიათებელ შესაბამის მაჩვენებლებს.

პლაფერონ ლბ-ს პრევენციული ზემოქმედების ფონზე დასივებიდან 1 საათის შემდეგ კატალაზას აქტივობა 90%-ით იზრდება მე-2 ჯგუფისათვის დამახასიათებელ მაჩვენებლებთან შედარებით, და რჩება ამ დონეზე დაკვირვების ბოლომდე (24 საათის შემდეგ).

ცხრილი N1

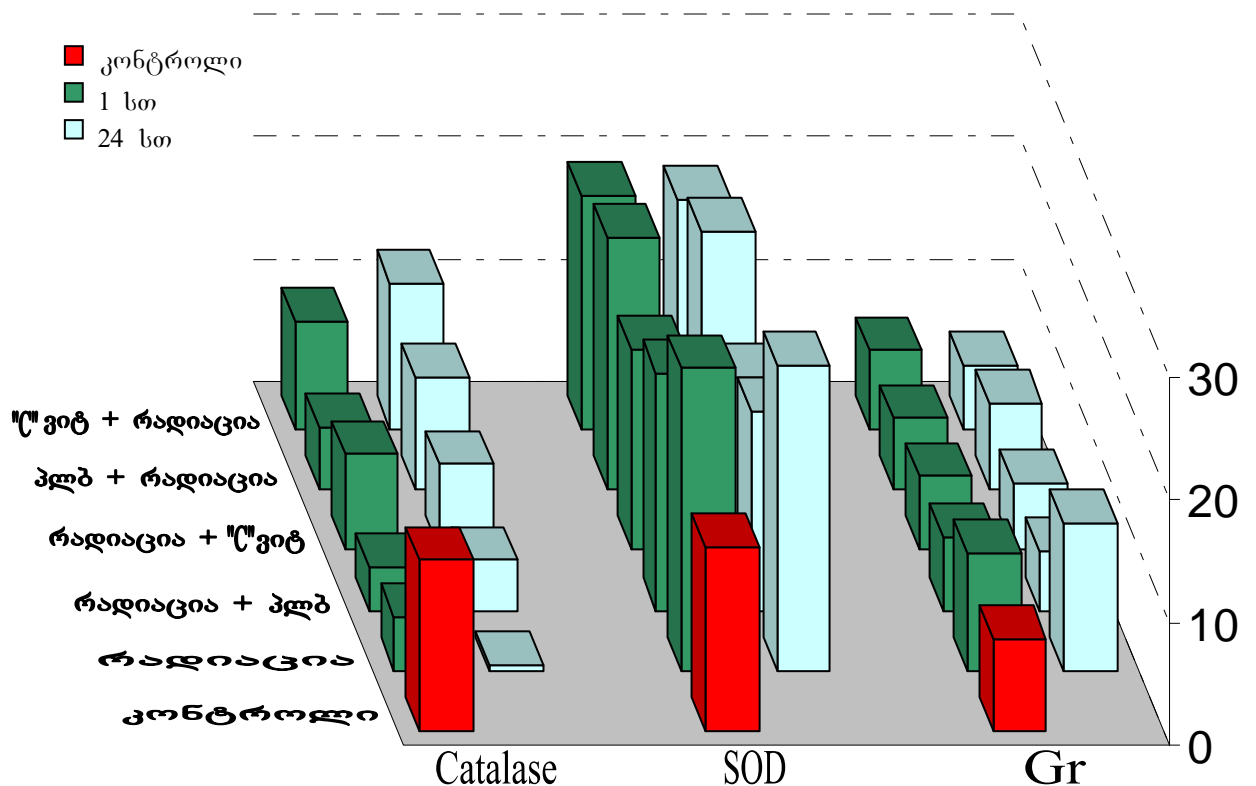
ვირთაგვების სისხლის ანტიოქსიდანტური ფერმენტების (კატალაზას, სოდ-ის და გრ-ას) აქტივობის რადიაცია ინდუცირებული ცვლილებები და მისი კორექცია C ვიტამინის და პლაფერონ ლბ-ს მეშვეობით

		კატალაზა	სოდ	გრ
კონტროლი (I ჯგუფი)		14±1,5	150±15,5	7,5±1,0
რადიაცია (II ჯგუფი)	1 საათი 1	4,04±1,1 p ₀₁ <0,001	247,6±13,0 p ₀₋₁ <0,001	9,6±1,2 p ₀₋₁ >0,1
	24 საათი 2	0,5±0,4 p ₀₋₂ <0,001 p ₁₋₂ <0,001	249,2±17,0 p ₀₋₂ <0,001 p ₁₋₂ >0,1	12±1,5 p ₀₋₂ <0,001 p ₁₋₂ >0,1
რადიაცია +პლაფერონი ლბ (III ჯგუფი)	1 საათი 3	3,6±1,1 p ₀₋₃ <0,001 p ₁₋₃ >0,1	193,2±13,0 p ₀₋₃ <0,001 p ₁₋₃ <0,001	6,0±1,2 p ₀₋₃ <0,1 p ₁₋₃ <0,01
	24 საათი 4	4,1±0,3 p ₀₋₄ <0,001 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ >0,1	162,0±12,0 p ₀₋₄ >0,1 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ <0,001	4,8±1,0 p ₀₋₄ <0,01 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ <0,1
პლაფერონი ლბ + რადიაცია (IV ჯგუფი)	1 საათი 5	7,8±0,7 p ₀₋₅ <0,001 p ₁₋₅ <0,001	163,8±14,0 p ₀₋₅ <0,1 p ₁₋₅ <0,001	6,0±1,0 p ₀₋₅ >0,1 p ₁₋₅ <0,001

	24 საათი 6	7,0±1,0 p ₀₋₆ <0,001 p ₂₋₆ <0,001 p ₅₋₆ >0,1	141±13,0 p ₀₋₆ >0,1 p ₂₋₆ <0,001 p ₅₋₆ >0,1	5,4±0,9 p ₀₋₆ >0,1 p ₂₋₆ <0,001 p ₅₋₆ >0,1
რადიაცია + C ვიტამინი (V ჯგუფი)	1 საათი 7	5,1±0,9 p ₀₋₇ <0,001 p ₁₋₇ >0,1	205,8±10,9 p ₀₋₇ <0,001 p ₁₋₇ <0,01	5,8±0,9 p ₀₋₇ >0,1 p ₁₋₇ <0,01
	24 საათი 8	9,2±1,2 p ₀₋₈ <0,001 p ₂₋₈ <0,001 p ₇₋₈ <0,01	210±14,0 p ₀₋₈ <0,001 p ₂₋₈ <0,01 p ₇₋₈ >0,1	7,0±1,1 p ₀₋₈ >0,1 p ₂₋₈ <0,01 p ₇₋₈ >0,1
C ვიტამინი + რადიაცია (VI ჯგუფი)	1 საათი 9	8,8±0,6 p ₀₋₉ <0,001 p ₁₋₉ <0,001	190±14,3 p ₀₋₉ <0,01 p ₁₋₉ <0,001	6,4±1,0 p ₀₋₉ <0,1 p ₁₋₉ >0,1
	24 საათი 10	11,9±1,3 p ₀₋₁₀ <0,001 p ₂₋₁₀ <0,001 p ₉₋₁₀ >0,1	187,5±7,8 p ₀₋₁₀ <0,01 p ₂₋₁₀ <0,001 p ₉₋₁₀ >0,1	5,2±0,9 p ₀₋₁₀ <0,01 p ₂₋₁₀ <0,001 p ₉₋₁₀ >0,1

დიაგრამა №1

ვირთაგვების სისხლის ანტიოქსიდანტური ფერმენტების (კატალაზას, სოდ-ის და გრ-ას) აქტივობის რადიაცია ინდუცირებული ცვლილებები და მისი კორექცია C ვიტამინის და პლაფერონ ლბ-ს მეშვეობით



იმ ექსპერიმენტულ სერიაში, სადაც ვირთაგვებს დასხივების შემდეგ უტარდებოდა მკურნალობა C ვიტამინის ინექციებით (დასხივებისთანავე და დასხივებიდან 18 საათის

შემდეგ) დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ კატალაზას აქტივობა შეადგენს საკონტროლო მაჩვენებლების 36%-ს, ხოლო დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ 80%-ით იზრდება და შეადგენს საკონტროლო მაჩვენებლების 66%-ს.

C ვიტამინის პრევენციული ზემოქმედების ფონზე დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ კატალაზას აქტივობა 100%-ით იზრდება მე-2 ჯგუფისათვის დამახასიათებელ მაჩვენებლებთან შედარებით, ხოლო შემდეგ აგრძელებს ზრდას და დაკვირვებიდან 24 საათის შემდეგ და შეადგენს საკონტროლო მაჩვენებლების 86%-ს.

სოდ-ის აქტივობა γ -რადიაციული გამოსხივების ფონზე დასხივებიდან ერთი საათის შემდეგ იზრდება 64%-ით და რჩება ამ დონეზე დაკვირვების ბოლომდე.

იმ ექსპერიმენტულ სერიაში, სადაც ვირთაგვებს დასხივების შემდეგ უტარებოდა მკურნალობა პლაფერონ ლბ-ს ინექციებით (დასხივებისთანავე და დასხივებიდან 18 საათის შემდეგ) სოდ-ის აქტივობა დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ იზრდება 29%-ით, ხოლო შემდეგ კლებულობს და შეადგენს საკონტროლო მაჩვენებლების 108%-ს.

პლაფერონ ლბ-ს პრევენციული ზემოქმედების შემთხვევაში სოდ-ის აქტივობა დაკვირვებიდან 1 და 24 საათის შემდეგ სარწმუნოდ არ იცვლებოდა საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით.

იმ ექსპერიმენტულ სერიაში, სადაც ვირთაგვებს დასხივების შემდეგ უტარებოდა მკურნალობა C ვიტამინის ინექციებით (დასხივებისთანავე და დასხივებიდან 18 საათის შემდეგ) სოდ-ის აქტივობა დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ იზრდება 37%-ით საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით და რჩებოდა ამ დონეზე დაკვირვების ბოლომდე.

C ვიტამინის წინასწარი ზემოქმედების ფონზე სოდ-ის აქტივობა დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ იზრდება 28%-ით საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით, და რჩებოდა ამ დონეზე დაკვირვების ბოლომდე (დაკვირვებიდან 24 საათის შემდეგ).

Ggr-ის აქტივობა γ -რადიაციული გამოსხივების ფონზე დასხივებიდან ერთი საათის შემდეგ სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ იცვლება საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით, ხოლო დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ შეადგენს საკონტროლო მაჩვენებლების 160%-ს.

იმ ექსპერიმენტულ სერიაში, სადაც ვირთაგვებს დასხივების შემდეგ უტარებოდა მკურნალობა პლაფერონ ლბ-ს ინექციებით (დასხივებისთანავე და დასხივებიდან 18

საათის შემდეგ) გრ-ას აქტივობა დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ იცვლებოდა საკონტროლო მაჩვენებლების დონესთან შედარებით, ხოლო დაკვირვებიდან 24 საათის შემდეგ შეადგენს საკონტროლო მაჩვენებლების 64%-ს.

პლაფერონ ლბ-ს პრევენციული ზემოქმედების ფონზე დასხივებიდან 1 და 24 საათის შემდეგ გრ-ას აქტივობა სარწმუნოდ არ იცვლებოდა საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით.

იმ ექსპერიმენტულ სერიაში, სადაც ვირთაგვეს დასხივების შემდეგ უტარდებოდა მკურნალობა C ვიტამინის ინექციებით (დასხივებისთანავე და დასხივებიდან 18 საათის შემდეგ) გრ-ას აქტივობა დასხივებიდან 1 და 24 საათის შემდეგ არ იცვლებოდა საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით.

C ვიტამინის პრევენციული ზემოქმედების ფონზე დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ გრ-ას აქტივობა სარწმუნოდ არ იცვლებოდა საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით, ხოლო დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ შეადგენდა საკონტროლო მაჩვენებლების 70%-ს.

მასაშადამე, როგორც მიღებული შედეგების ანალიზიდან გამომდინარეობს, როგორც პლაფერონ ლბ, ასევე C ვიტამინი ხელს უწყობენ ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის ნაწილობრივ ნორმალიზაციას, სტაბილიზაციას. აღსანიშნავია, რომ პლაფერონ ლბ უზრუნველყოფს კატალაზას, სოდ-ის და გრ-ას სტაბილიზაციას, ამასთან, მისი პრევენციული მოქმედება აღმოჩნდა უფრო ეფექტური, რაც განპირობებული შეიძლება იყოს პრეპარატის ცხოველებზე ზემოქმედების შედარებით დიდი ხანგრძლივობით. C ვიტამინის როგორც სამკურნალო, ასევე პრევენციული მოქმედება, თუმცა ხელს უწყობს კატალაზას და გრ-ას აქტივობის აღდგენას, მაგრამ ვერ უზრუნველყოფს სოდ-ის აქტივობის ნორმალიზაციას.

3.2. ვირთაგვების სისხლის პრო- და ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობის გამომხატველი ეპრ სიგნალების ინტენსივობის რადიაცია ინდუცირებული ცვლილებები და მისი კორექცია C ვიტამინის და პლაფერონ ლბ-ს მეშვეობით

ცხრილში 2 და დიაგრამაზე 2 მოყვანილია ვირთაგვების სისხლის პრო- და ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობის გამომხატველი ეპრ სიგნალების ინტენსივობის ცვლილებები γ -რადიაციული დასხივების და პლაფერონ ლბ-ს და C ვიტამინის ზემოქმედების დროს.

როგორც მათში მოყვანილი მონაცემებიდან გამომდინარეობს, დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ ვირთაგვების სისხლში დაჟანგული ცერულოპლაზმინის ეპრ სიგნალის ინტენსივობა იზრდება 43%-ით საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით და რჩება ამ დონეზე დაკვირვების ბოლომდე (დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ). Fe^{3+} -ტრანსფერინის ეპრ სიგნალის ინტენსივობა დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ შეადგენდა საკონტროლო მაჩვენებლების 43%-ს და აგრეთვე რჩებოდა ამ დონეზე დაკვირვების ბოლომდე. ამ დროს სისხლის ეპრ სპექტრში ჩნდება Mn^{2+} . მეთჰემოგლობინის (MetHb) და აზოტის ჟანგის ჰემურ რკინასთან კომპლექსების (HbNO) ეპრ სიგნალები.

იმ ექსპერიმენტულ სერიაში, სადაც ვირთაგვებს დასხივების შემდეგ უტარდებოდა მკურნალობა პლაფერონ ლბ-ს ინექციებით (დასხივებისთანავე და დასხივებიდან 18 საათის შემდეგ) დაჟანგული ცერულოპლაზმინის ეპრ სიგნალის ინტენსივობა დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ იწყებს კლებას და 24 საათისათვის უტოლდება საკონტროლო მაჩვენებლების დონეს. ამ დროს Fe^{3+} -ტრანსფერინის ეპრ სიგნალის ინტენსივობა დაკვირვების დაწყებიდან 24 საათისათვის შეადგენს საკონტროლო მაჩვენებლების 57%-ს. ამ ვადისათვის Mn^{2+} შემცველი კომპლექსების და მეთჰემოგლობინის ეპრ სიგნალების ინტენსივობა შეადგენს დასხივებული ვირთაგვებისათვის დამახასიათებელი შესაბამისი მაჩვენებლების 56% და 47%-ს, ხოლო HbNO –კომპლექსების ეპრ სიგნალი საერთოდ არ ვლინდება.

ცხრილი 2

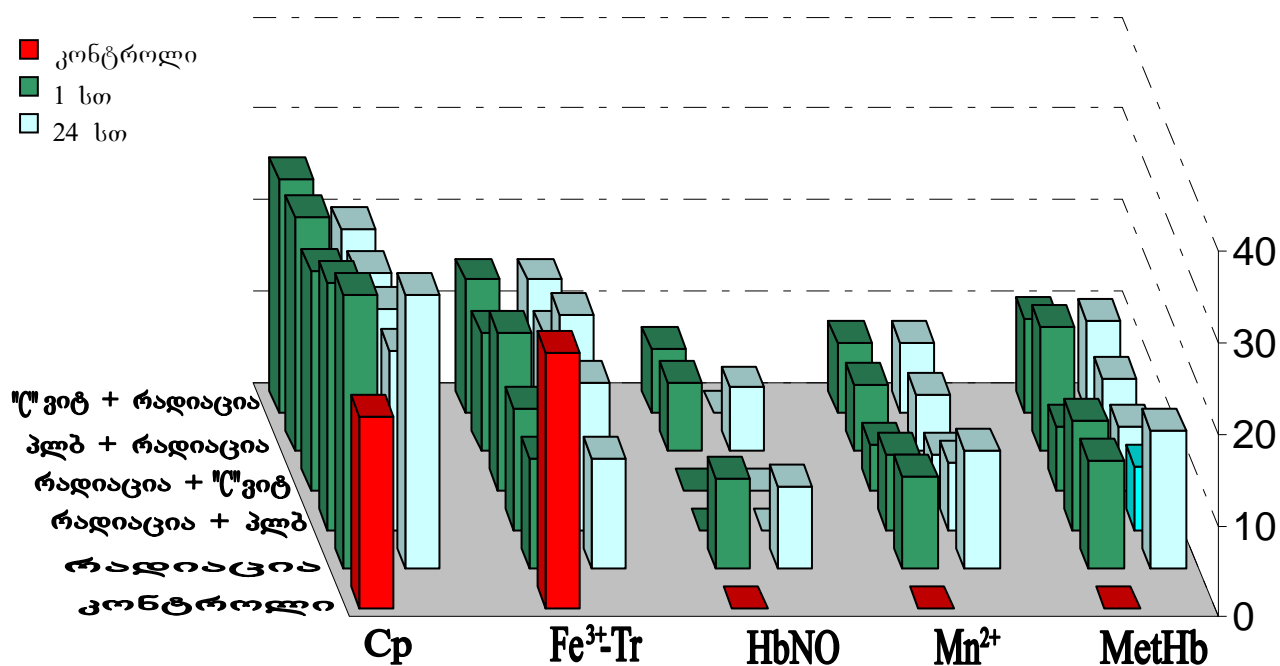
ვირთაგვის სისხლის პრო- და ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობის გამომხატველი ეპრ სიგნალების ინტენსივობის ცვლილებები რადიაციის ზემოქმედების დროს

		ცპ	Fe^{3+} -ტრ	Mn^{2+}	MetHb	HbNO
კონტროლი (I ჯგუფი) 0		21,0±1,5	28,0±1,4	-	-	-
რადიაცია (II ჯგუფი)	1 საათი 1	30,1±2,0 $p_{0-1}<0,001$	12,1±1,9 $p_{0-1}<0,001$	10,1±1,0	12,0±1,2	10,0±1,2
	24საათი 2	30,0±1,8 $p_{0-2}<0,001$ $p_{1-2}>0,1$	12,2±1,7 $p_{0-2}<0,001$ $p_{1-2}>0,1$	13,0±1,0 $p_{1-2}>0,1$	15,1±1,0 $p_{1-2}>0,1$	9,0±1,0

რადიაცია + პლაფერონი ლბ (III ჯგუფი)	1 საათი 3	27,0±1,8 p0-3<0,001 p1-3>0,1	13,3±1,1 p0-3<0,001 p1-3>0,1	8,3±0,9 p1-3<0,01	12,0±0,8 p1-3>0,1	-
	24 საათი 4	19,6±1,7 p0-4>0,1 p2-4<0,001 p3-4<0,001	16,1±1,2 p0-4<0,001 p2-4<0,01 p3-4<0,1	7,3±1,0 p2-4<0,01	7,0±1,0 p2-4<0,001	-
Pლაფერონი ლბ + რადიაცია (IV ჯგუფი)	1 საათი 5	24,1±1,8 p0-5>0,1 p1-5<0,001	17,3±1,1 p0-5<0,001 p1-5<0,001	5,0±1,3 p1-5<0,01	7,0±1,0 p1-5<0,01	-
	24 საათი 6	20,0±1,0 p0-6>0,1 p2-6<0,001 p5-6>0,1	19,2±1,2 p0-6<0,001 p2-6<0,001 p5-6>0,1	4,0±1,0 p2-6<0,001	7,1±1,0 p2-6<0,001	-
რადიაცია + C ვიტამინი (V ჯგუფი)	1 საათი 7	25,7±1,2 p0-7<0,01 p1-7<0,01	13,0±1,1 p0-7<0,001 p1-7>0,1	7,3±1,0 p1-7<0,05	13,7±1,1 p1-7>0,1	7,6±1,0
	24 საათი 8	19,6±1,5 p0-8>0,1 p2-8<0,001 p7-8<0,01	13,1±1,2 p0-8<0,001 p2-8>0,1 p7-8>0,1	6,3±1,0 p2-8>0,1	8,0±1,1 p2-8<0,001	7,0±1,2
ვიტამინი "B" + რადიაცია (VI ჯგუფი)	1 საათი 9	25,5±1,4 p0-9<0,01 p1-9<0,01	14,5±1,2 p0-9<0,001 p1-9>0,1	7,7±1,0 p1-9<0,05	10,2±0,9 p1-9>0,1	7,0±1,1
	24 საათი 10	20,0±1,1 p0-10>0,1 p2-10<0,001 p9-10<0,01	14,5±1,4 p0-10<0,001 p2-10>0,1 p9-10>0,1	7,7±1,0 p2-10>0,1	10,0±0,8 p2-10>0,1	-

დიაგრამა №2

ვირთაგვის სისხლის Aპრო- და ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობის გამომხატველი
ეპრ სიგნალების ინტენსივობის ცვლილებები რადიაციის ზემოქმედების დროს



პლაფერონ ლბ-ს პრევენციული ზემოქმედების ფონზე დაჟანგული ცერულოპლაზმინის ეპრ სიგნალი დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ მცირდება 20%-ით, ხოლო დაკვირვების 24-ე საათისათვის უტოლდება საკონტროლო მაჩვენებლების დონეს. Fe^{3+} -ტრანსფერინის შემცველობა სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ იცვლება დასხივებული ვირთაგვებისათვის დამახასიათებელ მაჩვენებლებთან შედარებით. ამ ექსპერიმენტულ სერიაში Mn^{2+} შემცველი კომპლექსების და მეთჰემოგლობინის ეპრ სიგნალების ინტენსივობა შეადგენს დასხივებული ვირთაგვებისათვის დამახასიათებელ შესაბამის მაჩვენებლების 30%-ს და 46%-ს, ხოლო HbNO – კომპლექსების ეპრ სიგნალი საერთოდ არ ვლინდება სისხლის ეპრ სპექტრში.

