ბათუმის შ. რუსთაველის სახ. უნივერსიტეტი

გურანდა დიასამიძე

კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის როლი ენის არტერიის ვაზორელაქსაციაში

ფიზიოლოგია – 03.00.13

დისერტაცია

მედიცინის მეცნიერებათა კანდიდატის სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: ბიოლ. მეცნ. დოქტორი,
პროფესორი ნ.მითგვარია

თბილისი, 2004

შინაარსი

შესავალი;
ნაშრომის ზოგადი დახასიათება;

თავი პირველი;
ლიტერატურის მიმოხილვა;

თავი მეორე;
კვლევის მასალა და მეთოდები;

2.1. მეთოდური მიდგომის დასაბუთება;

2.2. კვლევის ობიექტი;

2.3. სისხლძარღვოვანი პრეპარატების გვლუვი კუნთების მექანიკური აქტივობის რეგისტრაცია;

2.4. ხსნარების მომზადება, pH-სა და ტემპერატურის კონტროლი;

2.5. გამოყენებული ზემოქმედებები;

2.6. ჰიდროქსილ რადიკალების მაგენერირებული სისტემა;

2.7 ექსპერიმენტების პროტოკოლი;

2.8. მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება და კვლევის მოცულობა;

თავი მესამე;
მიღებული შედეგები;

3.1. ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული ენის არტერიის პრეპარატების რეაქცია ელექტრულ სტიმულაციაზე;

3.2. ატროპინის, პროპრანოლოლის და ნიტრო L-არგინინ მეთილ ესტრის (L-NAME) ეფექტი ენის არტერიის

რკალისებრი სეგმენტის ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე;

3.3 კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის (CGRP) და მისი რეცეპტორების ანტგონისტის (CGRP– 8-37) ეფექტი ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე;

3.4. თავისუფალი რადიკალების გავლენა ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის ელექტროსტიმულციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე;

3.5.თავისუფალი რადიკალების გავლენა ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდით გამოწვეულ რელაქსაციაზე;

თავი მეოთხე;

მიღებული შედეგების განხილვა;

დასკვნები;

ლიტერატურის სია.

შესავალი

ნაშრომის ზოგადი დახასიათება

<u>პრობლემის აქტუალობა.</u> ნეიროგენური ვაზოდილატაცია ხერხემლიანთა გულსისხლძარღვთა სისტემაში ძირითადად განპირობებულია აზოტის ოქსიდით (NO) (Tada et al., 1996). პირის ღრუს ერთ-ერთი ძირითადი არტერიის – ენის არტერიის (რომელიც მრავალრიცხოვანი განტოტებებით კვებავს სისხლით ენასა და ღრძილებს) ნეიროგენური დილატაციის ბუნების კვლევამ აჩვენა, რომ იგი ატარებს ორკომპონენტიან ხასიათს: პირველი კომპონენტი არის ატროპინმგრძნობიარე, ანუ ქოლინერგული ბუნების, ხოლო მეორე - არაქოლინერგული (Brayden, Large 1986). ასეთი შერეული დილატატორული მექანიზმი არ არის დამახასიათებელი მხოლოდ ენის არტერიისათვის, იგი აგრეთვე აღწერილი იყო სხვადასხვა სახის ქსოვილებისათვისაც (Lundberg, 1981; Eccles, Wilson, 1974; Lundberg et al., 1982).

კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდი არის 37 ამინომჟავისაგან შედგენილი პეპტიდი, რომელიც ფართოდ არის გავრცელებული არა მარტო ცენტრალურ და პერიფერიულ ნერვულ სისტემაში (Goodman, Iverson, 1986)ბ არამედ მნიშვნელოვნად არის წარმოდგენილი ნერვულ ბოჭკოებში სისხლძარღვთა სისტემის გაყოლებით (Muldberry et al., 1985) აზოტის ოქსიდთან (HO) ერთად ითვლება ნეიროგენური ვაზოდილატაციის ერთ-ერთი ყველაზე ძლიერი მექანიზმის ძირითად კომპონენტად. ორივე ხსენებული

ვაზოდილატატორის მოქმედება ორგანიზმში, როგორც ირკვევა, ატარებს მკვეთრად გამოხატულ რეგიონულ ხასიათს. ამ მხრივ არაფერი არ არის ცნობილი ენის არტერიეს რელაქსაციის მექანიზმის შესახებ. კერძოდ მონაწილეობს თუ არა კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდეს (CGRP) ფტ NO ამ მექანიზმის ფუნქციონირებაში და თუ ასეა, რაში გამოიხატება ეს მონაწილეობა უჯრედულ დონეზე.

ცნობილია, რომ სისხლძარღვთა რელაქსაციის მექანიზმის ნორმალური ფუნქციონირების მოშლა, ანუ ორგანული სისხლის მიმოქცევის რეგულაციის დარღვევა რიგ პათოლოგიურ პირობებში განპირობებულია დიდი რაოდენობით წარმოქმნილი ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალებით (Rubanyi, 1988), მაგრამ მათი როლი პირის ღრუს სისხლით მომარაგების რეგულაციის დარღვევებში პრაქტიკულად შეუსწავლელია.

კვლევის მიზანები და ამოცანები. გამომდინარე ზემოთქმულიდან წარმოდგენილი კვლევის მიზნებს შეადგენდა:

1. გაგვერკვია კალციტონინს გენთან დაკავშირებული პეპტიდის როლი ენის არტერიის ვაზოდილატაციური მექანიზმის ფუნქციონირებაში;
2. გაგვერკვია აზოტის ოქსიდის როლი ენის არტერიის ვაზოდილატაციური მექანიზმის ფუნქციონირებაში;
3. შეგვესწავლა – არღვევს თუ არა ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალები ენის არტერიის

ვაზოდილატაციის მექანიზმის ფუნქციონირებას და თუ ეს ასეა – რა არის ამ დარღვევის მექანიზმი.

ჩამოთვლილი მიზნების განხორციელებისათვის საჭირო იყო შემდეგი კონკრეტული ამოცანების გადაწყვეტა:

1. კვლევის ისეთი მეთოდური მიდგომის შერჩევა, რომელიც უზრუნველყოფდა ობიექტური და ცალსახა მონაცემების მიღებას.
2. ბოცვერის ენის არტერიეს ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული რკალისებრი სეგმენტების პრეპარატების რეაქციის შესწავლა სხვადასხვა სიხშირის ელექტრულ სტიმულაციაზე (ამპლიტუდა-10ვ, სიხშირე – 4,8 და 16 ჰც, 2 მილისეკუნდიანი მართკუთხა იმპულსების თანმიმდევრობა 45 წამის ხანგრძლივობით) ნორეპინეფრინით გააქტივებული ტონუსის არსებობის და მის გარშე პირობებში.
3. ატროპინის, პროპრანოლოლის და ნიტრო -არგინი მეთილ ესტერის (L-NAME) ეფექტის დადგენა ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის ელექტრო-სტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე დეენდოთელიზირებული და ინტაქტური ენდოთელიუმის მქონე პრეპარატებზე ნორეპინეფრინით გააქტივებული გლუვკუნთოვანი ტონუსის პირობებში.
4. კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის (CGRP) და მისი რეცეპტორების ანტაგონისტის (CGRP - 8-37) ეფექტი ენის არტერიის რკალისებრი

სეგმენტის ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე.

5. კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის რეცეპტორების ანტაგონისტის (CGRP–8-37) ეფექტი ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდით (10^{-8}M) გამოწვეული რელაქსაციაზე.

6. კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის რეცეპტორების ანტაგონისტის (CGRP –8-37) ეფექტი ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის იზოპროტერენოლით გამოწვეულ ვაზოდლატაციაზე

7. კაპსაიცინით წინასწარი, 30-წუთიანი ზემოქმედების გავლენა ენის არტერიის რკალიებრი სეგმენტის ელექტრო-სტიმულაციის დროს მიღებულ რელაქსაციაზე.

8. ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების გავლენა და მათი სკავენჯერის დიმეთილსულფოქსიდის გავლენა კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდით გამოწვეულ ენის არტერიის პრეპარატის რელაქსაციურ რეაქციაზე.

9. ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების გავლენა ნიტროგლიცერინით გამოწვეულ ენის არტერიის პრეპარატის რელაქსაციურ რეაქციაზე.

შედეგების მეცნიერული სიახლე.

დადგენილია, რომ:

კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდე (CGRP) იწვევს ბოცვერის ენის არტერიის მნიშვნელოვან რელაქსაციას და რომ იგი განპირობებული უნდა იყოს CGRP რეცეპტორების აქტივაციით.

CGRP-თ ინდუცირებული ენის არტერიის რელაქსაციის მექანიზმის ფუნქციონირება ნაწილობრივ მაინც უნდა იყოს განპირობებული ATP-მგრძნობიარე K^+ - არხების აქტივაციით.

ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალები მოქმედებენ CGRP ნერვული ბოჭკოების როგორც პრე-ისე პოსტსინაფსურ დონეზე.

ჩამოყალიბებულია ჰიპოთეზა, რომ ჰიდროქსილ რადიკალები უნდა იწვევდნენ ბოცვერის ენის არტერიის $CGRP_1$ რეცეპტორების დისფუნქციას და ATP-სენსიტიური K^+ - არხების ინაქტივაციას და ამ გზით თრგუნავენ რელაქსაციურ რეაქციას, როგორც ელექტრული სტიმულაციის, ისე ეგზოგენური CGRP-ს დამატების შემთხვევაში.

დასაცავად გამოტანილი დებულებები:

ბოცვერის ენის არტერიის ვაზოდილტაციის მექანიზმი ატარებს ენდოთელიუმ-დამოუკიდებელ ხასიათს და ამდენად აზოტის ოქსიდი არ ასრულებს რაიმე მნიშველოვან როლს მის ფუნქციონირებაში. ამ სისხლძარღვის რელაქსაციის მთავარ მექანიზმად გვევლინება კალციტონინის გენთა დაკავშირბული პეპტიდეს (CGRP) რეცეპტორების აქტივაცია და ATP-სენსიტიური K^+ - არხების გახსნა.

ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალები მოქმედებენ CGRP ნერვული ბოჭკოების როგორც პრე – ისე პოსტსინაფსურ დონეზე, აზიანებენ პოსტსინაფსურ მემბრნას და არა მეორად მესენჯერულ სისტემას, დაკავშირებულს ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატის ფორმირებასთან გლუვკუნთოვან უჯრედებში და ამ გზით თრგუნავენ არტერიის რელაქსაციურ რეაქციას.

ნაშრომის თეორიული და პრაქტიკული მნიშვნელობა:

მიღებული შედეგები საშუალებას იძლევ ჩამოვაყალიბოთ პირის ღრუს ორგანოების სისხლით მომარაგების ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი არტერიის – კონტრაქტილურობის მექანიზმის სტრუქტურა და ფუნქციონირების პრინციპები.

კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის გადამწყვეტი როლის დადგენა ენის არტერიის დილატაციის მექანიზმში შესაძლებელს ხდის დამუშავდეს ამ იდეის თერაპიული განხორციელების პრაქტიკული გზები ენისა და ღრძილების სისხლით მომარაგების გაუმჯობსების და მისი რეგულაციის მოშლის პრევენციისა და მკურნალობის თვალთახედვით.

ნაშრომის აპრობაცია.

დისერტაციის მასალები მოხსენებულია საქართველოს სახ. სამედიცინო აკადემიის მედიკო-ბიოლოგიური კვლევათა ცენტრის სამეცნიერო სხდომაზ (2002; 2003 წლები) და ბათუმის შ. რუსთაველის სახ. უნივერსიტეტის სამედიცინო ფკულტეტის სამეცნიერო საბჭოს სხდომაე (2002; 2003 წლები).

ნაშრომი აპრობირებულია საქართველოს სახ. სამედიცინო აკადემიის მედიკო-ბიოლოგიურ კვლევათა ცენტრის 2004 წლის 5 თებერვილის სხდომაზე (ოქმი 4).

პუბლიკაციები: დისერტაციის თემაზე გამოქვეყნებულია 6 სტატია და I თეზისი.

ნაშრომის სტრუქტურა და მოცულობა: დისერტაცია წარმოდგენილია კომპიუტერული ბეჭდვის 99 გვერდზე. იგი მოიცავს:

შესავალს, ლიტერატურის მიმოხილვას, კვლევის მასალას და მეთოდებს, მიღებულ შედეგებს და მათ განხილვას, დასკვნებს და გამოყენბული ლიტერატურის სიას (148 დასახელება). ნაშრომი ილუსტრირებულია 20 სურათით და 3 ცხრილით.

თავი პირველი.

ლიტერატურის მიმოხილვა

ცნობილია, რომ კბილის მაღალი ინტესივობის სტიმულაცია იწვევს ხანგრძლივ ვაზოდილატაციას და სისხლის ნაკადის მატების ინდუცირებას ადამიანის პირსახის არეში. ითვლება, რომ ეს ვაზოდილატაცია უნდა ეფუძნებოდეს ქოლინერგული ბუნების მექანიზმს, რაც კარგად იყო ნაჩვენები ცხოველებში. მაგალითად, არის რამდენიმე ექსპერიმენტული გამოკვლევა რომლებშიც ნაჩვენებია, რომ ტუჩების, ენის და სახის კანის არტერიები ინერვირებულია პარასიმპათიკური ბოჭკოებით (Kemppainen et al., 2001). ამასთან ერთად ბოცვერის ენის არტერიის იზოლირებულ სეგმენზე ნაჩვენებია, რომ ნერვული სტიმულაციით გამოწვეული ვაზოდილატაცია შეიცავს როგორც ქოლინეგულ (ატროპინ-მგრძნობიარე), ისე არაქოლინერგულ კომპონენტებს (Brayden, Large, 1999). ამ არტერიის განტოტებები ემსახურება არა მარტო ენის, არამედ ღრძილების სისხლით მომარაგებასაც. ავტორებს მიაჩნიათ, რომ ბოცვერის ენის არტერიის ნერვული ვაზოდილატაციის ქოლინერგულ კომპონენტს თან სდევს ჰიპერპოლარიზაცია, ხოლო არაქოლინერგულს არ უნდა გააჩნდეს ელექტროფიზიოლოგიური კორელანტი. ასეთი შერეული ტიპის დილატატორული პასუხი არ არის იშვიათი, იგი აღწერილი იყო სხვადასხვა ორგანოების ქსოვილებში, მათ შორის სანერწყვე ჯირკვალში, ცხვირის ლორწოვან

გარსში და სხვა. (Brody, Shaffer, 1970; Eccles, Wilson, 1974; Lundberg, 1981; Lundberg et al., 1982).

წინა საუკუნის ოთხმოციან წლებში ძაღლებზე ჩატარებულ ცდებში ნაჩვენები იყო, რომ ენის არტერიის რელაქსაცია, გამოწვეული პერივასკულური ნერვის სტიმულაციით, განპირობებულია კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის (CGRP) რეცეპტორების აქტივაციით (Kobayashi et al., 1985), რითაც დადგენილი იქნა ამ პეპტიდის მედიატორული მნიშვნელობა და როლი ენის არტერიის ნეიროგენურ ვაზოდილატაციაში. CGRP-ის აღმოჩენის ისტორია ასეთია:

1961 წელს კოპმა და კოლეგებმა განაცხადეს პეპტიდ კალციტონინის არსებობა (Copp et al., 1961). მისი სტრუქტურის განსაზღვრამ აჩვენა, რომ კალციტონინი არის ერთჯაჭვიანი პეპტიდური ჰორმონი, რომელიც შეიცავს 32 ამინომჟავას. (Neher et al., 1968),

კალციტონინის გენის მოლეკულური კლონირებისას 1983 წელს აღმოჩენილი იყო კალციტონინის გენთან დაკავშირებული 37 – მონოამინიანი პეპტიდი – CGRP (Rozenfeld et al., 1983). როგორც CGRP, ისე მისი რეცეპტორები ფართოდ არის გავრცელებული ცენტრალურ ნერვულ (Lee et al., 1985; Ursell et al., 1991; Skofitsch, Jacobowitz, 1985; Sexton et al., 1986; Kruger et al., 1988) და კარდიოვასკულურ სისტემებში (Yoshizaki et al., 1987; Wimalawansa, Maclntyre, 1988; Sigrist et al., 1986; Mulberry et al., 1985). CGRP გვხდება პერიფერიულ ნერვულ სისტემაშიც

(სენსორულ განგლიებში) სადაც ხშირად თანაარსებობს სუბსტანცია P-თან. (Goldman, Iverson, 1986).

ატერიულ სისტემაში CGRP-რეცეპტორები განაწილების სხვდასხვა სიხშირით ნაპოვნია სისხლის მიმოქცევის როგორც პერიფერიულ, ისე ცენტრალურ სისტემებში, მსხვილ არტერიებში იგი დაბალი სიხშირითაა წარმოდგენილი. (Nakamuta et al., 1986; Mc Cormack et al., 1989). როგორც წესი, CGRP-რეცეპტორების განაწილება შეესატყვისება თვით პეპტიდის განაწილებას (Tschopp et al., 1985; Coltzman, Mitchell, 1985; Holzer, 1988; Ursell et al., 1991). თუმცა გამონაკლისებიც არის, მაგალითად, ნათხემი, რომელიც გამოირჩევა რეცეპტორების სიჭარბით. უნდა აღინიშნოს რომ უკანასკნელი მონაცემების მიხედვით CGRP – რეცეპტორები ნათხემში ძირითადად გლიალურ უჯრედებშია და არა პურკინიეს უჯრედებში, როგორც ადრე იყო მიღებული.

CGRP პეპტიდს გააჩნია მაღალი ვაზოდილატატორული აქტივობა (Uddman, Edvinsson, 1989; Franco-Cereceda, 1991; Ezra et al., 1987), ამ პეპტიდის ფართო გავრცელება გულსისხლძარღვოვვან სისტემაში და პერივასკულურ ნერვებში აგრეთვე მეტყველებს იმაზე, რომ იგი დიდ როლს უნდა თამაშობდეს პერიფერიული სისხლძარღვოვანი ტონუსის და ორგანული სისხლის ნაკადის რეგულაციაში (Wimalawans, 1996).

ცობილია, რომ ზოგ სისხლძარღვოვან რეგიონში CGRP-ის ვაზოდილატატორული ეფექტი ხორციელდება ენდოთელური წარმოშობის აზოტის ოქსიდის მეშვეობით და K^+ATP-აზის არხის გახსნით (Nillson, Edvinsson, 1992; Kitazano, Heistad, Faraci, 1993). Nelson et

al (1990). აღნიშნავენ, რომ არტერიულ გლუვ კუნთებში K^+ - არხის აქტივაციით CGRP იწვევს ჰიპერპოლარიზაციას, მაგრამ ვირთაგვას იზოლირებულ კორონარულ არტერიაში K^+ATP-აზის არხის ანტაგონისტი უძლური აღმოჩნდა ჩაეხშო CGRP-ით გამოწვეული რელაქსაცია (Pernow, 1989).

ლიტერატურაში არსებული მონაცემების ანალიზი დღეისათვის არ გვაძლევს იმის უფლებას, რომ დაბეჯითებით ვამტკიცოთ HO-სა და ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატის (cGMP) მონაწილეობა CGRP-ით გამოწვეულ ენდოთელიუმ-დამოკიდებულ ვაზორელაქსაციაში (Wimalawansa, 1996).