იმ ექსპერიმენტულ სერიაში, სადაც ვირთაგვებს დასხივების შემდეგ უტარდებოდა მკურნალობა C ვიტამინის ინექციებით (დასხივებისთანავე და დასხივებიდან 18 საათის შემდეგ) დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ დაჟანგული ცერულოპლაზმინის ეპრ სიგნალი შეადგენს დასხივებული ვირთაგვებისათვის დამახასიათებელი ეპრ სიგნალის 85%-ს, დაკვირვების 24 საათის შემდეგ აღნიშნული პარამეტრიც მცირდება კიდევ 24%-ით. ამ დროს Fe^{3+} -ტრანსფერინის შემცველობა არ იცვლება, ხოლო Mn^{2+} შემცველი კომპლექსების და მეთჰემოგლობინის ეპრ სიგნალების ინტენსივობა დასხივებული ვირთაგვებისათვის დამახასიათებელი მაჩვენებლებთან შედარებით მცირდება 51% და 47%-ით. HbNO –კომპლექსების ეპრ სიგნალის ინტენსივობა მცირდება 27%-ით.

C ვიტამინის პრევენციული ზემოქმედების ფონზე დაჟანგული ცერულოპლაზმინის ეპრ სიგნალი დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ მცირდება 17%-ით, ხოლო დაკვირვების 24-ე საათისათვის უტოლდება საკონტროლო მაჩვენებლების დონეს. Fe^{3+} -ტრანსფერინის შემცველობა იზრდება და დაკვირვების ბოლოსათვის შეადგენს საკონტროლო მაჩვენებლების 69%-ს. ამ ექსპერიმენტულ სერიაში Mn^{2+} შემცველი კომპლექსების და მეთჰემოგლობინის ეპრ სიგნალების ინტენსივობა შეადგენს დასხივებული ვირთაგვებისათვის დამახასიათებელ შესაბამის მაჩვენებლების 49%-ს და 66%-ს, ხოლო HbNO –კომპლექსების ეპრ სიგნალი დაკვირვების დაწყებიდან 24 საათის შემდეგ საერთოდ არ ვლინდება სისხლის ეპრ სპექტრში.

ჩვენი კვლევების შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ γ -დასხივებული (დოზით 6 Gr) ვირთაგვების სისხლში დასხივებიდან 1 და 24 საათის შემდეგ მკვეთრად იზრდება სუპეროქსიდრადიკალების (O_2^-) და ლიპოპეროქსიდების (LOO^\cdot) შემცველობა, რაც მათი სპინ-მონიშნული ეპრ სიგნალების მომატებით ვლინდება და თავისუფალრადიკალური ჟანგვის პროცესების ინტენსიფიკაციის შესახებ მეტყველებს (ცხრილი 3, დიაგრამა 3).

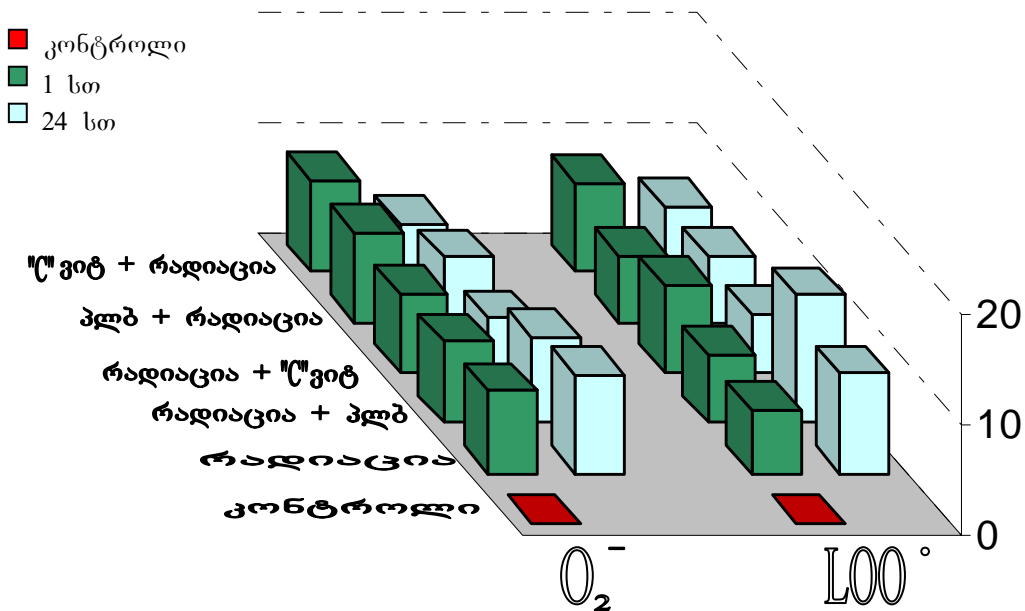
		γ -დასხივება	γ -დასხივება + C ვიტამინი	C ვიტამინი + γ -დასხივება	γ -დასხივება + პლაფერონი ლბ	პლაფერონი ლბ + γ -დასხივება
O_2^-	1 სთ	7.5±0,6	7.4±0,3	7.1±0,5	8.2±0.4	8.3±0.7
	24 სთ	8,9±1,1	7,8±0,9	4.9±0.2	5.9±0.6	4.4±0.4
LOO^\cdot	1 სთ	5.8±0.5	6.3±0.3	7.9±0.7	6.0±0.4	8.0±0.4
	24 სთ	9.1±1.0	11.6±0.7	5.3±0.6	5.95±0.6	6.0±0.3

ცხრილი 3

ვირთაგვას სისხლში O_2^- და LOO^\cdot ეპრ სიგნალების ინტენსივობის ცვლილებები

დიაგრამა 3

ვირთაგვას სისხლში O_2^- და LOO^\cdot ეპრ სიგნალების ინტენსივობის ცვლილებები



3.3 ვირთაგვების სისხლში ლიპიდური ცვლის მაჩვენებლების ცვლილებები რადიაციული დასხივების, C ვიტამინით და პლაფერონ ლბ-თი ზემოქმედების დროს

ცხრილში N4 და დიაგრამაზე 4 მოყვანილია სისხლში ქოლესტეროლის და ტრიგლიცერიდების შემცველობის ცვლილებები γ -სხივების, პლაფერონ ლბ-ს და C ვიტამინის ზემოქმედების დროს.

ცხრილი 4

ვირთაგვის სისხლის ლიპიდური ცვლის მაჩვენებლები γ -სხივების, პლაფერონ ლბ-ს და “C” ვიტამინის ზემოქმედების დროს

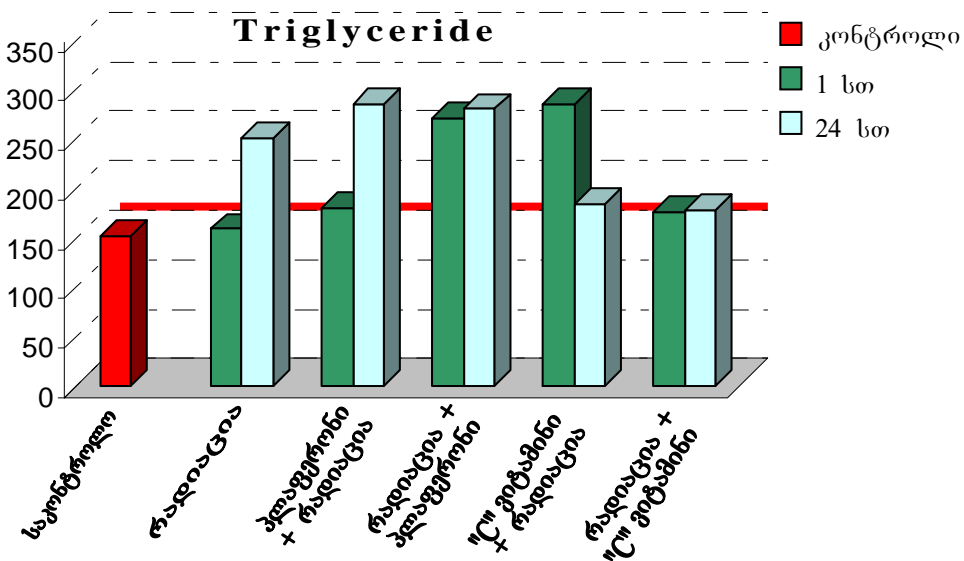
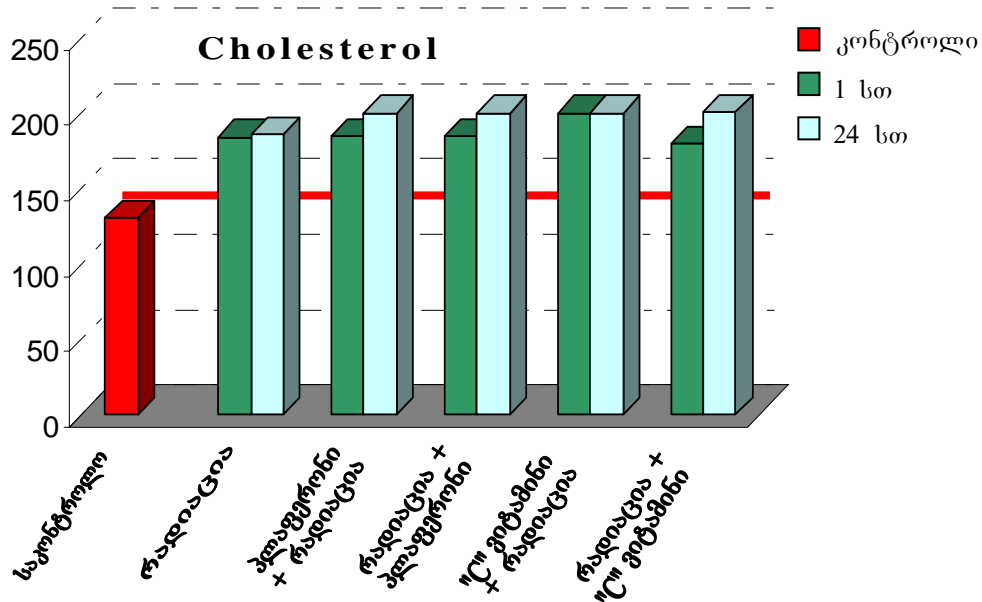
	კონტროლი	რადიაცია		რადიაცია + პლაფერონი		პლაფერონი + რადიაცია		რადიაცია + “C” ვიტამინი		“C” ვიტამინი + რადიაცია	
		1 სთ	24სთ	1 სთ.	24 სთ.	1 სთ.	24 სთ.	1 სთ.	24 სთ.	1 სთ.	24 სთ.
Col	130,5 ±10,5	184,0 ±14,5'	186,0 ±14,0'	185,0 ±13,5'	200 ±14,0'	185,0 ±12,0'	200 ±17,0'	200 ±14,0'	200 ±13,7'	180,0 ±13,5'	201,0 ±14,1'
Tg	152,6 ±9,0	158,8 ±9,7	251,0 ±10,5'	180 ±5,0'	285 ±8,7'	270 ±7,9'	280,0 ±10,0'	285 ±8,0'	184 ±9,8'	176,0 ±6,6'	178,0 ±8,0'

როგორც ზემოთ მოყვანილი მონაცემებიდან გამომდინარეობს, სისხლში ქოლესტეროლის შემცველობა დასხივებიდან ერთი საათის შემდეგ 40%-ით იზრდება და რჩება ამ დონეზე დაკვირვების ბოლომდე (დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ).

უნდა აღინიშნოს, რომ არც პლაფერონ ლბ-ს პოსტრადიაციული, არც წინასწარი ზემოქმედება არ მოქმედებდა დასხივებული ვირთაგვების სისხლში ქოლესტეროლის დონეზე. იგივე ითქმის C ვიტამინის სამკურნალო და პრევენციული ზემოქმედების შესახებ.

ტრიგლიცერიდების შემცველობა დასხივებული ვირთაგვების სისხლში დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ იცვლებოდა საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით. დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ ეს მაჩვენებელი 65%-ით იზრდება საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით. როგორც ცხრილში მიყვანილი მონაცემებიდან გამომდინარეობს, პლაფერონ ლბ-ს და C ვიტამინის სამკურნალო და პრევენციული ზემოქმედების ფონზე დასხივებიდან 1 და 24 საათის შემდეგ ტრიგლიცერიდების შემცველობა სისხლში მნიშვნელოვნად იზრდებოდა საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით.

ვირთაგვის სისხლის ლიპიდური ცვლის მაჩვენებლები γ -სხივების, პლაფერონ ლბ-ს და “C” ვიტამინის ზემოქმედების დროს



როგორც ცნობილია, ცოცხალ ორგანიზმში ქოლესტეროლი მონაწილეობს მრავალ ფიზიოლოგიურ პროცესებში. ქოლესტეროლი – მრავალი ფიზიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების წინამორბედაა (ნაღვლის პიგმენტი, სტეროიდული ჰორმონები, D ვიტამინი და ა.შ.), განაპირობებს უჯრედული მემბრანების მორფო-ფუნქციურ და პლასტიურ თვისებებს, უზრუნველყოფს მათი სიხისტეს, შერჩევით განვლადობას და ამ გზით ხელს უწყობს უჯრედთა შიგთავსის სტაბილობის შენარჩუნებას. ქოლესტეროლის მონაწილეობა მემბრანების განვლადობის

რეგულაციაში ხორციელდება მათი დენადობის და მემბრანული პოტენციალის ცვლილების მეშვეობით (Крылов В.И. и др., 1985). ჩვენს მიერ გამოვლენილი დასხვიებული ცხოველების სისხლის პლაზმაში საერთო ქოლესტეროლის შემცველობის მკვეთრი მომატება წარმოადგენს ამ ნაერთის მემბრანებიდან გაძლიერებული განთავისუფლების შედეგს. ქოლესტეროლის მემბრანული სტრუქტურებიდან განთავისუფლება განპირობებული შეიძლება იყოს მემბრანების ლიპიდების პეროქსიდაციური პროცესების ინიციაციით, მათი ლიპიდო-ცილოვანი მატრიქსის სტრუქტურული ცვლილებებით, ქოლესტეროლსა და მემბრანის სხვა კომპონენტებს შორის კავშირების შესუსტებით ან დარღვევით.

მემბრანებში ქოლესტეროლის შემცველობის შემცირება განაპირობებს მათი სიხისტის და დენადობის დაქვეითებას, სისხლის უჯრედების დეფორმაბელობისა და რეზისტენტობის დაქვეითებას.

ტრიგლიცერიდები წარმოადგენენ უჯრედების ძირითად ენერგეტიკულ დეპოს. როგორც ცნობილია თავისუფალი ცხიმოვანი მჟავები წარმოიქმნება ტრიგლიცერიდებიდან ლიპაზების მონაწილეობით და ტრანსპორტირდებიან პროტეინების, ალბუმინის, მეშვეობით სხვადასხვა ქსოვილებთან, სადაც ადვილად აღწევენ უჯრედების შიგნით და წარმოქმნიან ციტოზოლური ტრიგლიცერიდების დეპოს ნეიტრალური ცხიმების სახით, ან იჟანგებიან ენერგეტიკული მარაგების (ATP) წარმოქმნისათვის. ნორმალურ პირობებში ტრიგლიცერიდების მოწოდება არაადიპოზურ ქსოვილებში (ჩონჩხის და მიოკარდიუმის მუსკულატურის, ღვიძლის და პანკრეასის β უჯრედებში) რეგულირდება ენეტგეტიკული მოთხოვნილების მიხედვით. მაშასადამე ვირთაგვების სისხლში ტრიგლიცერიდების დონის მკვეთრი მომატება განპირობებული უნდა იყოს ორგანიზმში მეტაბოლური პროცესების გააქტივებით და ენერგეტიკული მოთხოვნილებების გაძლიერებით

ჩვენი კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ C ვიტამინის და პლაფერონ ლბ-ს პოსტრადიაციული, ან პრევენციული ზემოქმედების შემდეგ ქოლესტეროლის დონე სისხლის პლაზმაში რჩება მომატებული; ტრიგლიცერიდების დონე კი კიდევ უფრო იზრდება (განსაკუთრებით დასხვიებიდან 1 საათის შემდეგ). ეს გარემოება საშუალებას გვაძლევს გამოვთქვათ ვარაუდი, რომ რადიაციული დასხვიების დროს ლიპიდური ცვლის დარღვევის ძირითად მიზეზს წარმოადგენს ორგანიზმში

რადიაციანდუცირებული ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის დარღვევა, ლიპოლიზის ინტენსიფიკაცია. გამოყენებული რადიოპროტექტორების ფონზე სისხლში ტრიგლიცერიდების დონის მომატება განპირობებული შეიძლება იყოს ლიპოლიზის კომპენსატორული სტიმულაციით ამ პრეპარატების მიერ.

3.4 ვირთაგვების სისხლში ერითროციტების დეფორმაბელობის და მეთჰემოგლობინის შემცველობის ცვლილებები რადიაციული დასხივების და C ვიტამინით და პლაფერონ ლბ-თი ზემოქმედების დროს

ცხრილებში 5, 6 და დიაგრამებზე 5, 6 მოყვანილია სისხლში ერითროციტების დეფორმაბელობის და მეთჰემოგლობინის შემცველობის ცვლილებები γ -სხივების და პლაფერონ ლბ-ს და C ვიტამინის ზემოქმედების დროს.