ვირთაგვას აორტის რკალში CGRP-ით გამოწვეული ენდოთელიუმ-დამოკიდებულ ვაზორელაქსაცია დაირთგუნა ჰემოგლობინით, რომელიც ბოჭავს ენდოთელურ HO-ს. ასეთივე ეფექტი მიღწეულ იქნა L-NAME-თი (ნიტრო L-არგინინ მეთილ ესტერი) რომელიც არის აზოტის ოქსიდის სინთაზას (NOS) ძლიერი, არასელექციური ინჰიბიტორი. L-NAME-ს ინჰიბიტორული ეფექტის რევერსე შესაძლებელია ჭარბი L-არგინინით.

ითვლება, რომ CGRP-ის ვაზორელაქსაციური პოტენციის განხორციელებისათვის აუცილებელი მოთხოვნაა – ენდოთელიუმის ინტაქტურობაა და ეს მოთხოვნა გამოირჩევა მკვეთრად გამოხატული რეგიონურობით. სხვადასხვა სისხლძარღვოვან უბნებში CGRP-ის მოქმედების პასუხად გამოვლინდა HO-ს გამონთავისუფლების მნიშვნელოვანი ვარიაბელურობა (Wimalawansa, 1996).

რიგ პუბლიკაციებში ნაჩვენებია, CGRP-ის როგორც ენდოთელიუმ-დამოკიდებული, ისე დამოუკიდებელი ეფექტი. ასე

მაგალითად, ითვლება, რომ აორტაზე ამ ეფექტის მისაღწევად ენდოთელიუმის ინტაქტურობა აბსოლიტურად აუცილებელია (Grace et al., 1987; Gray, Marshall, 1992; Hao, et al., 1994). ცნობილია, რომ ვირთაგვას აორტის რკალში CGRP ასტიმულირებს cGMP აკუმულაციას. უფრო მეტიც, ვირთაგვას აორტის ვაზორელაქსაციური პასუხი (ინტაქტური ენდოთელიუმის შემთხვევაში) CGRP-ს მოქმედებაზე ითრგუნება მეთილენის ლურჯით – ციტოზოლური გუანილატ ციკლაზის ინჰიბიტორით და HO-ს სინთეზის ინჰიბიტორებით (Marshall, 1992; Gray, Marshall, 1992; Hao et al., 1994). მაგრამ, 1987 წელს გრეისმა (Grace) და თანამშრომლებმა (Grace at al., 1987) აღწერეს, რომ ვირთაგვას აორტის ვაზორელაქსაციის (გამოწვეული აცეტილქოლინით და ნატრიუმის ნიტროპრუსიდით) პარალელურად ვითარდება cGMP–ს აკუმულაცია ენდოთელიუმის როგორც არსებობის, ისე არარსებობის პირობებში, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ CGRP-ს პასუხად გამოყოფილი NO უნდა განსხვავდებოდეს აცეტილქოლინით გამონთავისუფლებულისაგან.

არ არის გამორიცხული, რომ აზრთა სხვადასხვაობა CGRP-ის ეფექტის მისაღწევად ენდოთელიუმის არსებობის აუცილებლობის შესახებ, გამოწვეული იყოს მხოლოდ მეთოდური ასპექტებით. სავსებით შესაძლებელია, რომ ენდოთელიუმის არასრული ამოღებისას სისხლძარღვებში, ან ენდოთელური ფენის დაზიანების შედეგად იმ სისხლძარღვებში, რომლებშიც ითვლება, რომ იგი ინტაქტურია, მივიღოთ პრინციპული სხვაობა იმ კვლევის შედეგებში, რომლებშიც შეისწავლება ენდოთელიუმ-დამოკიდებული

NO-სა და cGMP–ს აკუმულაციის როლი CGRP-ს საპასუხოდ მიღებულ ვაზორელაქსაციაში.

ამგვარად, CGRP-ს ძირითადი ბიოლოგიური ეფექტი არის გლუვი კუნთების რელაქსაცია (Sakata et al., Kitamura et al., 1994; Nuki et al., 1993; DiPette, Wimalawansa, 1994). მისი ინტრავენური ინფუზია იწვევს სისტემური არტერიული წნევის დოზა-დამოკიდებულ დაქვეითებას, ხოლო მისი რეცეპტორების ანტაგონისტის გამოყენებისას ვიღებთ ამ ეფექტის რევერსს.

იმის მიუხედავად, რომ CGRP-ს მიაწერენ მნიშვნელოვან როლს მრავალი ბიოლოგიური პროცესების რეგულაციაში (Rosenfeld et al.,1983; Preidisz, 1993) ყველაზე მნიშვნელოვან ფუნქციად მაინც ასახელებენ ორგანოებში სისხლის მომოქცევის რეგულაციას. CGRP-ის სხვა დადგენილი ეფექტები გამოიხატება კარდიალურ აქსელერაციაში (Preidisz, 1993; DiPette, Wimalawansa, 1994), ანთების დროს სუბსტანცია P-ს მოქმედების მოდულაციაში (Miyauchi et al.,1987), სენსორული აღქმის ნეირომოდულაციაში (Miyauchi et al., 1987, Twery, Moss, 1985) და სხვა. CGRP აგრეთვე გარკვეულ გავლენას ახდენს ახალ სისხლძარღვთა ფორმირებაზე როგორც ფიზიოლოგიურ, ისე პათოლოგიურ პირობებში (ისქემია, ანთება). სხვა მედიატორებთან ერთად CGRP აგრეთვე მონაწილეობს ანთებითი ჰიპერემიის წარმოქმნაში (Mule et al., 1988).

უკანასკნელ წლებში CGRP-სა და მისი ანალოგების ირგვლივ აღინიშნება მზარდი ინტერესი, როგორც თერაპიული საშუალებებისადმი მრავალი დაავადებების დროს. საკმარისია მხოლოდ იმის აღნიშვნა, რომ CGRP-ის შეუძლია უშუალოდ

იმოქმედოს სისხლძარღვებზე, გამოიწვიოს პერიფერიული ვაზოდილატაცია და შეამციროს ვასკულური წინაღობა (DIPette, Wimalawansa, 1994; Hoiman et al., 1986; Franco-Cereceda, 1991) და ამ გზით მოგვევლინოს როგორც ჰიპერტონიის სამკურნალო საშუალება (Schifter et al., 1991; Jian et al., 1989).

CGRP და მისი აგონისტები გამოიყენება აგრეთვე ისეთი პათოლოგიების დროს როგორიცაა: გულის კორონარული სისხლძარღვების დაავადება და მიოკარდიუმის ინფარქტი, გულის უკმარისობა, არითმია, პერიფერული სისხლძარღვების დაავადება და რეინოს სინდრომი, მამკაცთა ერექტილური დისფუნქცია და სხვა.

არის თუ არა პლაზმაში ცირკულირებადი CGRP ჰორმონული ფუნქციის მატარებელიც, ჯერ-ჯერობით არაა გარკვეული, თუმცა ცხადია, რომ ინტრავენური ინფუზიიდან რამდენიმე წამში CGRP აღწევს სამიზნე ქსოვილს (wimalawansa, 1996).

უკანასკნელ წლებში ნაჩვენები იყო, რომ CGRP-ს გამონთავისუფლებაში სენსიტიური ნერვების პერიფერიული ტერმინალებიდა მნიშვნელოვან როლს თამაშობს კაპსაიცინი (ვანილოიდი), რომელიც ასევე ჩართულია სუბსტანცია P-ს (SP) და სომატოსტატინის გამონთავისუფლებაშიც, რაც მიუთითებს პეპტიდების გამონთავისუფლების უშუალო, არა აქსონ-რეფლექსის მაგვარი მექანიზმების არსებობაზე (Szolcsanyi et al., 1998_a – კაპსაიც). ამავე ავტორებმა პარალელურად შეისწავლეს სამივე ნეიროპეპტიდის (SP, CGRP და სომატოსტატინი) გამონთავისუფლება ვირთაგვას ტრაქეადან, ინდუცირებული კაპსაიცინის 10^{-8}-10^{-5} M კონცენტრაციით შეყვანით. გაირკვა, რომ არხების არცერთი ცნობილი ბლოკატორი არ

თრგუნავს პეპტიდების გამონთავისუფლებას კაპსაცინის ნებისმიერი გამოყენებული კონცენტრაციის პირობებში. შესაბამისად Szolcsanyi-მ ჩამოაყალიბა პოსტულაცია, რომ «სენსორული ნეიროპეპტიდების გამონთავისუფლების საიტი ასრულებს აგრეთვე სენსორული რეცეპტორების ფუნქციას». ეს ჰიპოთეზა განმტკიცებული იყო 1999 წელს, როდესაც აჩვენეს, რომ ვანილოიდის რეცეპტორები ასოცირებული არიან ნერვულ დაბოლოებებში მცირე ზომის ვეზიკულებთან (Cuo et al., 1999).

სხვა გამღიზიანებელ ნივთიერებებს შორის, რომლებიც მოქმედებენ პირველად სენსორულ ნეირონებზე კაპსაცინი გამოირჩევა გარკვეული უნიკალობით, რადგან მის მიერ გამოწვეულ საწყის სტიმულაციას თან სდევს ხანგრძლივი და სტაბილური რეფრაქტერული მდგომარეობა, რომელიც ტრადიციულად დესენსიტიზაციის სახელითაა ცნობილი (Jancso, 1994). თუმცა კაპსაიცინი მოიხსენიება როგორც «ინსტრუმენტი» პირველადი სენსორული ნეირონებისათვის (Holzer, 1991), თავიდანვე გასაგები იყო, რომ მისი მოქმედების ყველა ასპექტი ვერ შემოისაზღვრებოდა მხოლოდ პირველადი სენსორული ნეირონების აქტივაციით. ერთ-ერთი ასეთი ასპექტია კაპსაიცინის ნეიროტოქსიკური მოქმედება.

1977 წელს ნაჩვენები იყო, რომ ახალშობილ ვირთაგვებში კაპსაიცინის შეყვანა იწვევს მცირე და საშუალო ზომის ნეირონებს კვდომას (Jancso et aj., 1977). აქედან მიყოლებული კაპსაიცინს იყენებენ კაპსაიცინ-სენსიტური ნერვული გზების იდენტიფიკაციის მიზნით და მათი როლისა და წვლილის დადგენისათვის ფიზიოლოგიურ თუ პათოლოგიურ მარეგულირებელ პროცესებში (Holzer, 1991).