ზემოთ მოყვანილი მონაცემებიდან გამომდინარეობს, სისხლში ერითროციტების დეფორმაბელობა დასხივებიდან ერთი საათის შემდეგ 28%-ით მცირდება; ამ ვადაზე მეთჰემოგლობინის შემცველობა იზრდება 25%-ით. დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ ერითროციტების დეფორმაბელობის მაჩვენებელი მცირდება კიდე 24%-ით და 59%-ით აღემატება საკონტროლო მაჩვენებლების დონეს. დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ მეთჰემოგლობინის შემცველობა სისხლში 135%-ით მატულობს საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით.

იმ შემთხვევაში, როდესაც რადიაციული დასხივება ტარდებოდა ვირთაგვებზე პლაფერონ ლბ-ს წინასწარი ზემოქმედების ფონზე, ერითროციტების დეფორმაბელობის მაჩვენებელი...დასხივებიდან 1 და 24 საათის შემდეგ სტატისტიკურად სარწმუნოდ მცირდებოდა დასხივებული ვირთაგვების შესაბამის მაჩვენებლებთან შედარებით, მცირდებოდა აგრეთვე მეთჰემოგლობინის შემცველობა.

ვირთაგვებზე პლაფერონ ლბ-ს პოსტრადიაციული ზემოქმედების დროს დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ ერითროციტების დეფორმაბელობის მაჩვენებელი არ იცვლება, ხოლო 24 საათის შემდეგ 24%-ით მცირდება მარტო რადიაციული დასხივებისათვის დამახასიათებელ ანალოგიურ მაჩვენებლებთან შედარებით და უახლოვდება საკონტროლო მაჩვენებლების დონეს. ეს მონაცემები მეტყველებენ პლაფერონი ლბ-ს სამკურნალო ზემოქმედების ფონზე ერითროციტების დეფორმაბელობის

ხარისხის მომატების შესახებ. ამ ექსპერიმენტულ სერიაში აგრეთვე მცირდება ვირთაგვების სისხლში მეთჰემოგლობინის შემცველობა.

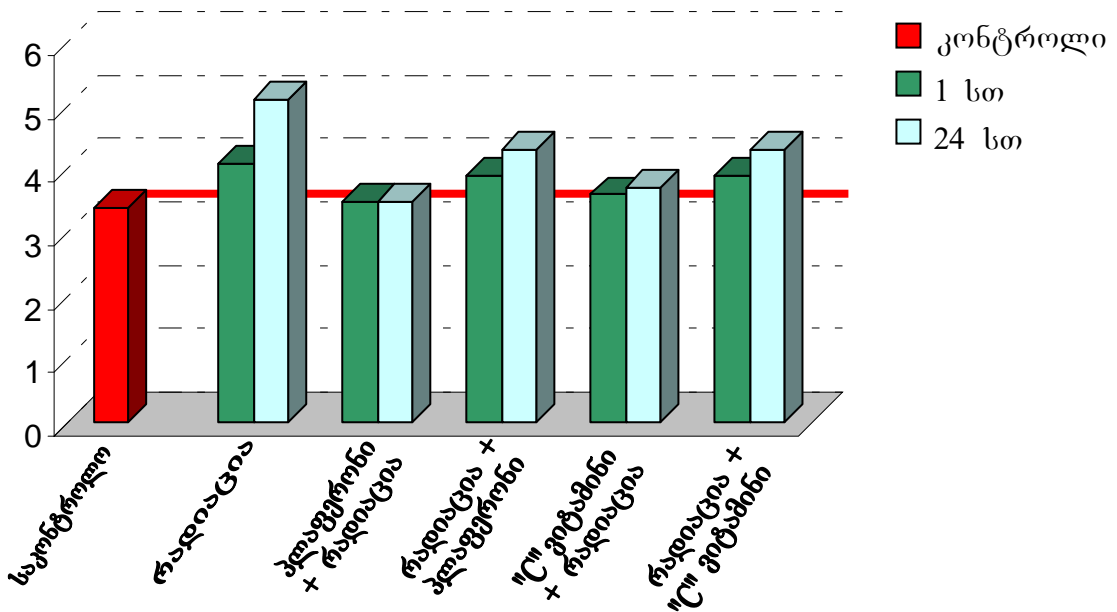
ცხრილი 5

სისხლში ერითროციტების დეფორმაბელობის ცვლილებები γ -სხივების, პლაფერონ ლბ-ს და "C" ვიტამინის ზემოქმედების დროს.

დეფორმაბელობა	საკონტროლო	რადიაცია		პლაფერონი + რადიაცია		რადიაცია + პლაფერონი		"C" ვიტამინი + რადიაცია		რადიაცია + "C" ვიტამინი	
		1 სთ.	24 სთ.	1 სთ.	24 სთ.	1 სთ.	24 სთ.	1 სთ.	24 სთ.	1 სთ.	24 სთ.
		3,2±0,6	4,1±0,6 P _k <0,01	5,1±0,2 P _k <0,01	3,5±0,4 P _k >0,1	3,5±0,5 P _k >0,1 P _r <0,01	3,9±0,6 P _k >0,1 P _r <0,01	4,3±0,3 P _k >0,1 P _r <0,01	3,6±0,5 P _k >0,1 P _r <0,01	3,7±0,6 P _k <0,01 P _r <0,01	3,9±0,5 P _k <0,01

დიაგრამა 5

სისხლში ერითროციტების დეფორმაბელობის ცვლილებები γ -სხივების, პლაფერონ ლბ-ს და "C" ვიტამინის ზემოქმედების დროს.



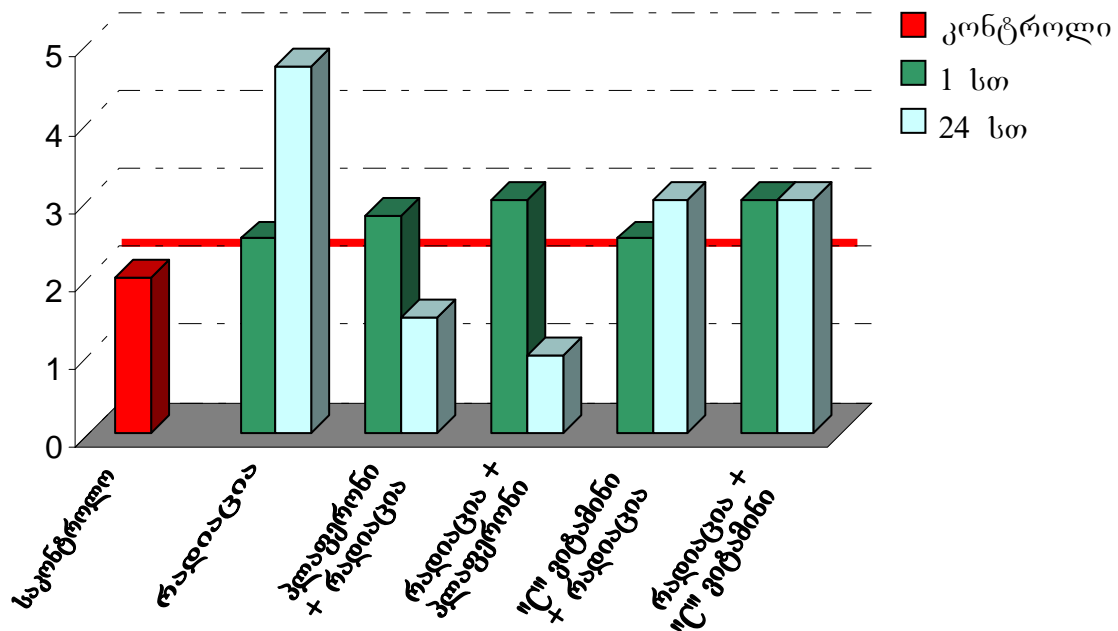
ცხრილი 6

მეთჰემოგლობინის შემცველობის ცვლილებები γ -სხივების, პლაფერონ ლბ-ს და "C" ვიტამინის ზემოქმედების დროს.

	საკონტროლო	რადიაცია		პლაფერონი + რადიაცია		რადიაცია + პლაფერონი		“C” ვიტამინი + რადიაცია		რადიაცია + “C” ვიტამინი	
		1 სთ.	24 სთ.	1 სთ.	24 სთ.	1 სთ.	24 სთ.	1 სთ.	24 სთ.	1 სთ.	24 სთ.
MetHb	2,0±0,2	2,5±0,5 P _k >0,1	4,7±0,4 P _k <0,01	2,8±0,5 P _k >0,1	1,5±0,5 P _k >0,1 P _r <0,01	3,0±0,4 P _k >0,1 P _r <0,01	1,0±0,2 P _k >0,1 P _r <0,01	2,5±0,6 P _k >0,1 P _r <0,01	3,0±0,6 P _k <0,01 P _r <0,01	3,0±0,4 P _k <0,01	3,0±0,4 P _k <0,01

დიაგრამა 6

მეთემოგლობინის შემცველობის ცვლილებები γ-სხივების, პლაფერონ ლბ-ს და “C” ვიტამინის ზემოქმედების დროს.



C ვიტამინის პრევენციული ზემოქმედების ფონზე ერითროციტების დეფორმებლობის და მეთემოგლობინის მაჩვენებლები სტატისტიკურად სარწმუნოდ მცირდებოდა დასხივებული ვირთაგვების შესაბამის მაჩვენებლებთან შედარებით.

იმ ექსპერიმენტულ სერიაში, როდესაც C ვიტამინის ინექციები უკეთდებოდა ვირთაგვებს რადიაციის ზემოქმედების ფონზე, ერითროციტების დეფორმებლობის

მაჩვენებელი დასხივებიდან 1 და 24 საათის შემდეგ მცირდება რადიაციული დასხივებისათვის დამახასიათებელ შესაბამის მაჩვენებლებთან შედარებით 5% და 16%-ით შესაბამისად. ანუ, როგორც ამ ექსპერიმენტული ჯგუფის კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, C ვიტამინის სამკურნალო ზემოქმედების ფონზე იზრდება ერთროციტების დეფორმაბელობის ხარისხი. ამ ექსპერიმენტულ სერიაში სისხლში მეთჰემოგლობინის შემცველობა მნიშვნელოვნად არ იცვლება რადიაციული დასხივებისათვის დამახასიათებელ მაჩვენებლებთან შედარებით და 50%-ით აღემატება საკონტროლო მაჩვენებლების დონეს.

3.5 ღვიძლის პარამაგნიტური ცენტრების ცვლილებები რადიაციული დასხივების და პლაფერონ ლბ-ს და ვიტამინ C-ს სამკურნალო და პრევენციული ზემოქმედების დროს

ცხრილში 7 და დიაგრამაზე 7 მოყვანილია ღვიძლის პარამაგნიტური ცენტრების ცვლილებები რადიაციული დასხივების, პლაფერონ ლბ-ს და ვიტამინ C-ს სამკურნალო და პრევენციული ზემოქმედების დროს.

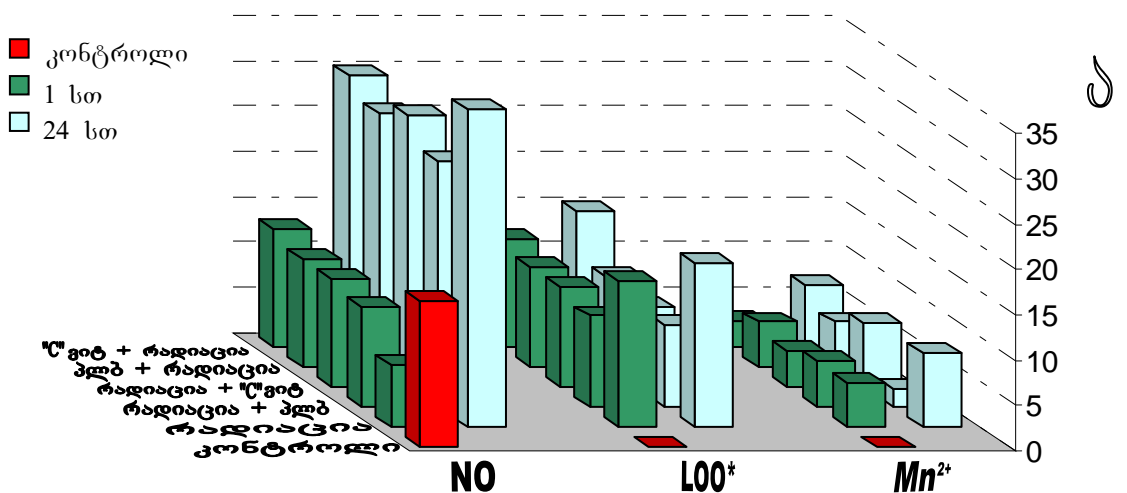
ცხრილი №7

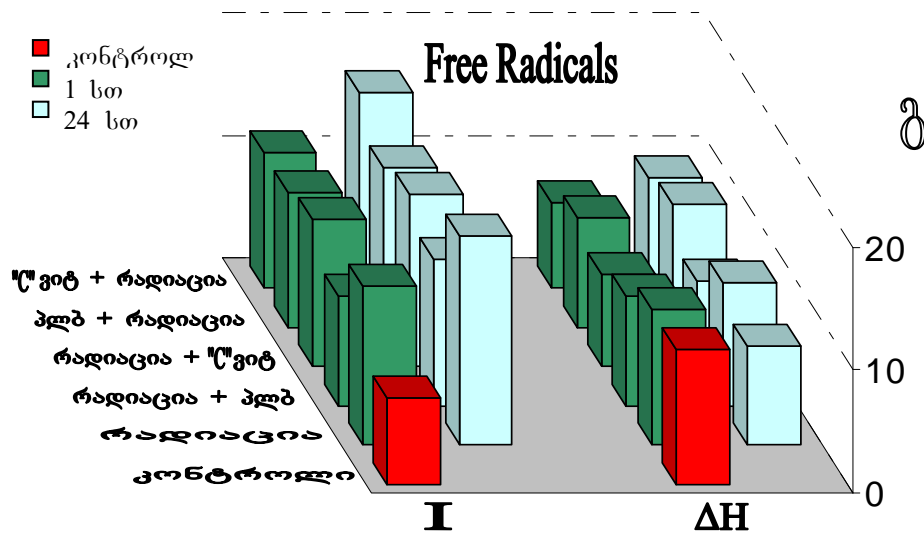
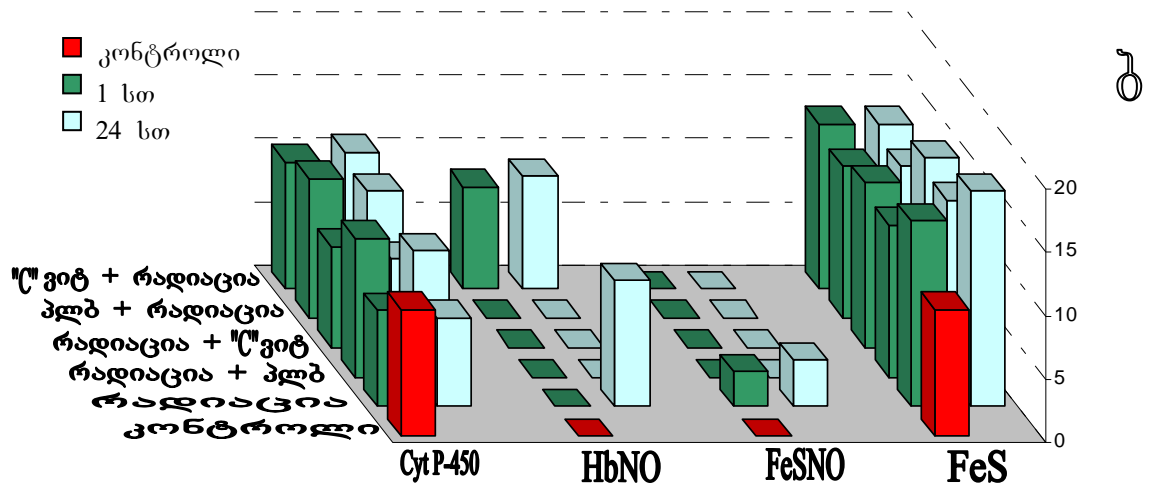
ვირთავას ღვიძლის პარამაგნიტური ცენტრების ცვლილებები რადიაციული დასხივების და პლაფერონ ლბ-ს და ვიტამინ C-ს სამკურნალო და პრევენციული ზემოქმედების დროს

		NO	LOO	ციტ. P-450	Mn ²⁺	HbNO	FeSNO	FeS	თ.რ.	
									I	ΔH
კონტროლი		16,0±0,8	-	10,0±0,7	-	-	-	10,0±0,8	7,0±0,4	11,0±0,5
რადიაცია	1 სთ	6,8±0,4	16,0±0,9	7,6±0,5	4,8±0,5	-	2,8±0,7	14,7±0,6	13,0±0,5	11,0±0,5
	24 სთ	35,0±1,5	18,0±1,7	7,0±0,6	8,0±0,6	10,0±1,1	3,7±0,7	17,0±0,9	17,0±0,6	8,0±0,7
რადიაცია + პლზ	1 სთ	11,0±1,2	10,0±1,1	11,0±0,7	5,0±0,5	-	-	12,0±0,7	9,0±0,7	9,0±0,5
	24 სთ	27,0±0,9	9,0±0,9	10,0±0,5	2,0±0,5	-	-	14,0±0,5	12,0±0,6	10,0±0,5
რადიაცია+ “C” ვიტ.	1 სთ	12,0±1,7	11,0±0,9	8,0±0,6	4,0±0,4	-	-	13,0±0,6	12,0±0,5	7,5±0,5
	24 სთ	30,0±2,8	8,9±1,1	7,0±0,9	7,0±0,7	-	-	15,0±0,6	14,0±0,6	7,0±0,5
პლზ + რადიაცია	1 სთ	12,0±0,9	11,0±0,7	11,0±0,6	5,0±0,5	-	-	12,0±0,8	11,0±0,5	9,0±0,5
	24 სთ	28,0±1,7	10,0±0,8	10,0±0,6	5,0±0,5	-	-	12,0±0,9	13,0±0,7	10,0±0,6
“C” ვიტ. + რადიაცია	1 სთ	13,0±1,2	12,0±1,3	10,0±0,6	3,0±0,5	8,0±1,0	-	13,0±0,8	11,0±1,0	7,0±0,6
	24 სთ	30,0±1,8	15,0±1,6	10,8±0,5	7,0±0,5	8,9±0,9	-	13,0±0,8	16,0±0,9	9,0±0,6

დიაგრამა №7(ა,ბ,გ)

ვირთავას ღვიძლის პარამაგნიტური ცენტრების ცვლილებები რადიაციული დასხივების და პლაფერონ ლზ-ს და ვიტამინ C-ს სამკურნალო და პრევენციული ზემოქმედების დროს





დასხივებიდან უკვე ერთი საათის შემდეგ აღილი აქვს ჰეპატოციტების მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის რეინაგოგირდოვანი ცენტრების და თავისუფალრადიკალური ეპრ სიგნალების ინტენსივობის მომატებას. თავისუფალრადიკალური ეპრ სიგნალის ნახევარგანი (ΔH) არ იცვლება საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით დაკვირვების დაწყებიდან ერთი საათის შემდეგ და მცირდება 24 საათის შემდეგ, რაც მეტყველებს ჯამურ ეპრ სიგნალში ამ ვადაზე უბისემოქინონების წილის გადიდების შესახებ.

დასხივების დროს ციტოქრომ P-450-ის ეპრ სიგნალი მცირდება საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით და რჩება ამ დონეზე დაკვირვების ბოლომდე.

ეპრ სიგნალების ცვლილებების ასეთი ხასიათი ჰეპატოციტების მიკროსომებისა და მიტოქონდრიების ელექტრონების სატრანსპორტო ჯაჭვების აღდგენილობის ხარისხის მომატებაზე მეტყველებს.

ჰიპერაღდგენილობის მდგომარეობა ჩნდება სუბსტრატების გაძლიერებული მოწოდების დროს, განპირობებული ორგანიზმის სტრესს-რეაქციის განვითარებით რადიაციული დასხივების საპასუხოდ. დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ მცირდება თავისუფალრადიკალური ეპრ სიგნალის ნახევარგანი, რაც თავისუფალ რადიკალურ სიგნალში უბისემიქინონების წილის გადიდებაზე და მიტოქონდრიებში ელექტრონული ტრანსპორტის NADH-უბიქინონ-ოქსიდორედუქტაზულ უბანზე დარღვევის შესახებ მეტყველებს. ელექტრონული ტრანსპორტის ეს დარღვევა განპირობებული შეიძლება იყოს ფოსფოლიპაზა A₂-ის აქტივაციით რადიაციული სტრესისათვის დამახასიათებელი კატეჟოლამინების ჭარბი გამოყოფის პირობებში.

მიტოქონდრიების ელექტრონული სატრანსპორტო ჯაჭვის მუშაობის შეფერხება NADH-უბიქინონ-ოქსიდორედუქტაზულ უბანზე (I კომპლექსი) ჟანგის და ფოსფორილირების პროცესების გათიშვას და მაკროერგული ნაერთების სინთეზის დაქვეითებას განაპირობებს. მეორეს მხრივ, მიტოქონდრიული ელექტრონების ტრანსპორტის ჯაჭვის ჰიპერაღდგენილობა სუპეროქსიდრადიკალების გაძლიერებულ გენერაციას განაპირობებს, სუპეროქსიდრადიკალების გაძლიერებული გენერაციის წყაროს უბიქინონი, ციტოქრომ-ც-ოქსიდაზა და ციტოქრომდეჰიდროგენაზა წარმოადგენს. სუპეროქსიდრადიკალების დისმუტაციის შედეგად წარმოიქმნება მაღალტოქსიური წყალბადის ზეჟანგი (H₂O₂) რომელიც იწვევს ჰიდროქსილრადიკალების (OH·) პოსტრადიაციულ წარმოქმნას და მემბრანული და სხვა უჯრედული კომპონენტების ლიპიდების პეროქსიდულ დაჟანგვას. ითვლება, რომ ეს მეორადი ჰიდროქსილრადიკალები, წარმოქმნილი წყალბადის ზეჟანგის და ლოპოპეროქსიდების ფენტონის რეაქციაში დაშლის შედეგად, და არა წყლის რადიოლიზის პირველადი რადიკალები, განაპირობებენ პოსტრადიაციულ პერიოდისათვის დამახასიათებელ მემბრანების დაზიანებას, ფერმენტების ინაქტივაციას და ბიოსინთეზის პროცესების ინჰიბირებას. მემბრანული სტრუქტურების პეროქსიდული დაზიანების შესახებ მეტყველებს ღვიძლის ეპრ

სპექტრში ლიპოპეროქსიდების (LOO·) და Mn^{2+} იონების ინტენსიური ეპრ სიგნალების გამოჩენა.

დასხივების საწყის ვადებზე ციტოქრომ P-450-ის ეპრ სიგნალის ინტენსივობის შემცირება განპირობებული უნდა იყოს მისი აღდგენით.

ჟანგბადის რეაქციული ნაერთების გაძლიერებული წარმოქმნა დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ განპირობებს აზოტის ჟანგის პეროქსინიტრიტად ტრანსფორმაციას და თავისუფალი NO-ს შემცველობის შემცირებას. დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ იჩენს თავს ოქსიდაციური სტრესით ინდუცირებული iNOS მიერ აზოტის ჟანგის დიდი რაოდენობით წარმოქმნა, რაც მისი ეპრ სიგნალის მკვეთრი მომატებით ვლინდება (ცხრილი 8, დიაგრამა 8). NO-ერთ-ერთი სამიზნეა – მიტოქონდრიული FeS-შემცველი (NAD-H-დეჰიდროგენაზა) და ჰემური რკინის (ციტოქრომ c ოქსიდაზა) შემცველი ცილები. ამ ცილების ნიტროზილირება და, შესაბამისად, FeSNO და HbNO კომპლექსების წარმოქმნა მიტოქონდრებში ელექტრონული ტრანსპორტის I და IV კომპლექსებზე დათრგუნვას და ATP-ის წარმოქმნის დაქვეითებას განაპირობებს.

როგორც ცხრილში მოყვანილი მონაცემებიდან გამომდინარეობს, პლაფერონ ლბ-ს და ვიტამინ C-ს როგორც პრევეციული, ასევე სამკურნალო ზემოქმედებისას ვირთაგვების ღვიძლში ადგილი აქვს მიტოქონდრიული სუნთქვითი ჯაჭვის ჰიპერაღდგენილობის ხარისხის შემცირებას, უბისემიქინონების, Mn^{2+} იონების შემცველობის დაქვეითებას, ციტოქრომ P-450-ის დაჟანგულ მდგომარეობაში გადასვლას. ჟანგბადის რეაქციული ნაერთების გენერატორების (უბისემიქინონების, Mn^{2+} იონების და ა.შ.) შეზღუდული წარმოქმნის პირობებში მცირდება რეაქციული ჟანგბადის წარმოქმნის და ლიპოპეროქსიდაციული პროცესების ინტენსივობა, რაც ჩვენს კვლევებში სპინმონიშნული ლიპოპეროქსიდების ეპრ სიგნალის შემცირებით ვლინდება. ოქსიდაციური სტრესის შეზღუდვა განაპირობებს პეროქსინიტრიტის წარმოქმნის და ინდუციბელური iNOS ექსპრესიის შეზღუდვას, NO-ს ციტოტოქსიურობის შემცირებას, რაც პირველ რიგში მიტოქონდრიული სატრანსპორტო ცილების ნიტროზილირების დაქვეითებით, ელექტრონული სატრანსპორტო ჯაჭვის მუშაობის და მაკროერგული ნაერთების წარმოქმნის აღდგენით ვლინდება.

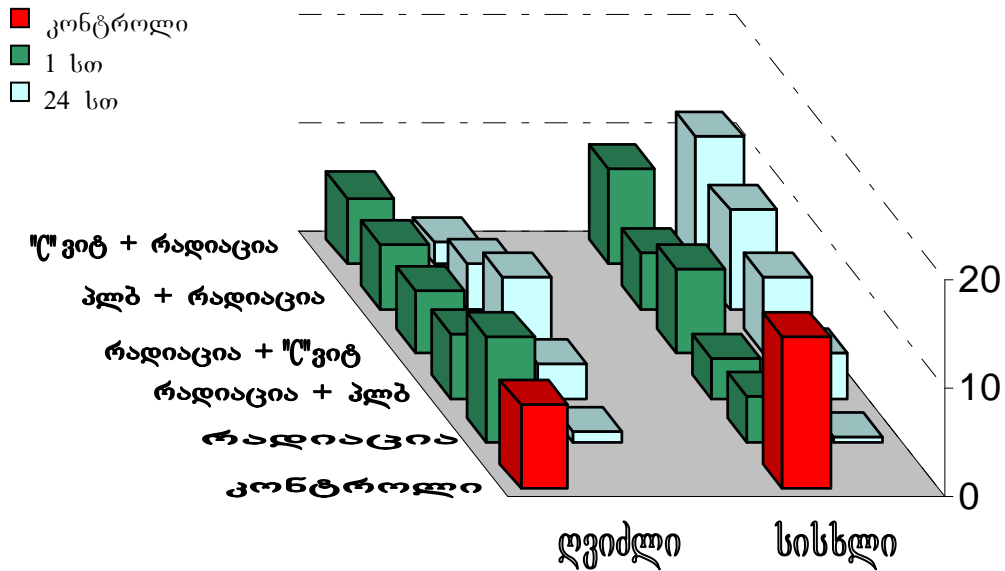
აღსანიშნავია, რომ პლაფერონ ლბ-ს მოქმედება ხასიათდება შედარებით მაღალი მაკორეგირებელი ეფექტით, განსაკუთრებით მისი პრევენციული გამოყენების პირობებში.

ცხრილი 8

ღვიძლის და სისხლის აზოტის ქანგის ცვლილებები

		NO	
		ღვიძლი	სისხლი
კონტროლი		16,0±0,8	7.7±0.8
რადიაცია	1 სთ	6,8±0,4	9.8±0.4
	24 სთ	35,0±1,5	1.1±0.3
რადიაცია + პლბ	1 სთ	11,0±1,2	6.0±0.4
	24 სთ	27,0±0,9	3.1±0.6
რადიაცია+ "C" ვიტ.	1 სთ	12,0±1,7	5.8±0.6
	24 სთ	30,0±2,8	7.0±0.5
პლბ + რადიაცია	1 სთ	12,0±0,9	6.0±0.1
	24 სთ	28,0±1,7	4.2±0.4
"C" ვიტ. + რადიაცია	1 სთ	13,0±1,2	6.2±0.9
	24 სთ	30,0±1,8	2.1±0.3

ღვიძლის და სისხლის აზოტის ჟანგის ცვლილებები

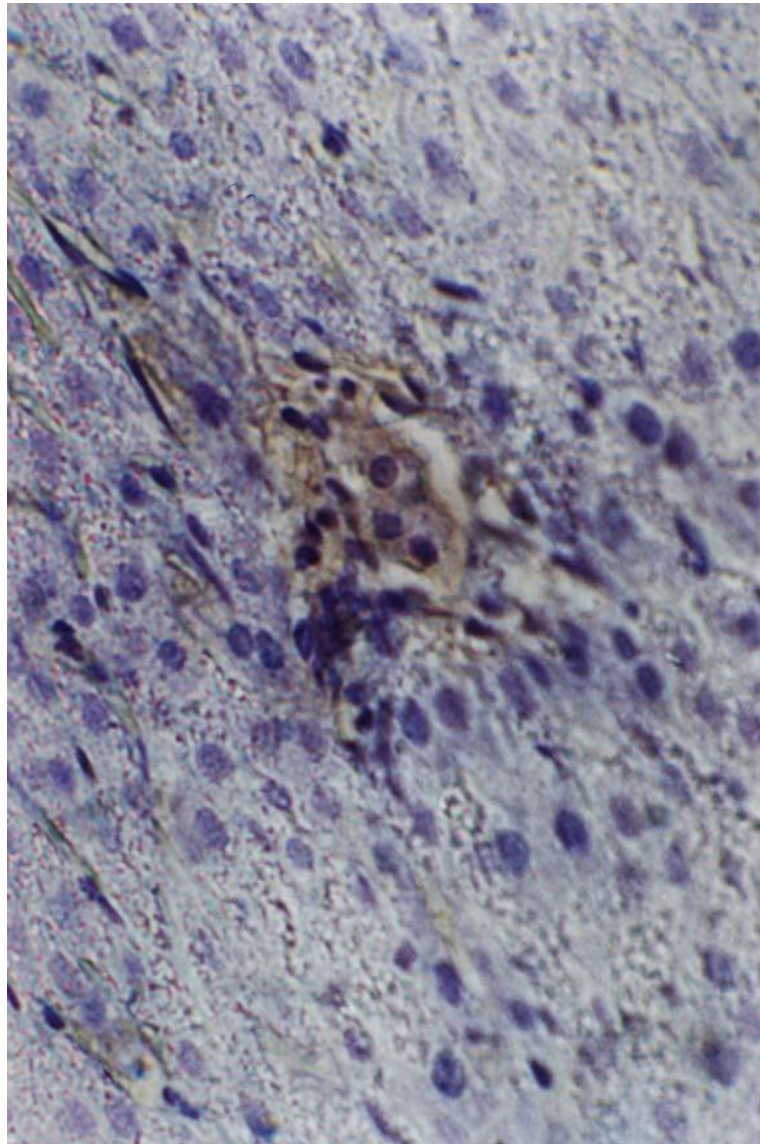


3.6 იმუნოჰისტოქიმიური კვლევის შედეგები

γ-დასხივებული ვირთაგვების ღვიძლში დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ პარენქიმის შესწავლილ უბნებში ექსტრა- და შეგაუჯრედოვანი შეშუპების ფონზე გვხვდება ჰეპატოციტები დისტროფიის სხვადასხვა სტადიაზე. ზოგიერთ მათგანში, განსაკუთრებით ცენტრალური ვენების ირგვლივ გამოვლენილია ნეკრობიოტური ცვლილებები ნეკროზის ჩათვლით.

ცნობილია, რომ ცილა p53-ს მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება ორგანიზმში γ-დასხივებაზე პირველადი პასუხის განვითარებაში. ჰეპატოციტები მიეკუთვნებიან უჯრედების სტაბილურ პოპულაციას, შედარებით დაბალი პროლიფერაციული აქტივობით. ამის გამო γ-დასხივების ზემოქმედების დროს ღვიძლის ქსოვილში p53-დამოკიდებული აპოპტოზი არ ატარებს მასიურ ხასიათს, როგორც რადიომგრძნობიარე ორგანოებში. თუმცა, განსაზღვრული რაოდენობის ჰეპატოციტების და მეზენქიალური წარმოშობის უჯრედების, მაკროფაგების, ბირთვებში ექსპრესირდება ცილა p53. დასხივებული ვირთაგვების ღვიძლის ცენტრალური ვენის კედელში, კერძოდ,

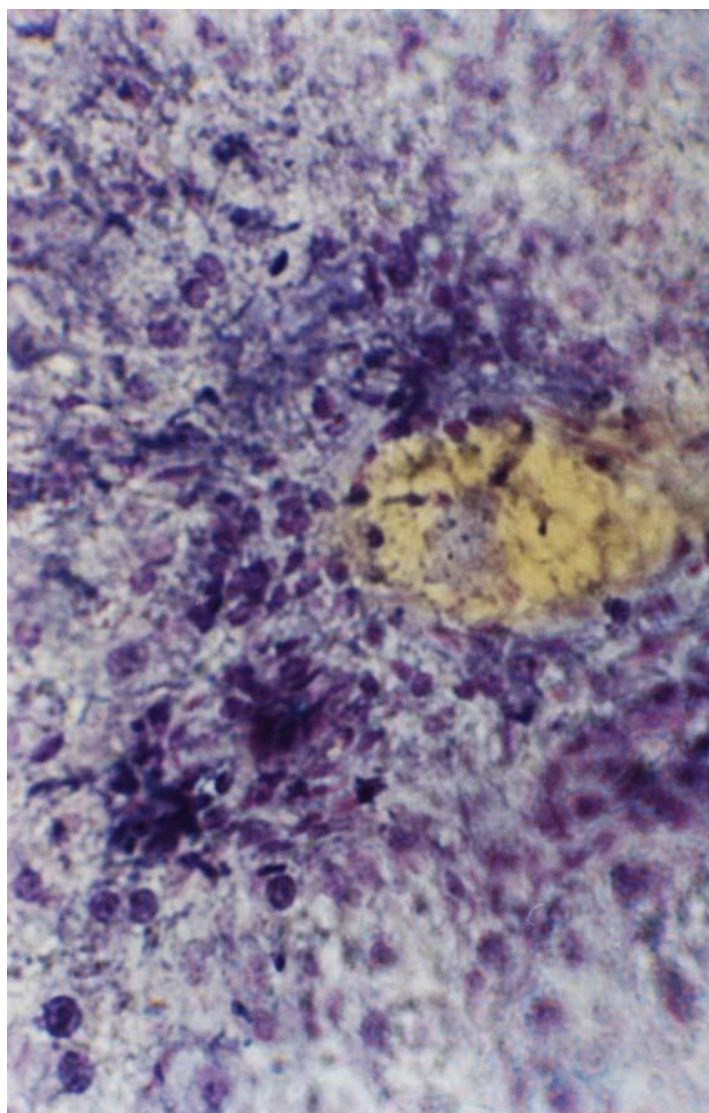
ინტიმში, გამოვლენილია ცილა p53-ის სუსტი ექსპრესია; მაკროფაგებში (კუპფერის უჯრედებში) პროაპოპტოზური ცილა p53-ის ექსპრესია გაძლიერებულია (სურათი 1).



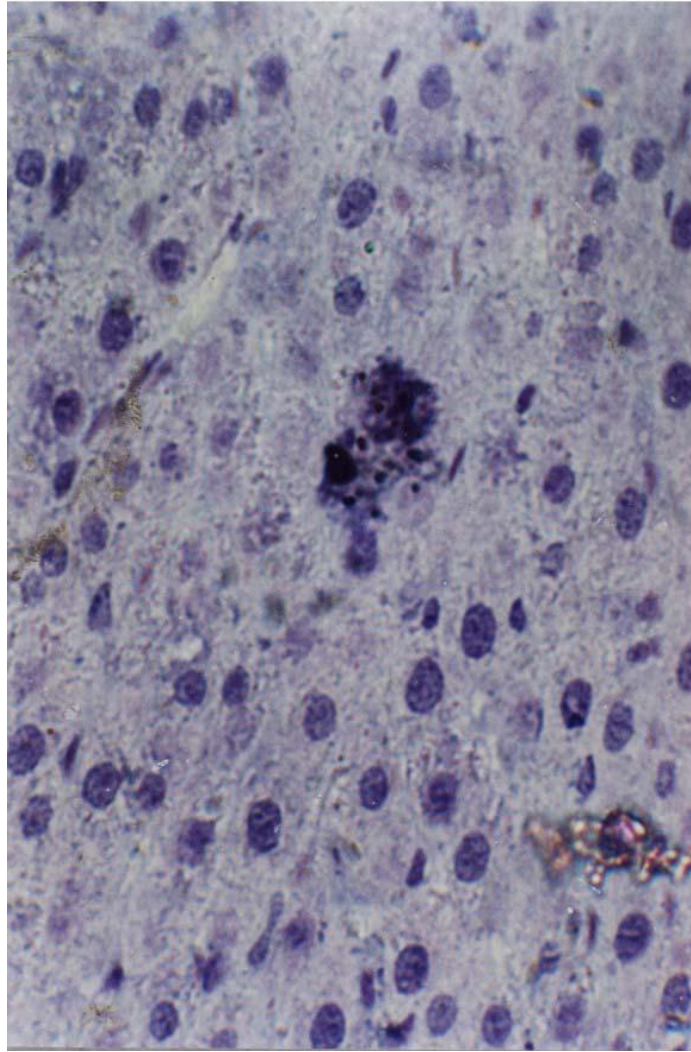
სურ. 1. ვირთაგვას ღვიძლის ქსოვილის ნიმუში ცილა p-53 - სუპრესორის ექსპრესია სინუსოიდის კედლის მაკროფაგებში (გვიან კუპფერის უჯრედებში) გაძლიერებული ინტენსივობით. პარაფინის ანათალი. იმუნოპეროქსიდაციური მეთოდი. X700

უჯრედების ზომები გაზრდილია, ყველგან აღინიშნება ცილა p53-ის ექსპრესია (სურათი 2). აღსანიშნავია, რომ p53-ის ექსპრესიის სიხშირე იზრდებოდა ღვიძლის ცენტრალობულარული წილიდან პრეპორტალურ ზონამდე. ზოგიერთ ჰეპატოციტებში

გამოვლენილია აპოპტოზური სხეულაკები, რაც მეტყველებს უჯრედის ბირთვის ფრაგმენტაციის შესახებ (სურათი 3).