თითქმის დარწმუნებით შეიძლება ითქვას, რომ კულტურაში კაპსაიცინს შეუძლია ზრდასრული ნეირონების კვდომის გამოწვევაც Wood et aj., 1988). ასეთი ქმედება განპირობებული უნდა იყოს კალციუმით, ვინაიდან უჯრედგარეთა კალციუმის გამოდევნა ან ბლოკირება აფერხებს კაპსაიცინით ინდუცირებულ უჯრედების კვდომას (Chard et al., 1990). თუმცა in vitro ცდებში კაპსაიცინით-ინდუცირებულ ნეირონულ დეგენერაციაში კალციუმი გვევლინება მნიშვნელოვან მონაწილედ, საკითხი იმის შესახებ, რომ შეუძლია თუ არა უჯრედშიგა კალციუმს მიაღწიოს ისეთ მაღალ დონეს, რომ in vivo გამოიწვიოს ზრდასრული ნეირონის შეუქცევადი დაზიანება, კვლავ ღიაა.

ვინაიდან კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის მოქმედების მექანიზმები მჭიდროდ კორელირებს აზოტის ოქსიდთან და მათი ფუნქციები თითქმის კონკურენტულ ხასიათს ატარებენ, მიზანშეწონილად მიგვაჩნია Ho-ს ბიოლოგიური მნიშვნელობისა და ორგანული სისხლის მიმოქცევის მარეგულირებელი მექანიზმების კვლევამ წლების განმავლობაში მრავალი პრინციპული მნიშვნელობის ცვლილება განიცადა.

მეოცე საუკუნის 90-ან წლებამდე ვაზოაქტიური მეტაბოლიტების ძირითადი სია ასე გამოიყურებოდა: ნახშირორჟანგი, ადენოზინი, კალიუმის და წყალბადის იონები, ჰისტამინი, სეროტონინი, ბრადიკინინი და ა.შ. (Демченко и др., 1988; Орлов, Айвар, 1979; Шамсутдинова, 1980; Вайнштейн и др., 1988; Hansen et., 1984; Hanser et al., 1986; Martins et al., 1980; Wahi et al., 1986).

საუკუნის დასასრულს აზოტის ოქსიდის აღმოჩენამ პრინციპულად შეცვალა ექსპერიმენტული კვლევის მიმართულება მსოფლიოს მასშტაბით და ყურადღება მთლიანად იქნა გადართული ამ ახალი ფაქტორის როლისა და ფუნქციის დადგენისადმი სისხლის მიმოქცევის რეგულაციაში (Bredt, 1990; Iadecola, 1992; Diranal et al., Faraci, Brian, 1994; Brian et al., 1996; Hudetz et al., 1996; Zoccoli, 2001). ინტესიური კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ აზოტის ოქსიდი არის ის ძლიერი ვაზოდილატატორი, რომელიც თავდაპირველად იდენტიფიცირებული იქნა, როგორც ენდოთელიუმ-დამოკიდებული რელაქსაციური ფაქტორი (Furchgott, Zawadski, 1980). ეხლა უკვე ცნობილია, რომ იგი აგრეთვე გამომუშავდება თავის ტვინშიც პერივასკულური ნერვების, გლიის, აქტიური ნეირონების მიერ და ამნდენად შეუძლია ფართოდ აკონტროლოს სისხლის მიმოქცევის ინტესივობა თავის ტვინშიც (Brian et al., 1996). ზოგიერთ კვლევაში ნაჩვენები იქნა, რომ აზოტის ოქსიდს მნიშვნელოვანი წვლილი შეაქვს სისხლძარღვთა ბაზალურ ტონუსში და ასევე მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ნახშირორჟანგით გამოწვეულ სისხლის მიმოქცევის მატებაში (Iadecola, 1992).

მნიშვნელოვანი როლი მიანიჭეს აზოტის ოქსიდს სისტემური ჰიპოქსიის (Hudetz et a., 1996; Pelligrino, 1993) და ჰიპოტეზიის პირობებშიც (Toyoda et al., 1997).

დადგენილია, რომ ორგანიზმში აზოტის ოქსიდი (NO) წარმოადგენს სასიგნალო მოლეკულას, რომელიც გარდა სისხლძარღვთა ტონუსის რეგულაციისა, ჩართულია სხვადასხვა ბიოლოგიური ფუნქციების განხორციელებაში, მათ შორისაა იმუნური

სისტემის რეაქციები და ნეიროტრანსმისია (Moncada et al., 1991; Bredt and Snyder, 1992; Nathan, 1992; Knowles and Moncada,1994; Sessa, 1994; sessa et al., 1994). აზოტის ოქსიდი ლიპოფილურია, ტრანსცელულარული დიფუზიით იოლად აღწევს ინტრაცელულარულ სამიზნეებს, რითაც გარკვეულწილად ემსგავსება ჰორმონს (murad, 1998). Ho ხასიათდება ხანმოკლე სიცოცხლისუნარინობით. ჟანგბადი აზოტის ოქსიდს ჟანგავს წყალსხნარში აზოტურ ანჰიდრიდამდე ნიტრიტის შემდგომი წარმოქმნით. თუ ჟანგბადისა და აზოტის ოქსიდის კონცენტრაცია შესაბამისად 20 და 1 მიკრომოლია, მაშინ აზოტის ოქსიდის ნახევარსიცოცხლის დრო დაახლოებით 500 წამია, მაგრამ in vivo პირობებში ეს მაჩვენებელი განისაზღვრება 5 წამის ოდენობით, რაც იმაზე მეტყველებს, რომ აზოტის ოქსიდი აქტიურ ურთიერთქმედებაშია უჯრედოვან კომპონენტებთან. ყველაზე დიდი სიჩქარით აზოტის ოქსიდი (NO) რეაგირბს სუპეროქსიდურ ანიონთან ($O2^-$) და გარდამავალ ლითონებთან: რკინისა და სპილენძის ჰემურ კომპლექსებთან, რკინაგოგირდოვანი სტრუქტურებთან.

აზოტის ოქსიდის უმრავლესი უჯრედული ეფექტების გამოვლენა დამოკიდებულია NO და O2 – კონცენტრაციათა თანაფარდობაზე, ვინაიდან ბევრ ჯგუფზე მოქმედებს არა უშუალოდ აზოტის ოქსიდი, არამედ პეროქსინიტრიტი, რომელიც არის ბევრად უფრო აქტიური და პოტენციურად უფრო ტოქსიური შენაერთი ვიდრე ცალ-ცალკე აღებული NO და O2 . გარკვეულ პირობებში, მაგალითად, ციტოკინების მოქმედებისას, როდესაც უჯრედებში აქტიურად მიდის თიოლების და რკინაგოგირდოვანი ცენტრების ჟანგვა, ჭარბობს აზოტის ოქსიდის ციტოტოქსიური მოქმედება.

მაგრამ თუ შეიცვალა კონცენტრაციების ბალანსი, ანუ თუ აზოტის ოქსიდის კონცენტრაცია მნიშვნელოვნად აჭარბებს $O2^-$-ის კონცენტრაციას, მაშინ ხდება პეროქსინიტრიტის აღდგენა NO2-მდე და ამ პირობებში NO მოქმედებს უკვე როგორც ანტიოქსიდანტი, რომელიც იცავს უჯრედებს ჟანგბადის აქტიური ფორმების ციტოტოქსიური მოქმედებისაგან (Beckman et al., 1994; Wink et al., 1997; Brune et al., 1995).

გარდა მაღალი ქიმიური აქტივობისა, აზოტის ოქსიდის, როგორც სასიგნალო მოლეკულის მნიშვნელობა, განისაზღვრება მისი სწრაფი დიფუზიის უნარითაც. თანახმად არსებული მონაცემებისა (Malinska et al., 1993) აზოტის ოქსიდი მის მასინთეზირებელი უჯრედისგან საკმარისად შორს და სწრაფად ვრცელდება. სინთეზის დაწყებიდან დაახლოებითორი წამის შემდეგ მასინთეზირებელი უჯრედისგან 100 მკმ დაცილებით აზოტის ოქსიდის კონცენტრაცია წონასწორული მნიშვნელობის ნახევარს შეადგენს (lancater et al., 1994). წარმოქმნის ადგილიდან 160 მკმ დაცილებით (რაც დაახლოებით რვა უჯრედული დიამეტრის ტოლია) სინთეზის მუდმივი დონის შენარჩუნების პირობებში აზოტის ოქსიდის კონცენტრაცია კლებულობს ორჯერ (Lancaster et al., 1994).

ტრადიციული ნეიროტრანსმიტერებისაგან განსხვავებით NO არ გროვდება ნერვული დაბოლოებების სინაფსურ ვეზიკულებში და გამოიყოფა სინაფსურ ნაპრალში არა ეგზოციტოზის მექანიზმის გზით. L-არგინინის L -ციტრულინად კატალიზურად გარდაქმნის თანაპროდუქტის ფერმენტ NO-სინთაზას (NOS) საშუალებით NO-ს

მოლეკულა სინთეზირდება ფიზიოლოგიური მოთხოვნოლების მიხედვით (Burnett, 1997).

აღმოჩნდა, რომ უჯრედში არსებობს NOS ჯგუფის ფერმენტები, რომლებიც შეიცავენ ნეირონალურ (nNOS), ენდოთელურ (eNOS) და ინდუცირებად (iNOS) იზოფორმებს. ისინი განსხვავდებიან მოლეკულურ, ბიოქიმიური და ფარმაკოლოგიური თავისებურებებით (Knowles and Moncada, 1994; Sessa, 1994).