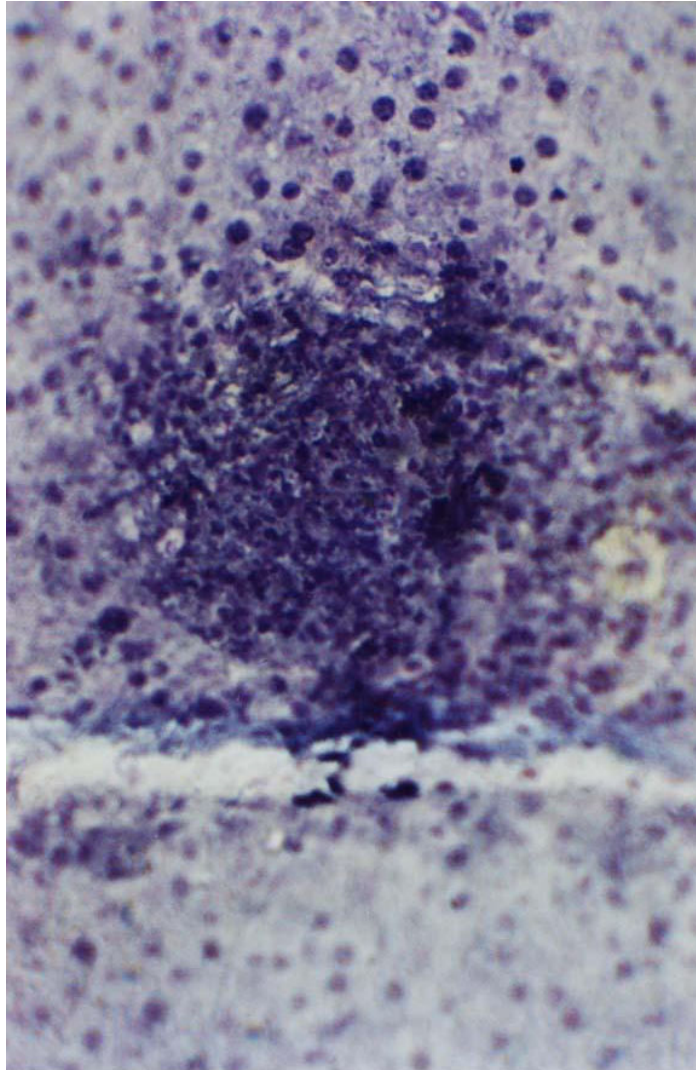
სურ. 2. ვირთაგვას ღვიძლის ქსოვილის ნიმუში
ცილა p-53 - სუპრესორის სუსტი ექსპრესია ცენტრალური ვენის კედლის ინტიმაში
პარაფინის ანათალი. იმუნოპეროქსიდაციური მეთოდი. X700



სურ. 3. ვირთაგვას ღვიძლის ქსოვილის ნიმუში
ჰეპატოციტების ბირთვის აპოპტოზის საბოლოო სტადია ბირთვის ფრაგმენტაციით და
აპოპტოზური სხეულაკების წარმოქმნით.

პარაფინის ანათალი. იმუნოპეროქსიდაციური მეთოდი. X700

ნეკროზის და ჰეპატოციტების ჰომოგენიზაციის კერებში პროაპოპტოზური ცილის p53-ის ექსპრესია იყო უარყოფითი (სურათი 4).



სურ. 4. ვირთაგვას ღვიძლის ქსოვილის ნეკროზის კერა ჰომოგენიზაციით.

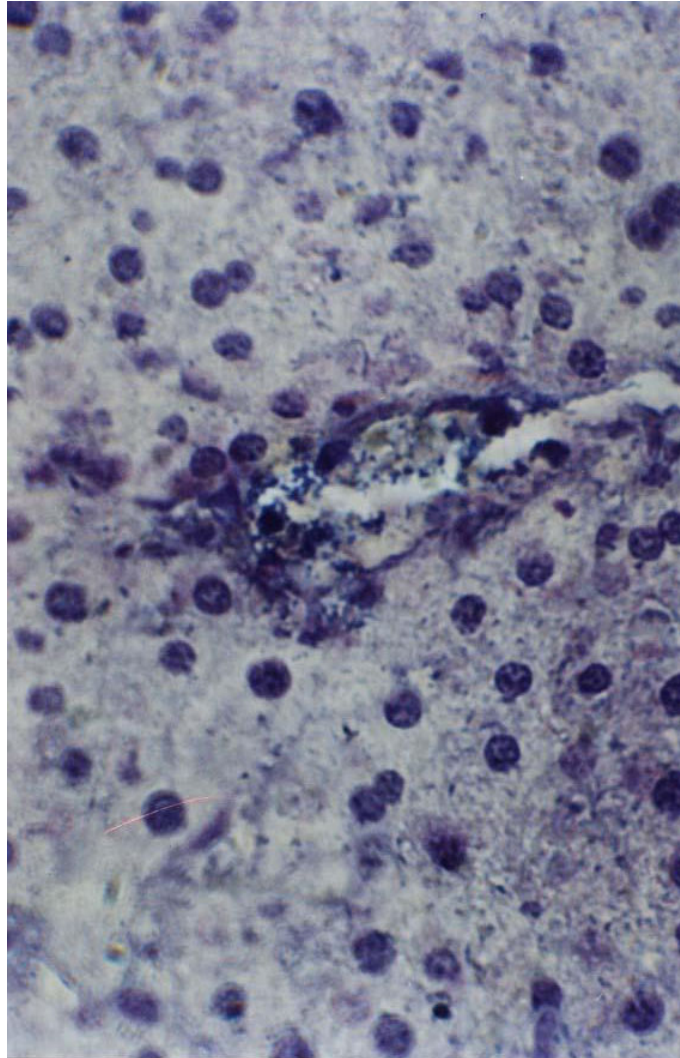
ცილა P-53-ის რეაქცია უარყოფითია.

იმუნოპეროქსიდაციური მეთოდი. დაღებვა ჰემატოქსილინით. X700

მაშასადამე, როგორც ჩვენი კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, დასხივებული ვირთაგვების ჰეპატოციტებში ოქსიდაციური სტრესის და აზოტის ჟანგის სინთეზის ინტენსიფიკაცია მიმდინარეობს ცილა p53-ს გაძლიერებული ექსპრესიის, ღვიძლის ქსოვილში აპოპტოზის და ნეკროზის ინტენსიფიკაციის ფონზე.

ექსპერიმენტებში C ვიტამინის გამოყენების დროს გამოვლენილია ცილა p53-ის მკვთრად გამოხატული ექსპრესია მაკროფაგებში და სისხლძარღვების კედლების

უჯრედებში, ენდოთელიოციტებში (სურათი 5). ცილა p53-ის ექსპრესირებულ ენდოთელიოციტებში მკვთრად ჩანს ბირთვების შექმუხნვა.

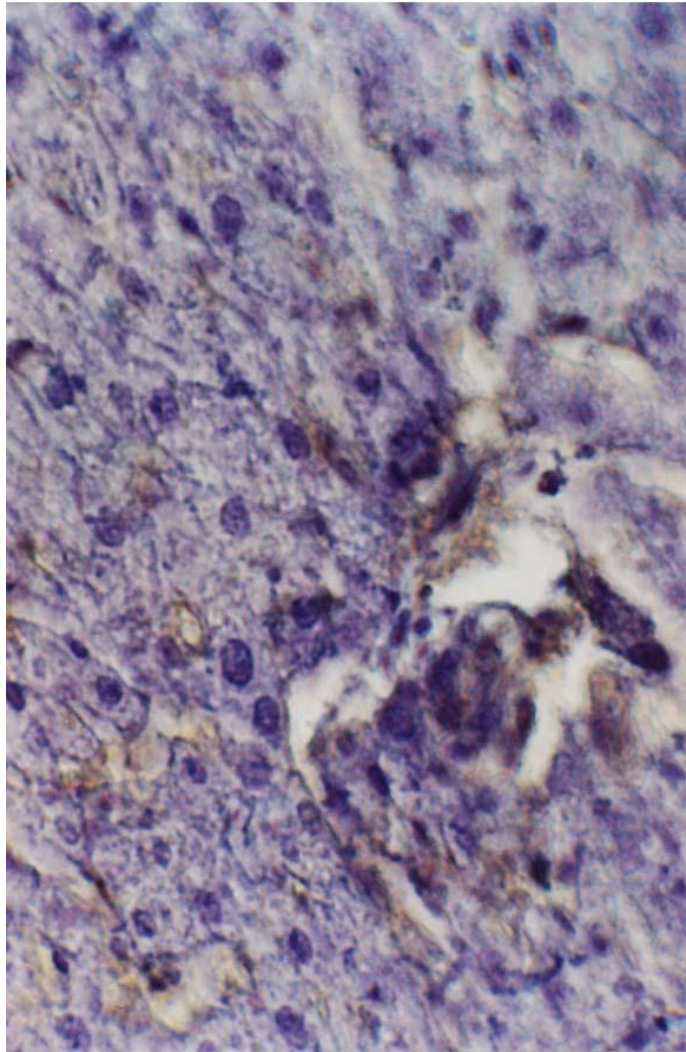


სურ. 5. ვირთაგვას ღვიძლის ქსოვილის ნიმუში.

ცილა P-53-ის სუპრესორის ექსპრესია ზომიერად გამოხატულია ღვიძლის სინუსოიდის კედლის ენდოთელურ უჯრედებში. ჩანს ბირთვთა შექმუხნვა.

პარაფინის ანათალი. იმუნოპეროქსიდაციური მეთოდი. X700

მაკროფაგებში ცილა p53-ის ჩართვის ინტენსივობა ნაკლებია (სურათი 5, 6). ანუ, C ვიტამინის რადიოპროტექტორის როლში გამოყენება არ იწვევს ცილა p53-ის სუპრესიას.



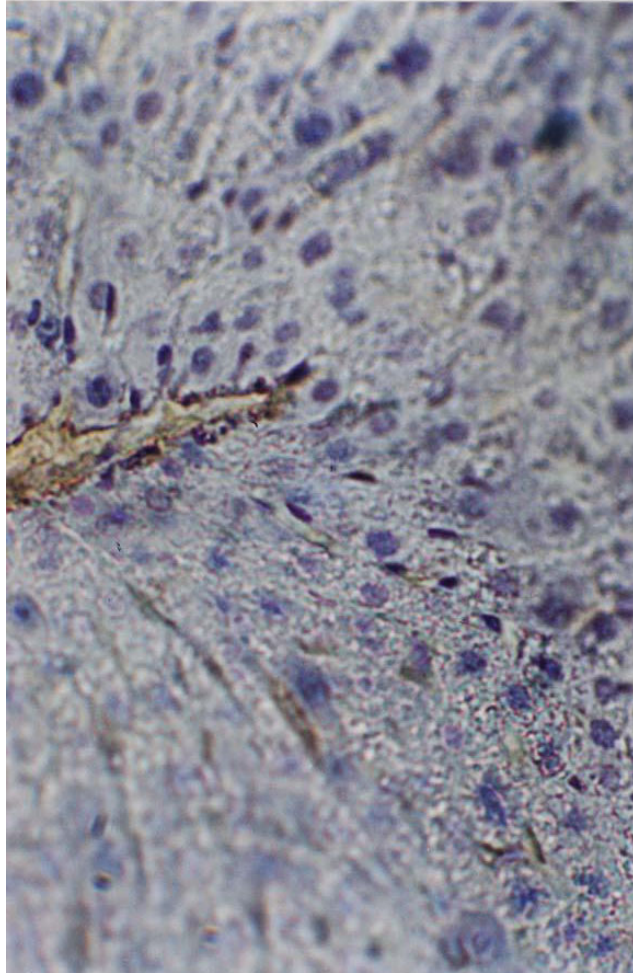
სურ. 6. ვირთაგვას ღვიძლის ქსოვილის ნიმუში.

ცილა P-53-ის სუპრესორის მკაფიოდ გამოხატული ექსპრესია სინუსოიდების კედლის ენდოთელურ უჯრედებში და მაკროფაგებში. პარაფინის ანათალი.

იმუნოპეროქსიდაციური მეთოდი. X700

ექსპერიმენტებში პლაფერონ ლბ-ს რადიოპროტექტორის როლში გამოყენების დროს გამოვლენილია აპოპტოზის სტადიაში მყოფი უჯრედების მცირე რაოდენობა, ვიდრე C ვიტამინის შემთხვევაში; ღვიძლის წილების საერთო სურათი შეუცვლელია (სურათი 7, 8), შენარჩუნებულია, წილების ძელისებური აგებულება, დამახასიათებელი ჰეპატოციტების ორიენტაციისათვის. პლაფერონ ლბ-ს ზემოქმედების ფონზე მნიშვნელოვნად მცირდება აპოპტოზის მარკერის, ცილა p53-ის ექსპრესია. ღვიძლის წილების სტრუქტურის ნორმალიზაცია, ნეკროზის და ჰომოგენიზაციის კერების მკვეთრი შემცირება და პროაპოპტოზური ცილა p53-ის ექსპრესიის შეზღუდვა

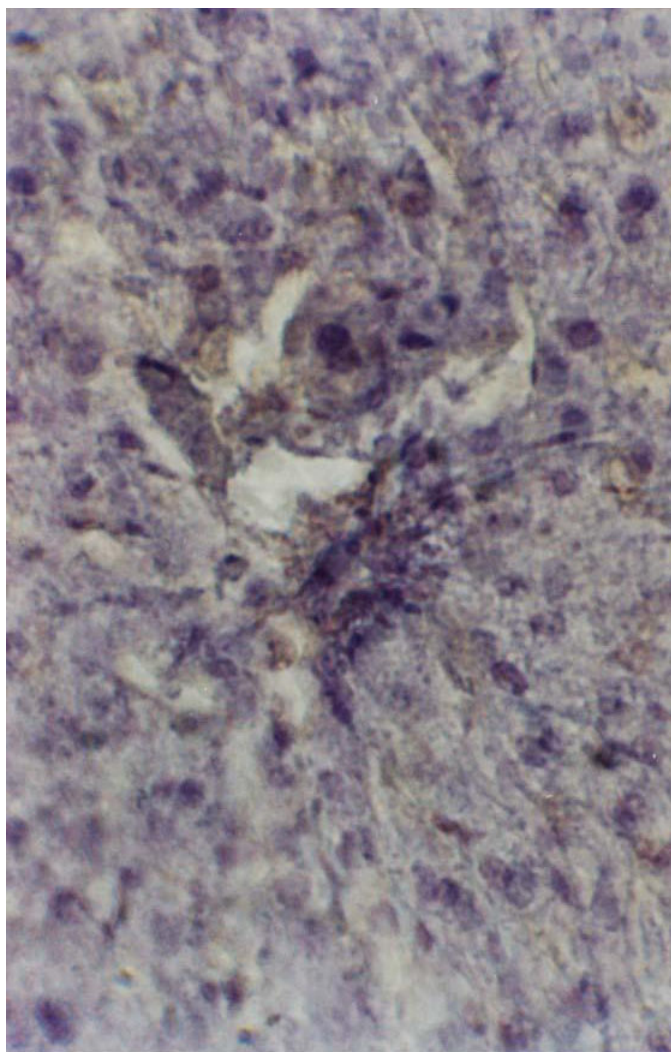
პლაფერონ ლბ-ს γ -რადიაციული დაზიანების დროს დაცვითი მოქმედების შესახებ მეტყველებს.



სურ. 7. ვირთაგვას ღვიძლის ქსოვილის ნიმუში.

ცილა P-53-ის სუპრესორის ზომიერი ექსპრესია ცენტრალური ვენის კედლის ენდოთელურ უჯრედებში. ვენის ირგვლივ ჰომოგენიზაციის და ნეკროზის კერაში რეაქცია უარყოფითია.

პარაფინის ანათალი. იმუნოპეროქსიდაციური მეთოდი. X700



სურ. 8. ვირთაგვას ღვიძლის ქსოვილის ნიმუში.
ცილა P-53-ის სუპრესორის სუსტი ექსპრესია სინუსოიდის კედლის
ენდოთელურ უჯრედებში. პარაფინის ანათალი.
იმუნოპეროქსიდაციური მეთოდი. X700

თავი IV

მიღებული შედეგების განსჯა

როგორც ცნობილია, რადიო- და ქიმიოთერაპიის შესაძლებლობები
შეზღუდულია იმ მძიმე გართულებებით, რომლებიც დაკავშირებულია რადიო-
მგრძობიარე ქსოვილების დაზიანებასთან. დაგროვებული ექსპერიმენტული

მონაცემების ანალიზიდან გამომდინარეობს, რომ γ -დასხივების დროს რადიომგრძობიარე ორგანოების უჯრედების სწრაფი სიკვდილის მიზეზს ცილა p-53-ზე დამოკიდებული აპოპტოზის განვითარება წარმოადგენს (Assaad W, 2003). არსებობს მოსაზრება, რომ რადიაციანიდუცირებული სტრესის განვითარების პირველი საათების განმავლობაში ცილა p-53-ის ფუნქციონირების დათრგუნვა, შესაძლოა, შეამცირებს ნორმალური ქსოვილების დაზიანებას რადიოთერაპიის დროს. სწორედ ასეთი ანტიაპოპტოზური მოქმედების მქონე პრეპარატების გამოვლინებას ეძღვნება ჩვენი ნაშრომი. როგორც უკვე აღვნიშნეთ, ჩვენს მიზანს შეადგენდა პლაფერონ ლბ-ს რადიოპროტექტორული ეფექტის დადგენა ერთჯერადი ძლიერი რადიაციული დასხივების დროს.

უჯრედებზე რადიაციული ზემოქმედების დროს მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება ბიოლოგიური მემბრანების ჟანგვით დაზიანებას, რომელიც ხორციელდება მაიონიზირებელი რადიაციის მიერ გენერირებული ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების მეშვეობით.

ჩვენი კვლევების შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ γ -დასხივებული (დოზით 6 Gr) ვირთაგვების სისხლში დასხივებიდან 1 და 24 საათის შემდეგ მკვეთრად იზრდება სუპეროქსიდრადიკალების (O_2^-) და ლიპოპეროქსიდების ($LOO\cdot$) შემცველობა, რაც მათი სპინ-მონიშნული ეპრ სიგნალების მომატებით ვლინდება და თავისუფალრადიკალური ჟანგვის პროცესების ინტენსიფიკაციის შესახებ მეტყველებს (ცხრილი 3, დიაგრამა 3). შესაბამისად, იცვლება სისხლის ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობა. კატალაზას აქტივობა დასხივებიდან ერთი საათის შემდეგ 71%-ით, ხოლო 24 საათის შემდეგ – 96%-ით მცირდება; სუპეროქსიდდისმუტაზას და გლუტათიონრედუქტაზას აქტივობა კი იზრდება და დაკვირვების დაწყებიდან 24 საათისათვის შეადგენენ საკონტროლო მაჩვენებლების, შესაბამისად, 166% და 160%-ს შეადგენს (ცხრილი 1, დიაგრამა 1). მკვეთრად იზრდება დაჟანგული ცერულოპლაზმინის და მცირდება Fe^{3+} -ტრანსფერინის შემცველობა. ეს მონაცემები მეტყველებენ რადიაციული ზემოქმედების დროს ორგანიზმში პრო- და ანტიოქსიდანტურ სისტემებს შორის დისბალანსის განვითარების შესახებ.

დასხივებული ცხოველების სისხლის ეპრ სპექტრში დასხივებიდან 1 და 24 საათის შემდეგ ვლინდება Mn^{2+} -შემცველი კომპლექსების ინტენსიური ეპრ სიგნალები, რაც

ლიპოპეროქსიდების (LOO·) ეპრ სიგნალის გამოჩენასთან ერთად მემბრანული სტრუქტურების დაზიანებაზე მიუთითებს.

ვირთაგვების γ -დასხივების შემდგომი უჯრედული მემბრანების დაზიანება ვრცელდება ერთროციტებზეც. რადიაციული გამოსხივების ზემოქმედების შემდეგ ვირთაგვების სისხლში ჩვენს მიერ გამოვლენილია ერთროციტების დეფორმაბელობის უნარის შემცირება და მეთჰემოგლობინის დაგროვება: დასხივებიდან ერთი საათის შემდეგ ერთროციტების დეფორმაბელობა 28%-ით მცირდება (ცხრილი 5, დიაგრამა 5), მეთჰემოგლობინის შემცველობა 25%-ით იზრდება; დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ ერთროციტების დეფორმაბელობის მაჩვენებელი მცირდება კიდე 24%-ით, ხოლო სისხლში მეთჰემოგლობინის შემცველობა 135%-ით მატულობს საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით (ცხრილი 6, დიაგრამა 6).

დასხივებული ვირთაგვების ერთროციტული მემბრანების ჟანგვითი დაზიანების შედეგს სისხლში მეთჰემოგლობინის მკვეთრი მომატება წარმოადგენს. მეთჰემოგლობინის დაგროვება სისხლში Fe^{3+} -ტრანსფერინის შემცველობის მკვეთრი შემცირების და ერთროპოეზის დაქვეითების ფონზე ორგანიზმში ჰიპოქსიის განვითარებას და თავისუფალრადიკალური ჟანგვის ინტენსიფიკაციის ახალ პათოგენეზურ რგოლს წარმოადგენს.

როგორც ცნობილია, ცოცხალ ორგანიზმში ქოლესტეროლი მონაწილეობს მრავალ ფიზიოლოგიურ პროცესებში, მათ შორის, განაპირობებს უჯრედული მემბრანების მორფო-ფუნქციურ და პლასტიურ თვისებებს, უზრუნველყოფს მათ სიხისტეს, შერჩევით განვლადობას და ამ გზით ხელს უწყობს უჯრედთა შიგთავსის სტაბილობის შენარჩუნებას. ქოლესტეროლის მონაწილეობა მემბრანების განვლადობის რეგულაციაში ხორციელდება მათი დენადობის და მემბრანული პოტენციალის ცვლილების მეშვეობით (Крылов В.И. и др., 1985). დადგენილია, რომ მემბრანული ლიპიდების რადიაცია-ინდუცირებული დაზიანების დროს ადგილი აქვს ქოლესტეროლის სტრუქტურულ ცვლილებებს, ხოლო დაზიანების ხარისხი დამოკიდებულია ამ აგენტების კონცენტრაციაზე (Mishra K.P., 2004).

ჩვენს მიერ გამოვლენილი დასხივებული ცხოველების სისხლის პლაზმაში საერთო ქოლესტეროლის შემცველობის მკვეთრი მომატება (ცხრილი 4, დიაგრამა 4), ლიპოლიზის გაძლიერების და ამ ნაერთის მემბრანებიდან გაძლიერებული

განთავისუფლების შედეგს წარმოადგენს. ქოლესტეროლის მემბრანული სტრუქტურებიდან განთავისუფლება განპირობებული შეიძლება იყოს მემბრანების ლიპიდების პეროქსიდაციური პროცესების ინიციაციით, მათი ლიპიდო-ცილოვანი მატრიქსის სტრუქტურული ცვლილებებით, ქოლესტეროლსა და მემბრანის სხვა კომპონენტებს შორის კავშირების შესუსტებით ან დარღვევით.

ერიტროციტების მემბრანებში ქოლესტეროლის შემცველობის შემცირება განაპირობებს მათ სიხისტეს და დენადობის დაქვეითებას, სისხლის უჯრედების დეფორმაბელობისა და რეზისტენტობის შემცირებას.

მამასადამე, ჩვენი შედეგების ანალიზის საფუძველზე შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ რადიაციული დაზიანებისათვის დამახასიათებელი თავისუფალრადიკალური ჟანგვის პროცესების ინტენსიფიკაცია ორგანიზმში ლიპოლიზის აქტივაციას და ერიტროციტების ფუნქციებისა და სტრუქტურის შეცვლას განაპირობებს, რაც მათი დეფორმაბელობის დაქვეითებით და მეთემოგლობინის დაგროვებით ვლინდება.

ღვიძლი – ორგანიზმის მრავალფუნქციური ორგანოა, რომელიც ორგანიზმში მეტაბოლიზმის საკვანძო რგოლებს არეგულირებს. ჰეპატოციტების მეტაბოლიზმის დარღვევა ლიპიდური ცვლის, ცილების სინთეზის, დეტოქსიკაციური და მრავალი სხვა პროცესების მოშლას განაპირობებს. ამის გარდა, ჰეპატოციტები შეიცავენ რკინას დიდი რაოდენობით და მათი დაზიანება ორგანიზმში რკინის იონების მიერ ინიცირებული თავისუფალრადიკალური ჟანგვის ინტენსიფიკაციის საშიშროებას ქმნის.

სხვა ქსოვილებთან შედარებით ღვიძლი რადიორეზისტენტური ორგანოა. მას არ ახასიათებს განსაკუთრებული მაღალი მგრძობელობა რადიაციული დასხივების მიმართ. ჩვენი კვლევების შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ ვირთაგვების რადიაციული დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ ღვიძლის ქსოვილში ადგილი აქვს ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის ზომიერ ინტენსიფიკაციას, რაც ღვიძლის ეპრ სპექტრში ლიპოპეროქსიდების (LOO·) და Mn^{2+} იონების დაბალი ინტენსივობის ეპრ სიგნალების გამოჩენით ვლინდება; ადგილი აქვს ციტოქრომ P-450-ზე დამოკიდებული დეტოქსიკაციური პროცესების ინტენსიფიკაციას, რაც ფერიციტოქრომ P-450-ის ეპრ სიგნალის შემცირებას განაპირობებს. დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ ღვიძლის ეპრ სპექტრში იზრდება (LOO·) და Mn^{2+} იონების ეპრ სიგნალების ინტენსივობა, ადგილი აქვს მიტოქონდრიული ელექტრონების სატრანსპორტო ჯაჭვში ელექტრონების

ტრანსპორტის დარღვევას NADH:უბიქინონ-ოქსიდორედუქტაზულ უბანზე (რაც უბისემიქინონების დაგროვებით და აღდგენილი NADH-დეჰიდროგენაზას მომატებით ვლინდება) (ცხრილი 7, დიაგრამა 7). ანუ, მიღებული შედეგების ანალიზიდან გამომდინარეობს, რომ ჰეპატოციტების პირველადი დაზიანება წარმოადგენს პოსტრადიაციული ოქსიდაციური სტრესის განვითარების შედეგს, რომელიც ლიპოპეროქსიდაციის ჯაჭვური რეაქციების ინიციაციას და ჰეპატოციტების მემბრანების დაზიანებას განაპირობებს. Lლიპოპეროქსიდების მიერ ინიცირებული ჯაჭვური რეაქციის ინტენსიფიკაციის შედეგად ღრმავდება ჰეპატოციტების დაზიანების ხარისხი. დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ სახეზეა მიტოქონდრიული და მიკროსომული ელექტრონების სატრანსპორტო ჯაჭვების დარღვევა. აღსანიშნავია, რომ წარმოქმნილი NADH: უბიქინონ-ოქსიდორედუქტაზა კომპლექსი თვით სუპეროქსიდრადიკალების მძლავრ გენერატორს წარმოადგენს. ჰეპატოციტების დაზიანების შედეგად რკინის დეპოდან უჯრდთაშორისო არეში განთავისუფლებული რკინის იონები თავისუფაკრადიკალური ჟანგვის ინტენსიფიკაციის დამატებით წყაროს წარმოადგენს.

მაშასადამე, ორგანიზმის რადიაციანიდუცირებული დაზიანების პათოგენეზში ჟანგბადის თავისუფალ რადიკალებს მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება. უჯრედების პოსტრადიაციული საპასუხო რეაქცია ვლინდება ანტოქსიდაციური დაცვის სისტემის აქტივობის ცვლილებებით, რაც მრავალი ლიტერატურული მონაცემებით მტკიცდება (Biaglow J.E., et al., 2003, Guo G., et al., 2003, Ustinova A.a., Riabinin V.E., 2003). რადიაციული ზემოქმედების დროს ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების სიჭარბით განპირობებული მემბრანული სტრუქტურების დაზიანება უჯრედული მეტაბოლიზმის დარღვევას ჰომეოსტასის მოშლას და ოქსიდაციური სტრესის განვითარებას განაპირობებს. ჰეპატოციტების γ -ინდუცირებული დაზიანების პროგრესირებაში რადიაციანიდუცირებული თავისუფალრადიკალურ ჯაჭვურ პროცესებს მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება.

რადიაცია-ინდუცირებული დაზიანების პათოგენეზში აზოტის ჟანგს მნიშვნელოვანი როლი ნიჭება (Lestaevel P. et al., 2003). ნაჩვენები იქნა, რომ რადიაციული ზემოქმედების დროს NO-ს შეუძლია როგორც რადიოპროტექციის, ასევე რადიოტოქსიურობის გამოვლინება, რაც განპირობებულია ამ მოლეკულის მაღალი

რეაქციულობით. NO-ს მოქმედების ხასიათი დამოკიდებულია ორგანიზმის რედოქს-სტატუსზე.

ჩვენი კვლევების შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ სისხლში და ღვიძლში თავისუფალი აზოტის ჟანგის შემცველობა მკვეთრად მცირდება (სურათი 8, ცხრილი 8), რაც განპირობებული შეიძლება იყოს სუპეროქსიდ-რადიკალთან ინტენსიური ურთიერთქმედების შედეგად მისი პეროქსინიტრიტად ტრანსფორმაციით. შემდგომში, დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ, სისხლის აზოტის ჟანგის შემცველობა იწყებს მომატებას, რაც განპირობებული შეიძლება იყოს ჟანგვითი სტრესის მიერ ინდუცირებული NO-სინთაზას გაძლიერებული ექსპრესიით. ამ დროს ღვიძლის ეპრ სპექტრში ჰემური და არაჰემური რკინის ნიტროზილირებული კომპლექსების ინტენსიური ეპრ სიგნალები ვლინდება, რაც აზოტის ჟანგის გაძლიერებული პროდუქციის შედეგს წარმოადგენს.

აზოტის ჟანგი – უმნიშვნელოვანესი ბიოლოგიური მოლეკულაა, რომელიც მონაწილეობს მრავალი ბიოლოგიური პროცესების რეგულაციაში, იმუნური პასუხის, ციტოტოქსიურობის, ნეიროტრანსმისიის და ვაზოდილატაციის ჩათვლით (Aloni-Grinstein R. et al., 1995). N NO-ს მონაწილეობით მიმდინარე ბიოლოგიური რეაქციებს შორის აღსანიშნავია დნმ-ის დაზიანება (Christersson L.A., et al., 1987, Comayras C.C., et al., 1997, Cortes0Bratti X., et al., 2001). NO-ს მაღალი კონცენტრაციები იწვევენ დეზოქსინუკლეოტიდების დეამინირებას (Christersson L.A., et al., 1987) და მუტაციების განვითარებას (Dulie V., et al., 1994). NO-ინდუცირებული დნმ-ის დაზიანება მიმდინარეობს სხვადასხვა მექანიზმების მეშვეობით ნიტროზილური დეამინირების (Wink D.A., et al., 1991), დნმ-ის ძაფის გაწყვეტის (Gorsdorf S., AppelK.E., Engholm C., Obe G. Carcinogenesis., 1990) და პეროქსინიტრიტით ინდუცირებული ჟანგვითი დაზიანების ჩათვლით (Beckman J.S., et al., 1994). NOOაგრეთვე მონაწილეობს სიმსივნურ უჯრედებში ციტოკინ- და აქტივირებული მაკროფაგების მიერ ინდუცირებული აპოპტოზის განვითარებაში (Dyson N.P., et al., 1989).

როგორც წესი, UF-, მაიონიზირებელი გამოსხივების და ზოგიერთი ეგზოგენური მუტაგენებით ინიცირებული დნმ-ის დაზიანება და დნმ-ის ჯაჭვის გაწყვეტა ხორციელდება ცილა p53-ის მონაწილეობით (Hartwell L.H., et al., 1989). ცილა p53-ის აქტივაცია რეგულირდება პოსტტრანსლაციურ დონეზე. სტრესორული ზემოქმედების

შედეგად ადგილი აქვს ცილა p53-ის სტაბილიზაციას და დაგროვებას ბირთვში, სადაც ის DNA-ს სპეციფიური მონაკვეთებთან შეკავშირების შედეგად რიგი p53-რეგულირებადი გენების (p21/Waf-1, 14-3-3-σ, *bax*, და ა.შ.) ტრანსკრიფციას ამოდულირებს. ცილა p53 ააქტივებს ზრდის მარეგულირებელ გენებს, მაგალითად, p21WAF-1/Cip1, GADD45, ციკლინ G-ს, რაც იწვევს უჯრედის ციკლის არესტს G1 ფაზაში (Forrester K., et al., 1996, Kastan M.B., et al., 1994), აპოპტოზის განვითარებაში მონაწილე გენების, მაგალითად, *bax*, ტრანსკრიფციას. ამის გარდა p53-ს შეუძლია დნმ-ის რეპარაციულ სისტემასთან ურთიერთქმედება, დაზიანებული დნმ-ის რეპარაცია, ან უჯრედების აპოპტოზის რეგულაცია (Clarke A.R., 1993, Lane D.P., 1992). NO-ს ინდუციბელური იზოფორმა (iNOS) წარმოქმნის NO-ს მაღალ კონცენტრაციებს, ოქსიდაციური სტრესის და პროანთებითი ციტოკინების ზემოქმედებით პოტენციურად უზრუნველყოფს ციტოტოქსიურობას, დნმ-ის დაზიანებას და ქსოვილის დესტრუქციას. ნაჩვენებია, რომ NO-ს შეუძლია p53 –ს ექსპრესიის და აპოპტოზის განვითარების ინიციაცია, რაც მეტყველებს იმის შესახებ, რომ NO-ინდუცირებული აპოპტოზი მიმდინარეობს დნმ-ის დაზიანებით და p53–ს აკუმულაციის გზით (Mesmer U.K., et al., 1994). p53-ის პროაპოპტოზური ტრანსკრიპციული აქტივობის მომატება ხორციელდება NH₂Fტერმინალის სერინ 15-ის NO-ინდუცირებული ფოსფორილირების გზით, რომელიც ხორციელდება დნმ-დამოკიდებული პროტეინკინაზას და p38 მიტოგენ აქტივირებული პროტეინკინაზას სტიმულაციის მეშვეობით (Abraham J, et al., 1999; Brooks CL, Gu W ., 2003, Schneiderhan N, et al., 2003, Unger T, et al., 1999). Forrester K. და თანაავტორებმა აჩვენეს, რომ p53 ასრულებს მნიშვნელოვან როლს iNOS გენის ექსპრესიის და, მაშასადამე, NO-ს პოტენციურად მუტაგენური და კანცეროგენური აქტივობის რეგულაციაში p53 მნიშვნელოვან როლს ასრულებს გენომის შენარჩუნების პროცესში.

ჟანგბადის რეაქციული ნაერთებს, აგრეთვე, მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება p53 – დამოკიდებული აპოპტოზის ინიციაციაში (Li P.-F., et al., 1999).

γ--დასხივებული ვირთაგვების ღვიძლში დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ პარენქიმის შესწავლილ უბნებში ექსტრა- და შეგაუჯრედოვანი შეშუპების ფონზე გვხვდება ჰეპატოციტები დისტროფიის სხვადასხვა სტადიაზე. ზოგიერთ მათგანში,

განსაკუთრებით ცენტრალური ვენების ირგვლივ გამოვლენილია ნეკრობიოტური ცვლილებები ნეკროზის ჩათვლით.

ჰეპატოციტები მიეკუთვნებიან უჯრედების სტაბილურ პოპულაციას, შედარებით დაბალი პროლიფერაციული აქტივობით. ამის გამო γ -დასხივების ზემოქმედების დროს ღვიძლის ქსოვილში p53-დამოკიდებული აპოპტოზი არ ატარებს მასიურ ხასიათს, როგორც რადიომგრძობიარე ორგანოებში. თუმცა, განსაზღვრული რაოდენობის ჰეპატოციტების და მეზენციალური წარმოშობის უჯრედების, მაკროფაგების, ბირთვებში ექსპრესირდება ცილა p53. დასხივებული ვირთაგვების ღვიძლის ცენტრალური ვენის კედელში, კერძოდ, ინტიმაში, გამოვლენილია ცილა p53-ის სუსტი ექსპრესია; მაკროფაგებში (კუპფერის უჯრედებში) პროაპოპტოზური ცილა p53-ის ექსპრესია გაძლიერებულია (სურათი 1). უჯრედების ზომები გაზრდილია, ყველგან აღინიშნება ცილა p53-ის ექსპრესია (სურათი 2). აღსანიშნავია, რომ p53-ის ექსპრესიის სიხშირე იზრდებოდა ღვიძლის ცენტრალობულარული წილიდან პრეპორტალურ ზონამდე. ზოგიერთ ჰეპატოციტებში გამოვლენილია აპოპტოზური სხეულაკები, რაც მეტყველებს უჯრედის ბირთვის ფრაგმენტაციის შესახებ (სურათი 3). ნეკროზის და ჰეპატოციტების ჰომოგენიზაციის კერებში პროაპოპტოზური ცილის p53-ის ექსპრესია იყო უარყოფითი.

მაშასადამე, როგორც ჩვენი კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, დასხივებული ვირთაგვების ჰეპატოციტებში ოქსიდაციური სტრესის და აზოტის ჟანგის სინთეზის ინტენსიფიკაცია განაპირობებს ცილა p53-ის გაძლიერებულ ექსპრესიას, ღვიძლის ქსოვილში აპოპტოზის და ნეკროზის ინტენსიფიკაციას.

ზემოთქმულიდან გამომდინარე, ქსოვილების რადიაციული დაზიანების დროს აპოპტოზის ინჰიბიციის მიზნით მიზამშეწონილია ანტიოქსიდანტური, NO-მამოდულირებელი აქტივობის მქონე პრეპარატების გამოყენება. ჩვენ შევისწავლეთ საყოველთაოდ მიღებული რადიოპროტექტორის, C ვიტამინის და პლაფერონ ლბ-ს პრევენციული და პოსტრადიაციული დაცვითი ეფექტები.

ჩვენი კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ C ვიტამინი თავისი ანტიოქსიდანტური აქტივობის გამო თუმცა ხელს უწყობს კატალაზას, გლუტათიონრედუქტაზას და ცერულოპლაზმინის აქტივობის აღდგენას, მაგრამ სისხლში სუპეროქსიდების და ლიპოპეროქსიდების მაღალი შემცველობის ფონზე ვერ

უზრუნველყოფს სოდ-ის აქტივობის და Fe^{3+} -ტრანსფერინის შემცველობის ნორმალიზაციას. პლაფერონი ლბ-ს როგორც წინასწარმა, ასევე პოსტრადიაციულმა გამოყენებამ განაპირობა კატალაზას, სოდ-ის, გრ-ს აქტივობის სტაბილიზაცია, ცერულოპლაზმინის აქტივობის აღდგენა და Fe^{3+} -ტრანსფერინის დონის მომატება დასხივებული ცხოველების სისხლში. პლაფერონ ლბ-ს Fe^{3+} -ტრანსფერინის Eშემცველობაზე მასტიმულირებული მოქმედება გამოვლენილი იყო ადრინდელ კვლევებშიც თირკმლის ლიპოტრიპსის და ვირუსული B ჰეპატიტის დროს (Pavliashvili D., et al., 2000, Chavchanidze D., et al., 2001). როგორც ცნობილია, ტრანსფერინის ექსპრესია რეგულირდება HIF-1 α -ს (hipocsia inducible factor) მიერ ინდუცირებული IRP (airon responsive protein) და IRE (iron responsive element) შორის ურთიერთქმედებით, რომელიც ტრანსფერინის გენის ექსპრესიის აქტივაციას განაპირობებს. ამ პროცესის ინდუქცია NO-დამოკიდებული მექანიზმით ხორციელდება. დადგენილია, რომ ოქსიდაციური სტრესის პირობებში NO-ს პეროქსინიტრიტად რედოქს-დამოკიდებული ტრანსფორმაციის შედეგად ადგილი აქვს ციტოზოლური აკონიტაზას ნიტროზილირებას, რომელიც IRE-ად გარდაიქმნება. აქედან ნათლად ჩანს, რომ პლაფერონ ლბ-ს Fe^{3+} -ტრანსფერინზე მასტიმულირებელი მოქმედება განპირობებულია ამ პრეპარატის ორგანიზმის ჟანგვითი ჰომეოსტაზის და NO-ს აქტივობის რეგულაციით. პლაფერონ ლბ-ს პრევენციული გამოყენების შედეგებით მაღალი ეფექტურობა განპირობებული შეიძლება იყოს პრეპარატის გამოყენებით შედეგებით ხანგრძლივი დროის განმავლობაში (5 დღე).