კონსტიტუციური NOS-ის იზოფორმები (eNOS და nNOS) ჩვეულებრივ არსებობენ ენდოთელურ უჯრედებში და ნეირონებში და აქტივდებიან კალციუმის, კალციუმ-დამაკავშირებელი ცილა კალმოდულინის, ჟანგბადის თანაარსებობისას და იშლებიან ნიკოტინამიდ ფოსფატამდე, მაშინ როცა არგინინის დერივატები ჩვეულებრივ აინჰიბირებენ მათ კატალიზურ აქტივობას. კონსტიტუციური იზოფორმები, უჯრედშიდა კალციუმის დონის გაზრდამდე (შეესაბამება Ca^{2+} კონცენტრაცია 0,4 mcM) არიან არააქტიურ მდგომარეობაში. გაზრდის შედეგად კალმოდულინი დაუკავშირდება კალციუმს და კალციუმ-კალმოდულინის კომპლექსი უკავშირდება და ააქტივებს NOS-ს. უკვე შემდეგ NO სინთეზირდება და მცირე რაოდენობით გამოიყოფა, მანამ სანამ შემცირდება კალციუმის დონე. აზოტის ოქსიდის ასეთი პერიოდული წარმოქმნით ხდება სიგნალების გადაცემა. ამის საწინააღმდეგოდ, ინდუცირებადი NOS, იყენებს რა ტეტრაჰიდრობიოპროტეინს, როგორც მის მთავარ კოფაქტორს, ჩვეულებრივ დაკავშირებულია მაკროფაგებთან და იმუნური ფუნქციის სხვა უჯრედებთან. ინდუცირებადი NOS-ის საშუალებით NO მუდმივად სინთეზირდება

დიდი (1000-ჯერ მეტი) ოდენობით იმ უჯრედებში, რომლებიც ირგვლივ მყოფი უჯრედებისათვის პათოლოგიურს წარმოადგენენ, ანუ ბაქტერიებსა და პარაზიტებში (Burnet, 1997). iNOS-ის აქტივაციისას NO-ს წარმოქმნა მკვეთრად იზრდება და მაქსიმალურ მნიშვნელობას აღწევს საათების შემდეგ (Меньшикова и дрюб 2000).

მრავალი ფაქტორი, ისეთი როგორიცაა ოქსიჰემოგლობინისა და პეროქსიდული ანიონის ნაკლებობა, ჰიპოქსია, კალციუმის დაბალი შიგაუჯრედული მარაგი და ექსტრემალური ტუტე-მჟავური პირობები, შეიძლება წარმოადგენდეს NO-ს წარმოქმნისა და აქტივობის ხელის შემშლელი ფაქტორს (Sessa, 1994; Moncada, 1992).

NOS-ის გენის ექსპრესია შესაძლოა გამოვლინდეს კოფაქტორებზე მოთხოვნებით და სხვადასხვა სასიგნალო გზების ურთიერთქმედებით (Sessa, 1994). მისი მარეგულირებელი ზეგავლენების რიცხვში შედის განსაზღვრული ზრდის ფაქტორები, ციტოკინებისა და ტრანსკრიპციის ფაქტორები, ასევე მექანიკური ფაქტორები, როგორცაა ადგილობრივი სისხლის ნაკადის ფენომენი, რომელიც განსაზღვრავს ენდოთელური NOS-გენის ექსპრესიას.

ჟანგბადის აქტიური ნაერთებიც ახდენენ გავლენას NOS-ის აქტივობაზე. დადგენილია, რომ თავის ტვინში L-არგინინისაგან NO-ს წარმოქმნის პროცესში, რომელიც კატალიზდება iNOS-ის ციტოლიზური იზოფორმით, მონაწილეობენ სუპეროქსიდ ანიონი, წყალბადის ზეჟანგი და ჰიდროქსილ რადიკალი (McCell et al., 1989; Claney et al., 1992; Mittal, 1993).

პოსტულირებული იქნა NO-ს გავლენა NOS-ის აქტივობის უშუალო უკუკავშირის ინჰიბიციაზე, ენზიმის ჰემის ნაწილთან ურთიერთქმედებით.

NO-ს ძირითად ბიოქიმიურ ფუნქციას წარმოადგენს მეორადი სასიგნალო მოლეკულის 3,5-ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატის (cGMP) შიგაუჯრედული წარმოქმნის სტიმულირება (Moncada et al.,1991; Bredt and Snyder, 1992; Nathan, 1992; Knowles and Moncada, 1994; Sessa, 1994) No-ს ეფექტს, დაუკავშირდეს გუანილატციკლაზას ჰემის ნაწილს, მოსდევს მისი ლოკალური წარმოქმნა და დიფუზია. ის იწვევს გუანილატციკლაზას გააქტივებას, რომელიც შემდგომში გუანოზინ-5-ტრიფტოფანიდან აკატალიზებს cGMP-ს წარმოქმნას. უფრო მეტად, ვიდრე ციკლური ნუკლეოტიდი 3,5 - ციკლური ადენოზინი მონოფოსფატი (cAMP), cGMP ამოდულირებს სხვადასხვა უჯრედშიდა ფუნქციებს გლუვი კუნთების მნიშველოვან რელაქსაციისა და სისხლის ნაკადის მნიშვნელოვანი მატების გზით (Burnet, 1997).

NO-სათვის დამატებით ბიოქიმიურ ფუნქციებს შეადგენს ურთიერთობა ჰემოგლობინთან, სისხლის შრატის ალბუმინთან, არაჰემურ რკინა-გოგირდოვან ცილებთან და მათთან სტაბილური კომპლექსების შექმნა, რაც თავის მხრივ იწვევს NO-ს ბიოლოგიური ეფექტების გავრცელებას სისხლძარღვებზე.

NO გამოიყოფა ენდოთელიუმში და მიგრირებს სისხლძარღვთა კედლის გლუვკუნთოვან უჯრედებში, იწვევს რა მათ მოდუნებას და ამგვარად, NO წარმოადგენს ბუნებრივ მიორელაქსანტს, რომლის «სიმიზნე» არის სისხლძარღვთა კედლის კუნთი. ნაჩვენებია, რომ

ენდოთელური NOS გენის გამოთიშვას მივყავართ მკვეთრ ჰიპერტენზიამდე. ადამიანში NO-სინთაზას დეფექტებს გენში მივყავართ ათეროსკლეროზამდე.

ფიზიოლოგიურ პირობებში, როგორც ცნობილია ენდოთელიუმში NO მნიშვნელოვან როლს ასრულებს სისხლის მიმოქცევის რეგულაციასა და აუტორეგულაციაში (Kobari et al., 1994), ორგანოში მეტაბოლიზმისა და სისხლის ნაკადის შეუღლებაში (Bicher, 1973; Tanaka, 1996), წარმოადგენს ნოციცეპციის, თერმოგენეზის, ყნოსვის მედიატორს (Brett et al., 1990; Lancaster, 1992), მონაწილეობს ასევე ნეიროტრანსმისიისა და მეხსიერების ფორმირებაში, ნეიროენდოკრინული ფუნქციების მოდულაციაში და ქცევით აქტივობაში (Szabo, 1996). დღეისათვის მას განიხილავენ სისხლძარღვების ენდოთელიუმ-დამოკიდებული რელაქსაციის განმახორციელებელ ფაქტორად.

ცენტრალურ და პერიფერიულ ნერვულ სისტემაში აზოტის ოქსიდის წყაროს წარმოადგენს არაქოლინერგული ნერვები, გლუტამატური ნეირონები, აგრეთვე სისხლძარღვების ენდოთელური უჯრედები, მიკროგლიის უჯრედები და ასტროციტები (Lancaster,1993). იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდების გამოყენებით დაადგინეს nNOS-ის ყველაზე მაღალი აქტივობა ნათხემის გაემ-ერგულ უჯრედებში და ასტროციტებში. NOS-ის ფერმეტული აქტივობის უფრო დაბალი დონე აღმოჩენილია ჰიპოთალამუსში, შუა ტვინში, სტრიატუმში, თავის ტვინის ქერქის ნეირონებში. ჰიპოკამპის პირამიდულ ნეირონებში აღმოჩენილია ენდოთელური NO-სინთაზას – eNOS-ის მნიშვნელოვანი კონცენტრაცია (Меньшикова, 2000;

Баикатова, Раевский 1998). Ca^{2+} დამოკიდებული ინდუცირებადი NO-სინთაზა ნორმალურ თავის ტვინში აღმოჩენილი არ იყო (Sinz et aj., 1999).

NO დიდი რაოდენობით წარმოიქმნება ხანგრძლივი დროის განმავლობაში და შეზღუდულია მხოლოდ სუბსტრატის და კოფაქტორის რაოდენობით. ისქემიის შემდეგ iNOS-ის მიერ პროდუცირებული NO ავლენს ტოქსიკურ თვისებებს, შესაძლოა პეროქსინიტრიტის და მისი მეტაბოლიტების ტოქსიკურობის გამო (Iadecola et al., 1995 a,b,c). ამის საწინააღმდეგოდ ექსპერიმენტები ალერგიული ენცეფალიტების იმუნოდამოკიდებული დაზიანბის და ცნს-ის ინფექციების მოდელზე მეტყველებენ iNOS-ის პროტექციული როლის შესახებ.

ენდოთელური NO-სინთაზას მიერ წარმოქმნილი NO, ტვინის ტრავმული დაზიანების და ფოკალური ისქემიის მოცულობაში, სისხლის ნაკადის გაზრდის შედეგად იწვევს მდგომარეობის გაუმჯობესებას (De Witt et al., 1997; Huang et al., 1996). პირიქით, ნეირონული NO-სინთაზას (nNOS) მიერ წარმოებულმა NO-მ, ისქემიური ან ტოქსიკური ინსულტის შემდეგ, შეიძლება გამოიწვიოს ნეირონების დაზიანება (Huang et al., 1994; Shulz et al., 1995).

რამოდენიმე ჰიპოტეზა იყო მოწოდებული NO-ს წარმოქმნასა და მეტაბოლიზმზე თვით ჰიპოქსიის უშუალო გავლენის ასახსნელად. ჰიპოქსია იწვევს შიგაუჯრედული თავისუფალი Ca^{2+}-ის და Ca^{2+}-დამოკიდებული NO-სინთაზის გაზრდას (Luckhoff et al., 1986; Busse, Mulsch, 1990). ის ასევე თრგუნავს პეროქსიდული იონების გენერაციას, რომელიც იწვევს NO-ს ინაქტივაციას (Rudanyi, Vanhoutte,

1986). ანოქსიის მდგომარეობაში NO-ს პროდუქცია არის დათრგუნული, რადგან NO-ს სინთეზი საჭიროებს ჟანგბადის მოლეკულების თანაარსებობას (Palmer et al., 1988). Pohl და Busse-მ (Pohl, Busse, 1989) უჩვენეს, რომ ჰიპოქსია (PaO_2=24+/-8mm.Hg) ასტიმულირებს NO-ს გამოყოფას სისხლძარღვებიდან და ენდოთელური უჯრედების კულტურებიდან. აღსანიშნავია, რომ PaO_2=36-37 mm Hg ჰიპოქსიის დროსაც ხდება HO-ს სინთეზი და გამოყოფა, როგორც Pohl და Busses-ს შემთხვევაში, თუმცა ენდოთელური უჯრედების ან Ca^{2+}-ის და სუპეროქსიდ ანიონების როლი ჯერ კიდევ საჭიროებს გარკვევას (Ishimura et al., 1996).

დადგენილია, რომ ჯანგბადის და აზოტის რეაქციული სახეობები ჩართული არიან სხვადასხვა მწვავე და ქრონიკული ანთებითი პროცესების პათოგენეზში. კერძოდ, აზოტის ოქსიდს ხშირად შეუძლია გამოიწვიოს უარყოფითი მოქმედება ანთებით ქსოვილზე, რომელიც მანიფესტირდება გაუარესებული ენდოთელიუმ-დამოკიდებული ვაზოდილატაციით (Suzuki et al., 2000)., ბირთვული ტრანსკრიპციული ფაქტორების აქტივაციით, ანთებითი ციტოკინების შესაბამისი პროდუქციით (Flohe et al., 1997), ლეიკოციტების მობილიზაციით და აქტივაციით (Kubes at al., 1991), აჩქარებული აპოპტოზით (Zhai et al., 2000) და პარენქიმიული უჯრედების ნეკროზით (McKenzie et al., 1997). არაისქემიურ ცდებში ნაჩვენები იყო, რომ ეპითელიური ნეკროზი და/ან აპოპტოზი კორელირებს აზოტის ოქსიდის დისრეგულაციასთან (Elliot et al., 2000). ამავე ნაშრომში ნაჩვენები იყო, რომ ლორწოვანი გარსის ადრეული ნეკროზი ვითარდება ლიპოპოლისაქარიდებით-

ინდუცირებულ ანთების და მიკროცირკულაციის მოშლის შედეგად, ხოლო აზოტის ოქსიდის როლი გამოკვეთილია უფრო მოგვიანო სტადიაზე – ეპითელიური აპოპტზის დროს.

ამგვარად აზოტის ოქსიდის ვაზოდილატაციური ფუნქციის შესახებ ჩვენ შეგვიძლია ვთქვათ, რომ NO-ს ქიმიური ბუნება მას უნარს აძლევს დიფუზიის გზით სწრაფად მიაღწიოს სამიზნე უჯრედებამდე, გააქტიუროს ციტოზოლური ფერმენტი – გუანილატ ციკლაზა და ამგვარად გამოიწვიოს ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატის (cGMP) ფორმირება (Moncada et al., 1991; Lincoln 1989). ეს ნუკლეოტიდი კი პროტეინკინაზა G-ს აქტივაციის გზით ასტიმულირებს Ca-ATP აზას, სისხლძარღვოვან გლუვ კუნთებში ამცირებს უჯრედშიდა Ca^{2+} და ამის შედეგად ვითარდება ვაზორელაქსაცია (Persson, 1991; Popescu et al., 1985).

ცნობილია, რომ სისხლძარღვთა სისტემა სხვადასხვა სახის პათოლოგიურ პირობებში პირველ სამიზნეს წარმოადგენს ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალებისათვის (Rubanyi, 1988). ამ მხრივ განსაკუთრებულ მდგომარეობაში იმყოფება პირის ღრუს სისხლძარღვოვანი სისტემა, რომელიც გამუდმებულად იმყოფება ენდო- და ეგზოგენური ხასიათის ზემოქმედების ქვეშ, რაც ასტიმულირებს ენდოგენური პროსტანოიდების პროდუქციას (Greenberg, Palmer, 1978; Samuelsson, 1979). ამ სისხლძარღვთა სისტემის რეაქტიულობა მნიშვნელოვნად არის დამოკიდებული სწორედ თავისუფალ რადიკალებზე. ცერებრულ არტერიოლებზე ნაჩვენები იყო (kntos, 1985), რომ არტერიული წნევის მწვავე მატებისას რიგი ბიოქიმიური გარდაქმნების შემდეგ (Okabe et al., 1985) დიდი

რაოდენობით წარმოიქმნება ჰიდროქსილ რადიკალები (HO-). ეს უკანასკნელი ცნობილია როგორც პოტენციური ოქსიდანტი, რომლის ფორმირება იწვევს გახანგრძლივებულ ვაზოდილატაციას და სისხლძარღვების ოქსიდაციურ დაზიანებას (Okabe et al., 1983; Marshall and Kontos, 1990).

თავისუფალი რადიკალებით გამოწვეული ცვლილებები სისხლძარღვოვანი სისტემის რეაქციებში დღეისათვის წარმოადგენენ კვლევის ერთ-ერთ ყველაზე აქტუალურ საკითხს, ვინაიდან უკავშირდებიან ისქემიასთან ასოცირებულ პათოლოგიური პროცესების განვითარების ერთ-ერთ ყველაზე მნიშვნელოვან პრობლემას (Frei, 1994). ნაჩვენებია, რომ თავისუფალი რადიკალების ძირითადი ქმედება გამოიხატება, როგორც ვაზოდილატაციით (Lamb, Webb, 1984), ისე ვაზოდილატაციის უნარის მოშლით (Rubanyi, 1988). უფრო მეტიც, დადგენილია, რომ ჰიდროქსირადიკალებით გამოწვეული ენდოთელური დაზიანება აინჰიბირებს როგორც ენდოთელიუმ-დამოკიდებული რელაქსაციური ფაქტორის გამომუშავებას, ისე ამ ფაქტორის მოქმედების ეფექტს (Todoki et al., 1992).

ამგვარად, ვაზოდილატატორული ფუნქციის მოშლა, გამოწვეული თავისუფალი რადიკალების ჭარბი პროდუქციით, ხელს უწყობს ვაზოკონსტრიქტორული სტიმულისადმი რეაქტიულობის მატებას.

სისხლძარღვის კედელში გენერილებულ თავისუფალ რადიკალებს შეუძლიათ უშუალოდ იმოქმედონ გლუვ კუნთოვან უჯრედებზე, ან გავლენა მოახდინონ ენდოთელურ უჯრედებში

ფორმირებული ენდოგენური ვაზოაქტიური მედიატორების პროდუქციასა და/ან ბიოლოგიურ აქტივობაზე. ამასთან ერთად უნდა აღინიშნოს, რომ პრაქტიკულად არ არის შესწავლილი თავისუფალი რადიკალების გავლენა CGRP-ით განპირობებულ ვაზოდილატაციურ რეაქციებზე.

თუ გავითვალისწინებთ, რომ ღრძილებისა და კბილების ჯანმრთელობა მნიშვნელოვანწილად არის დამოკიდებული პირსახის სისხლით მომარაგების რეგულაციაზე, გასაგებია თუ რა დიდი თეორიული და პრაქტიკული მნიშველობა უნდა მიენიჭოს ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების მოქმედების კვლევას ენის არტერიის CGRP-თ განპირობებულ ნეიროგენურ ვაზოდილატაციაზე. კერძოდ, ირღვევა თუ არა თავისუფალი რადიკალებით CGRP-ით განპირობებული ნეიროგენური რელაქსაცია და თუ ეს ასეა, რა არის მოშლილი რელაქსაციის მექანიზმი უჯრედულ დონეზე?

უკანასკნელი 20 წლის განმავლობაში ლიტერატურაში გამოჩნდა ათეულობით პუბლიკაცია შესრულებული იზოლირებულ სისხლძარღვებზე, რომელთა ძირითადი მიზანი იყო რეგულაციის მებრანულ-იონური მექანიზმების და სხვადასხვა სახის ციტორეცეპტორების მოქმედებით განპირობებული ფარმაკო-მექანიკური რეგულაციის თავისებურებათა გამოვლენა. დაახლოებით 70-ანი წლების შუაგულში ჩამოყალიბდა თეორიული კონცეფცია, რომელმაც ცერებრული სისხლძარღვების მაგალითზე გამოავლინა გლუვი კუნთების კონტრაქტილური ფუნქციის კონტროლის ორი ფაქტორი: გარეგანი და შინაგანი. გარეგანი კონტროლის სისტემაში ავტორები გულისხმობდნენ იმ მარეგულირებელი სიგნალების

ერთიანობას, რომლებიც მოემართება სისხლძარღვის კედლისაკენ და მოიცავს, როგორც ამაგზნებელ ისე დამთრგუნველ ნერვულ და ჰუმორულ სიგნალებს (Орлов и др, 1975). კონტროლის შინაგან ფაქტორთა სისტემაში გაერთიანებულია ის ფაქტორები, რომლებიც აფორმირებენ მებრანულ პოტენციალს, არეგულირებენ იონთა ტრანსპორტს, აგზნებისა და კონსტრიქციის შეუღლებას ენერგომომარაგებასთან.