რადიაცია-ინდუცირებული დაზიანების დროს ვიტამინ C და პლაფერონ ლბ-თი პრე- და პოსტრადიაციული გამოყენების პირობებში ჟანგბადის, ლიპიდების, და აზოტის ჟანგის თავისუფალი რადიკალების შემცველობა მცირდება საკონტროლო...ჯგუფის შესაბამის მაჩვენებლებთან შედარებით. შესაბამისად, მცირდება ერითროციტების ოქსიდაციური დაზიანების ხარისხი, რაც ვლინდება ბიოლოგიური მემბრანების ლიპიდური მატრიქსის ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების მიერ ინდუცირებული სტრუქტურული დარღვევების შემცირებით და ერითროციტების დეფორმაბელობის უნარის მომატებით საკონტროლო მაჩვენებლების დონემდე. ერითროციტების დეფორმაბელობის უნარის შენარჩუნება სისხლის რეოლოგიური თვისებების ნორმალიზაციას უწყობს ხელს. აღსანიშნავია, რომ თხევადი

არეების ძლიერი ანტიოქსიდანტი, ვიტამინი C, თუმცა ზრდის ერითროციტების დეფორმაბელობის ხარისხს, ვერ უზრუნველყოფს ერითროციტების ჰემოლიზისაგან დაცვას, რაც მეთჰემოგლობინის მაღალი შემცველობით ვლინდება. პლაფერონ ლბ-ს ზემოქმედებით მცირდება ერითროციტების ჰემოლიზის ხარისხი, რაც ამ პრეპარატის ზემოქმედებით უჯრედების მემბრანების სტაბილიზაციის შედეგს წარმოადგენს.

აღსანიშნავია, რომ ერითროციტების დეფორმაბელობაზე გამოყენებული რადიოპროტექტორების დადებითი ზემოქმედების მიუხედავად, სისხლის პლაზმაში ქოლესტეროლის და ტრიგლიცერიდების დონე მაღალი რჩება. ეს მონაცემები საშუალებას გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ ჩვენს ექსპერიმენტებში ქოლესტეროლის მომატების ძირითად მიზეზს არა ერითროციტების მემბრანების დაზიანება, არამედ, მთელი ორგანიზმის დონეზე ლიპიდური ცვლის დარღვევა წარმოადგენს, რაც რადიაციანდუცირებული ჟანგვითი სტრესის პირობებში ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის დარღვევით და ლიპოლიზის ინტენსიფიკაციითაა განპირობებული.

C ვიტამინის და პლაფერონ ლბ-ს პრევენციული ზემოქმედების დროს დასხივებული ცხოველების სისხლში თავისუფალი NO-ს შემცველობა იზრდება საკონტროლო მაჩვენებლის დონემდე. C ვიტამინის პოსტრადიაციული შეყვანა აღმოჩნდა არაეფექტური; პლაფერონ ლბ-ს პოსტრადიაციული ზემოქმედების ფონზე თავისუფალი NO-ს შემცველობა სტატისტიკურად სარწმუნოდ მატულობს. ვვარაუდობთ, რომ პლაფერონ ლბ-ს ასეთი მოქმედების მექანიზმი მდგომარეობს არა NO-ს პეროქსინიტრიტად რედოქს-დამოკიდებული ტრანსფორმაციის პრევენციაში (რასაც ადგილი აქვს C ვიტამინის შემთხვევაში), არამედ განპირობებულია ამ პრეპარატის NO-ს სინთეზზე მამოდულირებელი მოქმედებით, შესაძლოა ბირთვული ფაქტორების და გენების რეგულაციის დონეზე, რასაც პრეპარატის გარშემო ჩატარებული მრავალი კვლევები ადასტურებს (Gongadze M. et al., 2001, Нозадзе Л. и др., 2005; Насрашвили М.И. и др., 2005).

ღვიძლის ქსოვილში პლაფერონ ლბ-ს წინასწარი და პოსტრადიაციული ზემოქმედების პირობებში ადგილი აქვს მიტოქონდრიული ელექტრონების სატრანსპორტო ჯაჭვის აღდგენას, აზოტის ჟანგის მეტაბოლიზმის კორექციას და მისი შემცველობის შენარჩუნებას საკონტროლო მაჩვენებლების დონეზე (ცხრილი 6, დიაგრამა 6). ეს განპირობებული უნდა იყოს, პირველ რიგში, პრეპარატის

ანტიოქსიდანტური, მემბრანამასტაბილიზირებელი თვისებებით (Бахутაშვილი З.В. и др., 2004; Мегრელაძე И.И. и др., 2004; Джавахиშვილი Г. и др., 2001; Саралиძე М.А., и др., 2005). დასხივებიდან 1 საათის შემდეგ ჟანგვითი მეტაბოლიზმის კორექციის გზით პლაფერონ ლბ ამცირებს ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების პოსტრადიაციული წარმოქმნის ინტენსივობას და აზოტის ჟანგის პეროქსინიტრიტად ტრანსფორმაციის პრევენციას უზრუნველყოფს. დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ პლაფერონ ლბ ზღუდავს პოსტრადიაციული ოქსიდაციური სტრესით და სხვა ფაქტორებით ინდუცირებული iNOS-ის გაძლიერებულ ექსპრესიას და ხელს უწყობს ღვიძლის ქსოვილში მისი შემცველობის შემცირებას (Мегრელაძე И.И. и др., 2004; Джавахиშვილი Г. и др., 2001; Gongadze M. et al., 2002). ამ ფაქტს დიდი მნიშვნელობა ენიჭება, ვინაიდან NO მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ქსოვილების რადიომგრძნობელობის მომატების დროს. როგორც ცნობილია, ცილა p-53-ის პროაპოპტოზური ტრანსკრიპციული აქტივაცია განაპირობებულია NO- ინდუცირებული დნმ-დამოკიდებული პროტეინკინაზას და p38 მიტოგენაქტივირებული პროტეინკინაზას აქტივაციით და 15 в NH₂ ტერმინალის ფოსფორილირებით (Abraham J, et al., Brooks CL, Gu W., 2003, Schneiderhan N, et al., 2003, Unger T, et al., 1999).

ექსპერიმენტებში C ვიტამინის გამოყენების დროს გამოვლენილია ცილა p53-ის მკვეთრად გამოხატული ექსპრესია მაკროფაგებში და სისხლძარღვების კედლების უჯრედებში, ენდოთელიოციტებში (სურათი 5). ცილა p-53-ის ექსპრესირებულ ენდოთელიოციტებში მკვეთრად ჩანს ბირთვების შექმუხნვა. მაკროფაგებში ცილა p53-ის ჩართვის ინტენსივობა ნაკლებია (სურათი 5, 6). ანუ C ვიტამინის რადიოპროტექტორის როლში გამოყენება არ იწვევს ცილა p53-ის სუპრესიას.

ექსპერიმენტებში პლაფერონ ლბ-ს რადიოპროტექტორის როლში გამოყენების დროს გამოვლენილია აპოპტოზის სტადიაში მყოფი უჯრედების მცირე რაოდენობა, ვიდრე C ვიტამინის შემთხვევაში; ღვიძლის წილების საერთო სურათი შეუცვლელია (სურათი 7, 8), შენარჩუნებულია წილების ძელისებური აგებულება, დამახასიათებელი ჰეპატოციტების ორიენტაციისათვის. პლაფერონ ლბ-ს ზემოქმედების ფონზე მნიშვნელოვნად მცირდება აპოპტოზის მარკერის, ცილა p53-ის ექსპრესია. ღვიძლის წილების სტრუქტურის ნორმალიზაცია, ნეკროზის და ჰომოგენიზაციის კერების მკვეთრი შემცირება და პროაპოპტოზური ცილა p53-ის ექსპრესიის შეზღუდვა

პლაფერონ ლბ-ს γ -რადიაციული დაზიანების დროს დაცვითი მოქმედების შესახებ მეტყველებს.

მაშასადამე, ჩენი კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ γ -ინდუცირებული დაზიანების დროს ოქსიგენ- ნიტროგენული სტრესის ინტენსიფიკაცია ღვიძლის ქსოვილში ცილა p53 დამოკიდებული აპოპტოზის განვითარებას განაპირობებს. პლაფერონ ლბ რადიაციული დასხივებით ინდუცირებული აზოტის ჟანგის ჰიპერპროდუქციის შეზღუდვას, ორგანიზმის რედოქს-ჰომეოსტაზის აღდგენას, NO-ინდუცირებული ცილა p53-ის აქტივაციის და NO-დამოკიდებული p53-ინდუცირებული აპოპტოზის პრევენციას უზრუნველყოფს.

დასკვნები

1. ორგანიზმის რადიაციული ინდუცირებული დაზიანების პირველადი დაზიანების მექანიზმს საფუძვლად უდევს ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების ჭარბი წარმოქმნა და ანტიოქსიდაციური დაცვის სისტემის აქტივობის ცვლილებები. რადიოინდუცირებული თავისუფალრადიკალური ჯაჭვური პროცესები მემბრანული სტრუქტურების დაზიანებას, უჯრედული მეტაბოლიზმის დარღვევას, აზოტის ჟანგის გამლიერებულ წარმოქმნას, ჟანგვითი ჰომეოსტაზის მოშლას, აპოპტოზის და ნეკროზის განვითარებას და γ -ინდუცირებული დაზიანების პროგრესირებას განაპირობებენ.
2. ვირთაგვებზე γ -რადიაციული გამოსხივების ზემოქმედებით ადგილი აქვს ერითროციტების მემბრანებში ლიპიდების პეროქსიდაციური პროცესების ინიციაციას, ქოლესტეროლის განთავისუფლებას, რაც მემბრანული სტრუქტურების სიხისტის და დენადობის დაქვეითებით, სისხლის უჯრედების დეფორმაბელობისა და რეზისტენტობის შემცირებით და მეთემოგლობინის დაგროვებით ვლინდება.
3. ჰეპატოციტების პირველადი (1 საათის შემდეგ) γ -რადიაციული დაზიანება პოსტრადიაციული ოქსიდაციური სტრესის განვითარების შედეგს წარმოადგენს, რომელიც ლიპოპეროქსიდაციის ჯაჭვური რეაქციების ინიციაციით,

ჰეპატოციტების მემბრანების დაზიანებით და ლიპოპეროქსიდების (LOO·) და Mn^{2+} იონების დაგროვებით, ციტოქრომ P-450-ზე დამოკიდებული დეტოქსიკაციური პროცესების ინტენსიფიკაციით ვლინდება.

4. ჰეპატოციტების γ -რადიაციული დაზიანების მე-2 ეტაპზე (დასხივებიდან 24 საათის შემდეგ) ადგილი აქვს Lლიპოპეროქსიდაციის ჟაჭვური რეაქციების ინტენსიფიკაციას, ჰეპატოციტების დაზიანების ხარისხის გაღრმავებას, მიტოქონდრიული ელექტრონების სატრანსპორტო ჯაჭვების მუშაობის დარღვევას NADH:უბიქინონ-ოქსიდორედუქტაზულ უბანზე, რკინის იონების განთავისუფლებას, NO-ს გაძლიერებულ წარმოქმნას და ოქსიგენ-ნიტროგენ-ნული სტრესით ინდუცირებული ცილა p53-დამოკიდებული აპოპტოზის განვითარებას.
5. პლაფრონ ლბ პრე- და პოსტრადიაციული ზემოქმედების დროს უზრუნველყოფს ორგანიზმის რედოქს-ჰომეოსტაზის აღდგენას და NO-ს მეტაბოლიზმის ნორმალიზაციას.
6. პლაფერონ ლბ NO-ინდუცირებული ცილა p53-ის აქტივაციის და NO-დამოკიდებული p53-ინდუცირებული აპოპტოზის პრევენციას უზრუნველყოფს.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. აზიკური გ.შ. პლაფერონ ლბ-ს ცერებრო-პროტექტორული მოქმედება თავის ტვინის ქერქის ლოკალური ინფარქტით გამოწვეულ ქცევით დარღვევებზე. სადისერტაციო მაცნე ბიოლოგიურ მეცნიერებათა კანდიდატის სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი 1997 წელი.
2. კუკულაძე ნ.მ. ახალი სამედიცინო პრეპარატის პლაფერონ ლბ-ს იმუნოლოგიური მოქმედების ზოგიერთი მექანიზმი. სადისერტაციო მაცნე ბიოლოგიის

მეცნიერებათა კანდიდატის სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი 1993 წელი, 23გვ.

3. ქაცარავა ზ.რ. პლაფერონ ლბ-ს გავლენა ფოტოქიმიური თრომბოზის მეთოდით გამოწვეული ცერებრული იშემიური კერის ჩამოყალიბებაზე ექსპერიმენტის პირობებში. სადისერტაციო მაცნე მედიცინის მეცნიერებათა კანდიდატის სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი 1995 წელი, 25გვ
4. რუხაძე რ.გ. ფარისებრი ჯირკვლისა და ზოგიერთი ორგანოს სტრუქტურულ-ფუნქციური თავისებურებანი ჰიპერ- და ჰიპოთირეოზის დროს. სადისერტაციო მაცნე მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორის სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი 1999 წელი, 93გვ.
5. ჩიქოვანი თ.ი. პლაფერონ ლბ-ს იმუნოფარმაკოლოგია. სადისერტაციო მაცნე მედ მეცნ. დოქ. სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი 1997 წელი 90გვ.
6. Адамия Э. Г. Изменение плаферона при хронических заболеваниях печени. Плаферон-Сборник трудов, Изд-во « Мецниереба», 1995, стр.54-57.
7. Адамия Э. Г. Изменение плаферона при хронических заболеваниях печени. Плаферон-Сборник трудов, Изд-во « Мецниереба», 1995, стр.54-57.
8. Бахуташвили А. В. Иммуномодулирующее действие препарата плаферон в эксперименте и клинике. Автореф. дисс.докт. мед.наук, 1991, 38-стр.
9. Бахуташвили З. В., Датунашвили И.В., Саникидзе Т.В., Бахуташвили В.И. Корекция окислительного метаболизма с помощью Плаферона ЛБ при проведении коро-нарного шунтирования миокарда. Georgian Medical News., 2004, N11, стр. 68-72.
10. Галаган М.Е., Киладзе А.Ф., Биофизика., 1997, в.3(42), стр. 687-692.
11. Гибрадзе Т. А., Бахуташвили В. И., Лорткипанидзе Т. Г. Воздействие плаферона на миокард и его кровеносные сосуды при адреналиновом повреждении сердца. Кардиология, 1994, стр. 34, №. 3-4, стр. 42-43.
12. Говорка Е. Плацента человека., Варшава, 1970, 470стр.
13. Гогиташвили К. В. Влияние препарата плаферон на некоторые иммунологические показатели при псориазе. Автореф. дисс.докт.биол.наук, Тбилиси, 1992, 26-стр.
14. Джавахишвили Н. А., Цагарели З.Г., Бахуташвили А. В, Бахуташвили В. И. Влияние плаферона на инфаркт миокарда в эксперименте. Всем. сем. « Актуальные проблемы сердечной недостаточности», Тбилиси, 1989, 115-116.

15. Джавахишвили Н., Цагарели З., Саникидзе Т., и др. Антиоксидантный эффект Плаферона ЛБ во время инфаркта миокарда в эксперименте. экспериментальная и клиническая медицина., 2001б в. 6, стр. 11-14.
16. Квитаишвили Г.И. Влияние плаферона на некоторые клинические, биохимические и иммунологические показатели при остром вирусном гепатите В. Автореф. дисс.докт. мед.наук, Тбилиси, 1991, 22-стр.
17. Клубин И.В., гамалей ИА. Цитология, 1997, 39, стр. 320-340.
18. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токорев В.Е., Лабораторное дело. 1988, N1, стр. 16-19.
19. Макаренко Е.В., Лабораторное дело. 1988, N11, стр. 48-50.
20. Мегреладзе И.И., Шабуршвили Т.Ш., Саникидзе Т.В., Бахуташвили В.И. Влияние иммуномодулятора Плаферона-ЛБ на функциональное состояние ишемизированного миокарда периинфарктной зоны. J. International Immunorehabilitation., 2004,. v. Стр. 54-57.
21. Мерабишвили Д., Автореф. дисс.докт. биол.наук, Тбилиси 1988. Бахуташвили А. В. Иммуномодулирующее действие препарата плаферон в эксперименте и клинике. Автореф. дисс.докт. мед.наук, 1991, 38-стр.
22. Микеладзе Д. Д., Джанашия Н. Н., Джанашвили Ц. А., Бахуташвили В. И., Картозиа Л. Б. Действие Плаферона на основные возбуждающие и тормозные нейротрансмитерные системы мозга. Плаферон-Сборник трудов, Изд-во «Мецниереба », 1995, стр.137-140.
23. Пулатова М.К., Рихирева Г.Т., Куроптьева З.В., Электронный парамагнитный резонанс в биологии и медицине.Москва, 1989.
24. Реутов В.П. Цикл оксида азота в организме млекопитающих и принцип цикличности. Биохимия 2002. т. 67, в. 3, с. 353-376.
25. Савельева Г.М. и др. Плацентарная недостаточность. Москва, Медицина 1991, стр. 270.
26. Саралидзе М.А., Касрашвили М.В., Тхилава Н.Г., Павлиашвили А.Т., Бахуташвили В.И. Плаферон ЛБ как протектор радиационно-индуцированного изменения показателей липидного обмена и степени деформабельности эритроцитов в крови крыс. Georgian Medical News., 2005, N 2, стр. 60-63.
27. Сировский Э.Б., Амчелавский В. Г., Инаури Г. Н., Дадвани Л. Н., Пагава К. И., Бахуташвили В. И. (Применение плаферона у нейрохирургических больных в условиях раннего послеоперационного периода) Плаферон- Сборник трудов, Изд-во «Мецниереба », 1995, стр.110-127.

28. Турпаев К.Т. Активные формы кислорода и регуляция экспрессии генов. Биохимия., 2002, 67, 339-352.
29. Федорова М.В., Калашникова Е.П. Плацента и ее роль при беременности. Москва, Медицина, 1986, 253 стр.
30. Хвадиани Г.Г. Защитный эффект плаферона при острой тепловой ишемии почек. Автореф. дисс.канд.мед.наук, 1990, 21-стр.
31. Ягужинский Л. С., Имедидзе Э.А., Дадвани Л. Н., Бахуташвили В. И. Действие препарата плаферон на энергетику митохондрии. В кн. Плаферон.
32. Abraham J, Spaner D, Benchimol S Phosphorylation of the p53 protein in response to ionizing radiation occurs at multiple sites in both normal and DNA-PK deficient cells. *Oncogene* 1999;18:1521-7.
33. Allen R.G., Oxidative stress and superoxide dismutase in development, aging and gene regulation. *Age.*, 21, 47-76, 1998
34. Allen R.G., Oxygen reactive species and antioxidant responses during development: the metabolic paradox of cellular differentiation *proc Soc. Exp. Biol, Med.*, 1996, 117-129, 1991.
35. Allen R.G., Tressini M. Oxidative stress and gene regulation. *Free radical biology and medicine*, 28, 463-499, 2000.
36. Alnemri E.S., Livingston D.J., Nicholson D.W., et al. Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell*, 1996, 87, 171.
37. Alnemri E.S., Livingston D.J., Nicholson D.W., et al. Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell*, 1996, 87, 171.
38. Aloni-Grinstein R, Schwartz D., Rotter V. Accumulation of wild-type p53 protein upon irradiation induces a G2 arrest-dependent immunoglobulin light chain gene expression. *EMBO J.*, 1995, 14, 1392-1401.
39. Anthony F. W., Wheeler T., Elcock C.L., Pickett M., Thomas E.J. Identification of a specific pattern of vascular endothelial growth factor mRNA expression in human placenta and cultured placental fibroblasts // *Placenta* 1994 Jun;15(5):557-61.
40. Assaad W, Kozhaya L, Araysi S, Panjarian S, Bitar FF, Baz E, El-Sabban ME, Dbaiibo GS. Ceramide and glutathione define two independently regulated pathways of cell death initiated by p53 in Molt-4 leukaemia cells. *Biochem J.* 2003 Dec 15;376(Pt 3):725-32
41. Assreuy J., et al. 1993 *Brit J Pharmacology*, 108, 833-837.
42. Banks R.E., Forbes M.A., Serles J., Pappin D., Canas B., Rahman D., Kaufmann S., Walters C.E., Jackson A., Eves P., Linton G., Keen J., Walker J.J and Selby P.J. Evidence for the

- existence for novel pregnancy associated soluble variant of the vascular endothelial growth factor receptor, FLf-1 // *Molecular Human Reproduction*, Vol. 4,377-386,1998.
43. Beckman J.S., Chen J., Crow J.P., Ye Y.Z. in *Progress in Brain Research.*, ed. Seil., F.J. (Elsevier , Amsterdam). 1994, v. 103, - . 371-380.
 44. Beltran B., Orsi A., Clementi E., Moncada S., *British J. of Pharmacol.* 2000, v. 129, p. 953-960.
 45. Berkowitz R., et al. Effects of activated leukocytes on the growth of malignant trophoblast cells in vitro. *Am J Obstetric and Gynecologic.*, 1988, 158, 199-203.
 46. Bouchier-Hayes L. Martin D.J., CARD games in apoptozis and immunity. *EMBO. Rep.*, 2002, 3, 616-621.
 47. Brooks CL, Gu W Ubiquitination, phosphorylation and acetylation: the molecular basis for p53 regulation. *Curr Opin Cell Biol* 2003;15:164-71.
 48. Carsten U., Henriquesta., Gregory E., Receb, May H. Wongl, Klaus Bendtzenc immunolocaliZation of interleiken-4 and interleiken-4 receptor in placenta and fetal membranes in association with preterm labour andpreclampsia // *Gynecologic and Obstetric Investigation* 46:3:1998, 172-177
 49. Chabot C. et al., *Brain Res Dev* 1996(5) 31 63:b1-2 70-5.
 50. Chardin P., Cammanis J.H., Gale N.W., van Aelst L., et al. Human Sosl: a glutamine nucleotide excluding factor for Ras that binds to GRB2. *Science*, 260. 1338-1343, 1993.
 51. Chavchanidze D., et al., 1998
 52. Cheung CY Vascular endothelial growth factor:possible role in fetal development and placental function(*J Soc Gynecol investing* 1997 Jul-Aug;4:169-77.
 53. Chgen M., Ona V.O., Li M., et al., Minocycline inhibits caspase-1 and caspase-3 expression and delays mortality in a transgenic mouse modelof Huntington diase. *Nat med.* 2000, 797-801, 35-45.
 54. Chichua G., et al., 2001
 55. Choi A.M.K., Pignolo R.J., Rhys C.M.J., Cristofalo V.J., Holbrook N.J. Alternation in the molecular response to RNA damage during cellular aging of cultured fibroblasts: reduced AP-1 activation and collagenase gene expression ., *J. Cell Physiol.*, 164, 65-73, 1995
 56. Christersson L.A., Wikesjo U.M., Albin B., Zambon J.J., Genco R.J., 1987. Tissue localization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontitis. II Correlation between immunodluorescence and culture techniques. *J. Periodontol.*, 1987, 58, 540-545.
 57. Clarke A.R., Pirdie C.A., Harrison D.J., Morris R.G., et al., *Nature*, 1993, 362, 849-852.