ნათელია, რომ სისხლძარღვის სეგმენტის ნებისმიერი რეაქცია არის გარეგანი და შინაგანი სისტემების ინტეგრატული ურთიერთქმედების შედეგი, რომელშიც შიდა სისტემა ასრულებს აღმასრულებელი რგოლის როლს და განსაზღვრავს გარე სიგნალების ეფექტურობას. ეს კონცეფცია საკმარისად კარგად ეთანხმება (თეორიულ ასპექტებში) სისხლძარღვის კედლის ტონუსის რეგულაციის არსებულ სქემებს (Москаленко и др., 1975). ამავედროულად იგი საშუალებას იძლევა დავსახოთ კონკრეტული ამოცანები სისხლძარღვოვნი სისტემის თვისებების შესასწავლად. ცნობილია, რომ სისხლძარღვოვანი სისტემა ფუნქციურად ჰეტეროგენურია (Москаленко, 1975). სათანადოთ, ამ სისტემის გარკვეულ უბნებზე ხდება სისხლძარღვის კედლის და მისი გლუვი კუნთების თვისებების თანდათანობითი ან ნახტომისებრი ცვლილება. სავსებით დასაშვებია, რომ ყოველი სისხლძარღვოვანი სეგმენტის მიოგენური აქტივობის ფორმირება საბოლოო ჯამში დადის სამი ტიპის გლუვკუნთოვანი ელემენტების გამოყენებაზე:

1. გლუვი კუნთები, რომელთა უმრავლესობა ბუნებრივ პირობებში ავლენს რიტმულ აქტივობას და არ განსხვავდება ერთმანეთისაგან აგზნებისა და გამტარიანობის თვალთახედვით.
2. გლუვი კუნთები, რომლებიც შეიცავენ სხვადასხვა მიოგენური აქტივობის მქონე უჯრედებს; უჯრედების ერთი ნაწილი გენერირებს აგზნების რიტს, ხოლო მეორე – აქტივირდება გამტარიანობის ფუნქციის რეალიზაციისას;
3. გლუვი კუნთები, რომელთა უმრავლესობა აქტივირდება უმეტესწილად ნეიროგენურად და ბუნებრივ სიტუაციაში მიოგენურ აქტივობას არ ავლენს (Гуревич , Берштейн , 1984).

აღნიშნულის ნათელი მაგალითია ის, რომ თავის ტვინის მაგისტრალურ არტერიებს მოსვენებულ მდგომარეობაში რიტმული სპონტანური აქტივობა არ გააჩნია. მისი ინიციაცია ხდება მხოლოდ მაშინ, როდესაც კალიუმი ახდენს გლუვკუნთოვანი უჯრედების მემბრანის დეპოლარიზაციას (Орлов, Азин, 1974; Азин и др., 1974). გამონაკლისს შეადგენს ადამიანის შიდა საძილე არტერიის გლუვი კუნთები, რომელთაც გააჩნიათ რიტმული სპონტანური აქტივობის უნარი (სიხშირით 5-6 შეკუმშვა წუთში) (Азин, 1982). დეცეის მონაცემების მიხედვით (Decey et al., 1981) ვირთაგვას შიდა საძილე არტერიის სეგეგმენტები ავლენენ სპონტანურ აქტივობას in vitro პირობებში. სპონტანური აქტივობის მაქსიმუმი ვლინდება მადეპოლარიზირებელი KCI-ის ხსნარის (140 მმოლი) მოქმედების შემდეგ.

არსებობს სისხლძარღვების გლუვი კუნთების აქტივაციის ელექტრომექანიკური და ფარმაკომექანიკური გზები (Орлов, Азин,

1974). ითვლება, რომ გლუვკუნთოვანი უჯრედების ელექტროგენური მართვა გარეგანი სტიმულის მოქმედების დროს ხორციელდება მემბრანული პოტენციალის ნელი წანაცვლებით სპაიკური ელექტროგენეზის აღმოცენების ალბათობით (Игнатенко, 1975; Орлов и др., 1975). მაგრამ ზოგიერთი ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერების (სეროტონინი, ჰისტამინი, ნორადრენალინი და სხვა.) მოქმედება გლუვ კუნთებზე რეალიზდება უჯრედული მემბრანის ფუნქციური მდგომარეობისაგან და მის ელექტრულ მუხტისაგან დამიუკუდებლად. ასეთ მოქმედებას მიაწერენ ფარმაკომექანიკური შეუღლების მექანიზმს, რომლის გრადუალური გააქტივება გლუვ კუნთებში შეიძლება გამოვიწვიოთ კალიუმის კონცენტრაციის ზრდით (Азин и др., 1977).

გლუვ კუნთებში მიმდინარე, როგორც ელექტრომექანიკური, ისე ფარმაკომექანიკური შეუღლების ანალიზის ერთ-ერთ ყველაზე ობიექტურ მეთოდათ უნდა მივიჩნიოთ სისხლძარღვთა იზოლირებული პრეპარტების კუმშვადობის პარამეტრების გაზომვა მექანოტრონული გარდაქმნელების მეშვეობით (Берлин и др., 1976) რომელიც განხილული იქნება მომდევნო თავში.

თავი მეორე

მასალა და მეთოდიკა

2.1. *მეთოდური მიდგომის დასაბუთება*

როგორც უკვე აღნიშნა წინა თავში, სისხლძარღვთა გლუვი კუნთების ფუნქციის ანალიზის ერთ-ერთ ყველაზე ობიექტურ მეთოდათ უნდა მივიჩნიოთ სისხლძარღვთა იზოლირებული პრეპარატების გაზომვა მექანოტრონული გარდამქმნელების მეშვეობით (Берлин и др., 1976). მეთოდი იძლევა საშუალებას გავზომოთ სისხლძარღვთა ტონუსის მომატების ან დაქვეითების ხარისხი მასზე სხადასხვა სახის ზემოქმედების პირობებში. ამგვარი მეთოდური მიდგომის შედეგად შესაძლებელი ხდება გლუვი კუნთების რეგულაციის ზოგიერთი მექანიზმის ანალიზი მასში ცენტროგენური ნეიროჰუმორული სიგნალების ჩარევის გარეშე. იგი აგრეთვე ამოუწურავ საშუალებას აძლევს ექსპერიმენტატორს შეისწავლოს ბიოლოგიურად აქტიური სხვადასხვა ნივთიერებების თანმიმდევრული ან კომბინირებული ზემოქმედების ეფექტი გლუვი კუნთების რეაქტიულობაზე. დღემდე ასეთ მიდგომას წარმატებით იყენებდნენ სხვადასხვა ორგანოების შედარებით მსხვილი სისხლძარღვების ფუნქციის შესასწავლად, ხოლო წვრილი არტერიების (<500მკმ) ქცევას აფასებდნენ არაპირდაპირი მეთოდებით, კერძოდ, ვაზოაქტიური ნივთიერების აპლიკაციისას

მათი დიამეტრის ცვალებადობის ვიზუალური, ხარისხობრივი შეფასების (შევიწროვდა-გაფართოვდა) მეშვეობით (Linder M., Alksue J., 1978).

2.2 *კვლევის ობიექტი*

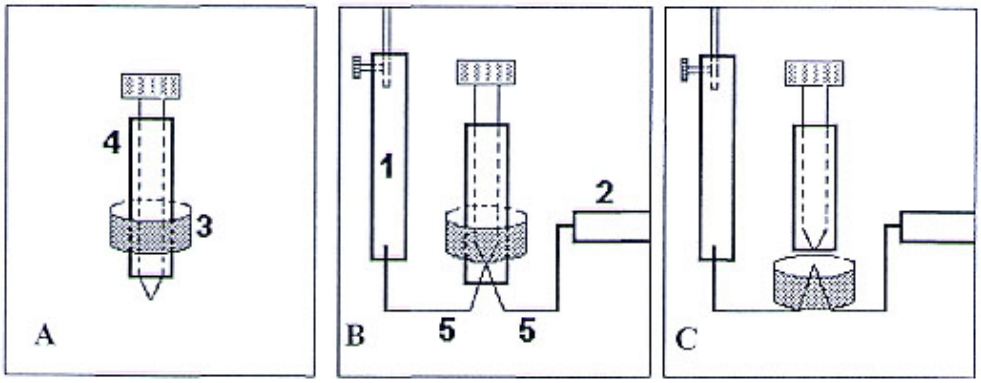
ცდები ჩატარდა 3,5-4კგ. მასის მქონე შინშილას ჯიშის ბოცვერების ენის არტერიის იზოლირებულ პრეპარატებზე.

ნატრიუმის ეტამინალით (40მგ/კგ) ცხოველების ანესთეზიის შემდეგ ხდებოდა მათი ევთანაზია სწრაფი სისხლგაშვების გამოყენებით.

ბინოკულური მიკროსკოპის ქვეშ გამოვყოფდით ენის არტერიას, რომელიც წარმოადგენს გარეთა საძილე არტერიეს ყველაზე დიდ კოლატერალურ ტოტს. არტერიას ვყოფდით რამდენიმე რკალისებრ სეგმენტათ (სიგრძით, დაახლოებით 1,5მმ). ყველა სეგმენტი დაუყოვნებლივ თავსდებოდა რინგერ-კრებსის გაციებულ ხსნარში. საჭიროების შემთხვევაში მასალა შეიძლება შევინახოთ მაცივარში 24 საათის განმავლობაში +5C^{o} ტემპერატურაზე (Бальский, 1973; Carrier et al., 1973; Linder, Alksue., 1973).

სპეციალური დამხმარე ინსტრუმერტის (სურ, 2.1) მეშვეობით (Климин, 1989) რინგერ-კრებსის ხსნარგამდინარე კამერის პატარა აბაზანაში, პრეპარატს აჯენენ პლატინისაგან დამზადებულ ორ პატარა კავზე (სურ. 2.1), რომლებიც ამავე დროს ასრულებენ ელექტროგამღიზიანებელი ელექტროდების როლს. ერთი კავი ხისტადაა მიმაგრებული მექანოტრონის შტოკზე. წონასწორული მდგომარეობის მიღწევისათვის პრეპარატი 90 წუთის განმავლობაში

იმყოფება მოსვენებულ მდგომარეობაში და განიცდის მხოლოდ წინასწარ, 15,3მნ (1,5გ) ძალის პასიურ დაჭიმვას. დაჭიმვის სიდიდე შეირჩევა არტერიის გლუვი კუნთების კუმშვადობის ტესტირების შედეგების მიხედვით. ტესტირება ტარდება სტანდარტული ხსნარებით, რომლებიც შეიცავენ კალიუმს 80 მოლ-ის



სურ. 2.1. ტენზომეტრული მექანოტრონის კავებზე სისხლძარღვის სეგმენტის წამოცმის ეტაპები.