58. Comayras C.C., Tasea S.Y., Peres B., Ducommun E., Oswald E., De Rycke J. Escherichia coli cytolethal distending toxin blocks the HeLa cell cycle at the G2/M transition by preventing cdc2protein kinase dephosphorylation and activation. *Infect. Immun.*, 1997, 65, 5088-5095.
59. Conradt B., Horcitz H.R., The C. elegans protein EGL-1 is required for programmed cell death and interacts with the BCl-2 like protein CED-9., 1998, 93, 519-529.
60. Cortes0Bratti X., Karlsson X.C., Lagergard T., Thelestan M., Frisan T. The Haemophilus ducreyi cytolethal distending toxin induces cell-cycle arrest and apoptozis via the DNA damage checkpoint oathways. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276, 5296-5302.
61. Devary Y., Gottlieb R.A., Lau L., Karin M. Rapid and preferential activation of the c-jun gene during the mammalian UV response. *Mol. Cell Biol.*, 11, 2811, 1991.
62. Deveraux Q.L., Schender S.I., Reed J.C., Antiapoptotic proteins: the bcl-2 and inhibition of apoptozis protein families. *Cardiol. Clin.*, 2001, 19, 57-74.
63. Dulie V., Kaufmann W.K., Wilson S.J., Tisty T.D., Lees E., Harper J.W., Elledge S.J., Reed S.I. p53-dependent inhibition of cyclin-dependent kinase activities in human fibroblast suring radiation-induced GI arrest. *Cell.*, 1994, 76, 1013-1023.
64. Dyson N.P., Howley P.M., Munger K., Hariow E. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science.*, 1989, 243, 934-937.
65. Enari M, Sakahira H, Yokoyama H, Okawa K, Iwamatsu A, Nagata S. A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptozis, and its inhibitor ICAD. *Nature* 1998;391:43–50.
66. Faxen M., Nasiell J., Blanck A., Nissel H., Lunell N.O. Altered mRNA expression pattern of placental epidermal growth factor receptor(EGFR) in pregnancies complicated by preclampsia and\or intrauterine geowth redardation. *AM J Perinato* 1998 Jan; 15:9-11.
67. Fisher P., et al., Effects of interferons on differentiation of normal and tumor cells. *Pharmacology and Therapeutics*, 27, 143 -166.
68. Florio P., Lombardo M, ., Gallo R.,Dicarlo C.,Sutton S., Geenazzani A.R., Patraglia F. Activin A, corticotrophin-releasing factor and prostaglandin F2 alpha increase immunoreactive oxitocin release from cultured human placental cells. *placenta* 1996 Jul-Aug. 17:307-11.
69. Forrester K., Ambs S., Lupold S.E., Kapust R.B., Spillare A., et al.Nitric oxide-induced p53 accumulation amd regulation of inducible nitric oxide synthase wxpression by wild-type p53. *Proc. Natl. Acad., Sci.*, 1996, 93, 2442-2447.
70. Freed K.A. et al. Differential expression of type 2,4 and cytosolic PLA2 messenger RNA in human intrauterine tissues at term. *Mol Hum Rep*, 1998, 4,377-386.

71. Gongadze M, et al., 2001, niJaraZe n., da sxv., 2002
72. Gongadze M., Chikovani T., Sanikidze T., Bakhutashvili V. Correction of LPS-induced nitric oxide synthesis. Bulletin of the Georgian Academy of Sciences. Vol. 166, N2, September-October, 2002. p. 311-313.
73. Gross A., McDonnell J.M., Korsmeyer S.J. BCL-2 family members and the mitochondria in apoptosis. Genes Dev., 1999, 13, 1899-1911.
74. Hai T., Wolfgang C.D. et al. Gene Exp. 1999, 7. p. 321-335.
75. Hartwell L.H., Weinert T.A., Checkpoints: controls that ensure the order of cell events., Science., 1989, 246, 629-634.
76. Hayaishio O., Adv. Exp. Med. Biol. 1996, 397, 285-289.
77. Hayashi M., Numaguchi M., Watabe H., Yaoi Y. High blood levels of macrophage colony-stimulating factor in preclampsia. Blood 1996, Dec. 15;88. 4426-4428.
78. Hengartner M.O. The biochemistry of apoptosis. Nature., 2000, 407, 770-776.
79. Hengartner M.O. The biochemistry of apoptosis. Nature., 2000, 407, 770-776., Wang X. The expanding role of mitochondria in apoptosis. Genes Dev., 2001, 15, 2922-2933.
80. Hengartner M.O., Horvitz H.R., C elegans cell survival gene ced-9 encodes a functional homolog of the mammalian proto-oncogene bcl-2. Cell., 1994, 76, 665-676.
81. Hengartner M.O. The biochemistry of apoptosis., Nature, 2000, 407, 770-779.
82. Horvitz H.R. Genetic control of programmed cell death in the nematode *Caenorhabditis elegans*. Cancer Res., 1999, 59, 1701-1706.
83. Jane E., et al. Prostaglandin endoperoxidase synthase mRNA expression in the human amnion and deciduas during and in the amnion at preterm labour. Mol Hum Rep, 1999, 5(2), 182-187.
84. Kandouz M., Gompel A., Therwarth A., Bcl-2 protooncogene, apoptosis and oncogenesis: an overview. Int. J. Oncol., 1996, 9, 536-566.
85. Karin M., Hunter T. Transcription control by protein phosphorylation signal transduction from the cell surface to the nucleus. Curr Biol. 5, 747-757, 1995.
86. Karin M., Liu Z., Zandi E. AP-1 function and regulation. Curr. Opin. Cell Biol. 9, 240-246, 1997.
87. Kastan M.B., Onyekwere O., Sidransky D., Vogelculescu V.E., Canman C.E., Jackman J., Pietenpol J.A., Burrell M., Hill D.E., Wang Y., Wiman K.G., et al., Cancer Res., 1994, 54, 1169-1174.
88. Kenton P., Jonson P. M. Growth factor-induced release of placental alkaline phosphatase from human syncytiotrophoblast membranes. reprod fertile 1994 Jan. 100.71-6.

89. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; **26**: 239–257.
90. Khauma S., Huff T., Krystal G., Ryan J., Tacacs P., Turner T. The expression of stem cell factor and its receptor c-kit in human endometrium and placental tissues during pregnancy. *Clin Endocrinol metab*, 1996, Mar; 81:1261-6.
91. Korsmeyer S.J. et al., Pro-apoptotic cascade activates BID, which oligomerizes BAK or BAX into pores that result in the release of cytochrome c. *Cell death differ.*, 2001, 7. 116.
92. Krammer P.H. CD95's deadly mission in the immune system. *Nature.*, 2000, 407, 789.
93. Kuhn G.G., Palmer T.D., Fuchs E., Adult neurogenesis: a compensatory mechanism for neuronal damage. *Europ. Arch. Psychiatry Clin Neurosci.*, 2001, 251, 152-158.
94. Lane D.P., 1992, *Nature.*, 1992, 358, 15-16.
95. Lazebnik YA, Cole S, Cooke CA, Nelson WG, Earnshaw WC. Nuclear events of apoptosis in vitro in cell-free mitotic extracts: a model system for analysis of the active phase of apoptosis. *J Cell Biol* 1993;123:7–22.
96. Levin B.E., Sullivan A.C. Glucose-induced norepinephrine levels and obesity resistance. *Am. J. Physiol.*, 1987, 253, R475-R481.
97. Li M., na V.O. Chen M., et al. Functional role and therapeutic implications of neuronal caspase-1 and -3 in a mouse model of traumatic signal cord injury. *Neuroscience.*, 2000, 99, 333-342.
98. Li P. –F., Dietz R., von Harddorh R., p-53 regulates mitochondrial membrane potential through reactive oxygen species and induces cytochrom c-independent apoptosis blocked by Bcl-2. *The EMBO J.*, 1999, 21, 6027 – 6036.
99. Li P., Nijhawan D., Budihardjo I., et al., Cytochrome c and dATP-dependent foration of Apaf-1/caspase-0 complex initiates an apoptotic protease cascade., *Cell.*, 1997, 91, 479-489.
100. Liu X, Li P, Widlak P, Zou H, Luo X, Garrard WT, Wang X. The 40-kDa subunit of DNA fragmentation factor induce DNA fragmentation and chromatin condensation during apoptosis. *Proc Natl Acad Sci* 1998;95:8461–8466.
101. Liu X, Zou H, Slaughter C, Wang X. DFF, a heterodimeric protein that functions downstream of caspase-3 to trigger DNA fragmentation during apoptosis. *Cell* 1997;89:175–184.
102. Liu X., Kim C.N., Yang J., Jemmerson R., Wang X. Induction of apoptotic program in cell-free extracts requirement for dATP and cytochrome c. *Cell*, 1996, 86, 147-157.
103. Liu X., Zou H., Slaughter C., Wang X., DFF, a heterodimeric protein that functions downstream of caspase-3 to trigger DNA fragmentation during apoptosis., *Cell.*, 1997, 89, 175-

184.

104. Livingston D.J., Nicholson D.W., et al. Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell*, 1996, 87, 171.
105. Masuyama H., Hiramatsu Y., Kudo T. Effects of epidermal growth factor on placental amino acid transport and regulation of epidermal growth factor receptor expression of hepatocyte in rats. *Perinat med* 1996;24:213-20.
106. Mehmer H. Caspases find a new place to hide. *Nature.*, 2000, 403, 29.
107. Meng F., Lowell C.A., *J. Exp. Med.* 1997, v. 185, p. 1661-1670.
108. Mesmer U.K., Ankarcrone M., Nicotera P., Brune B., 1994, *FEBS let.*, 366, 23-26. Abraham J, Spaner D, Benchimol S Phosphorylation of the p53 protein in response to ionizing radiation occurs at multiple sites in both normal and DNA-PK deficient cells. *Oncogene* 1999;18:1521-7.
109. Meyric B., Magnuson M.A. Identification and functional characterization of the bovine manganese superoxide dismutase promoter. *Am. J. respir. Cell Mol. Biol.*, 10, 114-121, 1994.
110. Miura M., Zhu H., Rocello R., Hartweig E.A., Yuan J. Induction of apoptosis in fibroblasts by IL01b eta-converting enzyme, a mammalian homolog of the *C. elegans* cell death gene *ced-3*. *Cell.*, 1993, 75, 653-660.
111. Morel Y., Barouki R. *Biochem J.*, 1999, 342, P. 481-496.
112. Morrow D., et al. Hematopoietic placental protein 14 an immunosuppressive factor in cells of megakaryocytic lineage. *Biol Reprod* 1994(12), 51:1206-12.
113. Muhlauer J et al. Immunohistochemistry of carbonic anhydrase in human placenta and fetal membranes. *Histochemistry*. 1994. 101[2]: 91-98.
114. Nagata S. et al., Degradation of chromosomal DNA during apoptosis. *Cell Death Differ.* 2003, 10, 108.
115. Nakagawa T. et al. Caspase-12 mediates endoplasmic reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta. *Nature.*, 2000, 403, 98
116. Nijhawan D., et al. Apoptosis in neural development and disease. *Annu. Rev. Neurosci.*, 2000, 23, 75.
117. Oltvai Z.N., Mollman C.L., Korsmeyer S.J., Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog Bax that accelerates programmed cell death. *Cell.*, 1993, 74, 609-619.
118. Reiter R.J., 1995. *FASEB J.*, 1995, 9, p. 526-533.
119. Sakahira H., Enari M., Nagata S., Cleavage of CAD inhibitor in CAD activation and DNA degradation during apoptosis. *Nature.*, 1998, 391, 96-99.

120. Saksela M., Lapatto R., Raivio K.O. FEBS Lett, 1999, 443, p. 117-120.
121. Salvesen G.S. Programmed cell death and caspases. APMIS., 1999, 107, 73.
122. Salvesen G.S., Duckett C.S. IAP proteins blocking the road to death' door. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2002, 6, 401.
123. Scatena C.D., Adler S. Trans-acting factors dictate the species-specific placental expression on of corticotrophin-releasing factor genes in choriocarcinoma cell line // Endocrinology 1996 Jul: 137(7): 3000-8.
124. Schneiderhan N, Budde A, Zhang Y, Brune B Nitric oxide induces phosphorylation of p53 and impairs nuclear export. Oncogene 2003;22:2857.
125. Schwartz A., Bhardwaj R., Aragane Y., Mahnke k., Reimann H., Metze D., Luger T.A., Schwartz T. Ultraviolet B-induced apoptosis of keratinocytes: evidence for partial involvement of tumor necrosis factor- α in the formation of sunburn cells. J. Invest. Dermatol., 1995, 104, 922-927.
126. Seppala M., Akhiro Moryiama, Noboru Matsutaki, Isao Ogata, Masayasy Kyama, Chiniro Azuma human placental cells show enhanced production on interleukin (LL)-8 in response to lipopolysaccharide(LPS), IL-1 and tumor necrosis factor (TNF), but not to IL-6. Molecular Human Reproduction, Vol 5, 182-187, February 1999.
127. Shi Y. Mechanisms of caspase activation and inhibition during apoptosis. Mol. Cell., 2002, 9, 459-470)
128. Shimoya K., Akhiro Moriama, Noboru Matsutaki, Isao Ogata, Masayasy Kyama, ChiniroAzuma human placental cells show enhanced production on interleukin (LL)-8 in response to lipopolysaccharide(LPS), IL-1 and tumor necrosis factor (TNF), but not to IL-6. Molecular Human Reproduction, Vol 5, 183-187, February 1999.
129. Solary E, Bertrand R, Kohn KW, Pommier Y. Differential induction of apoptosis in undifferentiated and differentiated HL-60 cells by DNA topoisomerase I and II inhibitors. Blood 1993;81:1359–1368.
130. Stamler J.S., Singler P.J., Loscalzo J. Science 1992, 258, p.1898-1902.
131. Stamler, J.S., Singel, D.J., Loscalzo, J., 1992. Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. Science 258, 1898.

132. Steinborn A., von Gall C., Hildenbrand R., Stutte HJ., Kaufmann M. Identification of placental cytokine-producing cells in term and preterm labor. *Obstet Gynecol.* 1998, May 91:329-335.
133. Stewart F. Roles of mesenchymal-epithelial interactions and hepatocyte growth factor –scatter factor (HGF-SF) in placental development. *Rev reprod* 1996 Sep, 1:144-8.
134. Sweet M.J., Hume D.A.. *J. Leukocyte Biol.*, 1996, v. 60, p. 8-26.
135. Takahashi H., Konayashi H., Hahimoto Y., Marsuo S., Iizuka H. Interferon- α -dependent stimulation of Fas antigen in SV40-transformed human keratinocytes modulation of the apoptotic process by protein kinase C. *J. Invest Dermatol.*, 1995, 105, 810-815.
136. Tang D, Kidd VJ. Cleavage of DFF-45/ICAD by multiple caspases is essential for its function during apoptozis. *J Biol Chem* 1998;273:28549–28552.
137. Telfer J.F., et al. Expression of superoxide dismutase gene. *J Biol Chem*, 1998, 273, 15148-15156.
138. Thannickal V.J., Fanburg B.I. *Am. J. Physiol.*, 2000, 279, L1005-L1028.
- 139.** Unger T, Sionov RV, Moallem E, et al Mutations in serines 15 and 20 of human p53 impair its apoptotic activity. *Oncogene* 1999;18:3205-12.
140. van Loo G. et al., The role of mitochondrial factors in apoptozis: a Russian roulette with more than one bullet. *Cell death Differ.*, 2002, 9, 1031.
141. Wan X.S., Devalaraja M.N., Clair D.K. Molecular structure gene: DNA. *Cell Biol.*, 13, 1127-1136, 1994.
142. Wang G.L., Jiang B.H., Plet E.A., semeza G.L. (1995) Hypoxia inducible factor I is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellur O tension. *Proc. Natl.Acad. Sci USA*, 92, 561-5614.
143. Wang X. The expanding role of mitochondria in apoptozis. *Genes Dev.*, 2001, 15, 2922-2933.
144. West D.B., Boozer C.N., Moody D.L., Atkison R.L. Dietary obesity in nine inbred mouse strains. *Am. J. Physiol.*, 1992, 262, R1025-R1032.
145. Wink D.A., Kasparzak K.S., Maragos C.M., Eleapuri R.K., Misra M., Dunams T.M., Cebula T.A., Koch W.H., Andrews A.W., Allen J.S., Keefer L.K. *Science*, 1991, 254, 1001-1003.
146. Wyllie A.H. Apoptosis: cell death in tissue regulation. *J. Pathol.*, 1987, 153, 313-316., Steler H., Mechanisms and genes of cellular suicide., *Science.*, 1995, 267, 1445-1449.
147. Wyllie A.H., Kerr J.F., Currie A.R. Cell death: the significance of apoptozis. *Int Rev. Cytol.*,

1980, 68, 251-306.

148. Xu D., Bureau Y., McIntyre D.C., et al., Attenuation of ischemia-induced cellular and behavioral deficits by X chromosome-linked inhibitor of apoptosis protein overexpression in the rat hippocampus. *J. Neurosci.*, 1999, 19, 50, 26-33.
149. Yang E., Korsmeyer S.J. Molecular thanatopsis: a discourse on the BCL2 family and cell death. *Blood.*, 1996, 88, 386-401.
150. Yuan J., Shaham S., Ledoux S., Ellis H.M., Horvitz H.R. The *C. elegans* cell death gene *ced-3* encodes a protein similar to mammalian interleukin-1 beta-converting enzyme. *Cell* 1993, 75, 641-652.