აღნიშვნები: 1 – მექანოტრონი, 2 – გამჭიმავი მოწყობილობა, 3 – სისხლძარღვის რკალისებრი სეგმენტი, 4 – დროებითი დამჭერი, 5 – კავები.

კონცენტრაციით და საშუალოდ შეადგენს აღნიშნულ სიდიდეს. რინგერ-კრებსის ხსნარის სრული განახლება ხსნარგამდინარ კამერაში ხდება ყოველი 10-15 წუთის განმავლობაში.

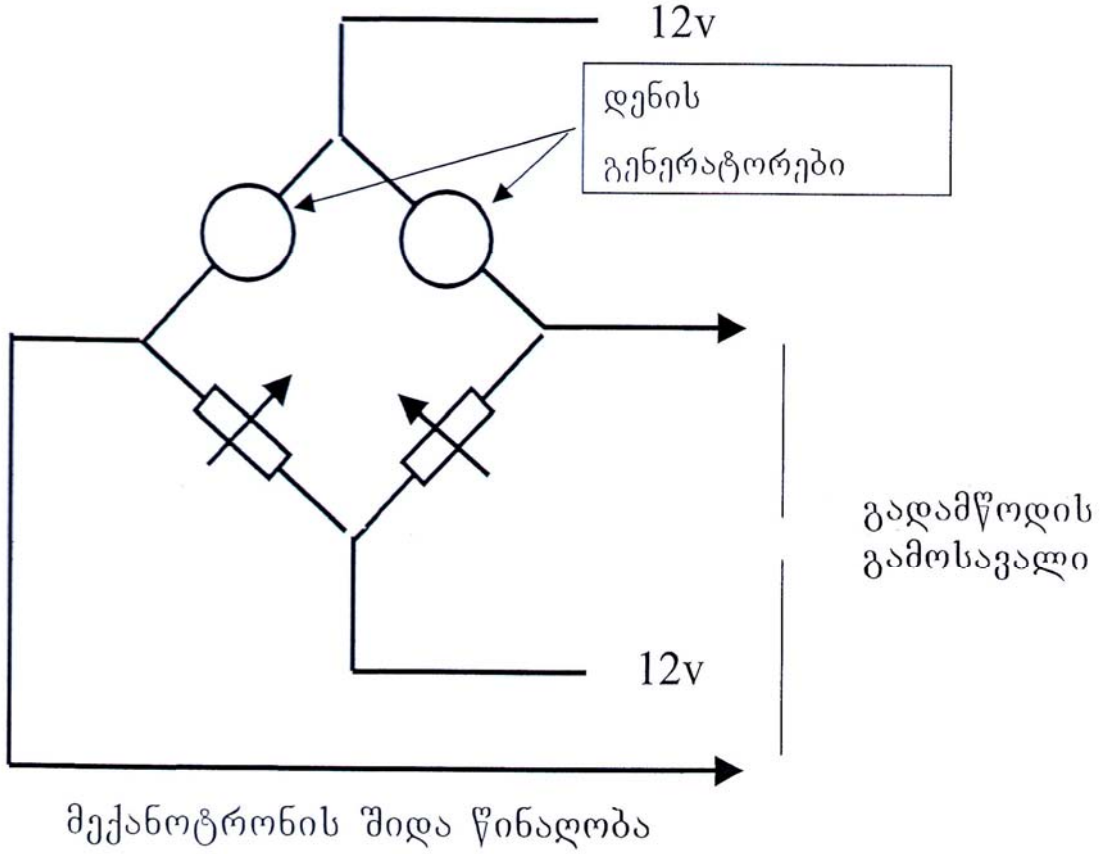
რბილი ხისაგან (ცაცხვი) დამზადებული სპეციალური ინსტრუმენტით ვახდენდით პრეპარატებიდან ენდოთელური ფენის ჩამოცილებას, რის სრულფასოვნება მოწმდებოდა აცეტილქოლინზე (10^{-5} M) რეაქციის ტესტით.

2.2. *სისხლძარღვოვანი პრეპარატების გლუვი კუნთების მექანიკური აქტივობის რეგისტრაცია*

იზოლირებული სისხლძარღვების კონტრაქტილური აქტივობის რეგისტრაცია შესაძლოა ტენზომეტრულ დანადგარზე იზომეტრულ რეჟიმში 6 MXIC ტიპის მექანოტრონებით.

მექანოტრონებიდან მიღებული ელექტრული სიგნალი გადაეცემა გამაძლიერებლებს, რომელთათვის შეიძლება გამოვიყენოთ სურ.2.2-ზე მოტანილი ხიდური სქემის ანალოგი. მექანოტრონების კალიბრება ტარდება მილინიუტონებში, ამისათვის ჰორიზონტალური შტოკი იტვირთება სტანდარტული, მცირე წონის გირებით და სარეგისტრაციო ქაღალდის დიაგრამაზე რეგისტრატორის კალმით აღირიცხება გადახრა საწყისი დონიდან. ასეთი მეთოდი სავსებით მისაღებია დასმული ამოცანის გადაწყვეტის თვალთახედვით, ვინაიდან აღნიშნული ტიპის მექანოტრონები (მექანოელექტრული, ანუ ტენზომეტრული გადამწოდები) ტექნიკაში გამოიყენება წრფივი

გადაადგილების და ძალების პრეციზიული აღრიცხვისათვის. თითოეული მექანოტრონის კალიბრება უნდა ჩატარდეს ინდივიდუალურად. ცვალებადობის დიაპაზონი ჩვეულებრივ უნდა შეადგენდეს 0-10,2მნ, რაც სავსებით



სურ. 2.2 სისხლძარღვთა გლუვი კუნთების პრეპარატების კონტრაქტილური აქტივობის ტენზომეტრული მეთოდით რეგისტრაცის გამაძლიერებლის ხიდური სქემა

აკმაყოფილებს ჩვენს მიერ შესასწავლი ობიექტის პოტენციურ მახასიათებლებს.

პრეპარატის დაჭიმვა ხორციელდება სპეციალური მოწყობილობით, რომლითაც პრეპარატს შეიძლება მოვდოთ დოზირებული მექანიკური დატვირთვა. დაჭიმვის სიდიდე ჩვეულებრივ ნორმირდება პრეპარატის მაქსიმალური კონტრაქტილური პასუხების მიხედვით ჰიპერკალიური (80 მმოლი/1ლ) ხსნარის მოქმედებაზე (Кулагина., Удельнов, 1978). ხსნარზე კონტრაქტილური პასუხის სიდიდის დამოკიდებულება პრეპარატის სხვადასხვა დაჭიმულობისას მოტანილია სურ. 2.3 ამ დიაგრამიდან ნათლად ჩანს, რომ ენის არტერიის გლუვი კუნთების ყველაზე გამოხატული კონტრაქტილური რეაქცია ვლინდება, როდესაც რკალის პირველადი დაჭიმვა უდრის 15,3მნ-ს.

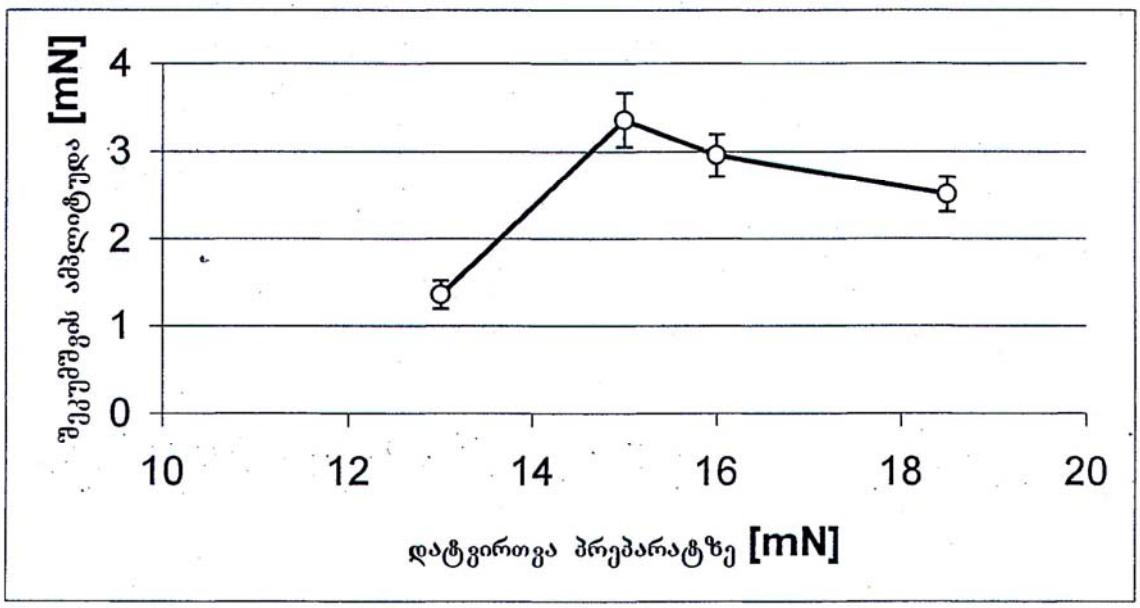
2.4 ხსნრების მომზადება, pH-სა და ტემპერატურის კონტროლი

მკვებავ ხსნარად ჩვენ ვიყენებდით რინგერ-კრებსის გამდინარე ხსნარს რომლის შემადგენლობა (მმოლ/ლ) იყო შემდეგი:

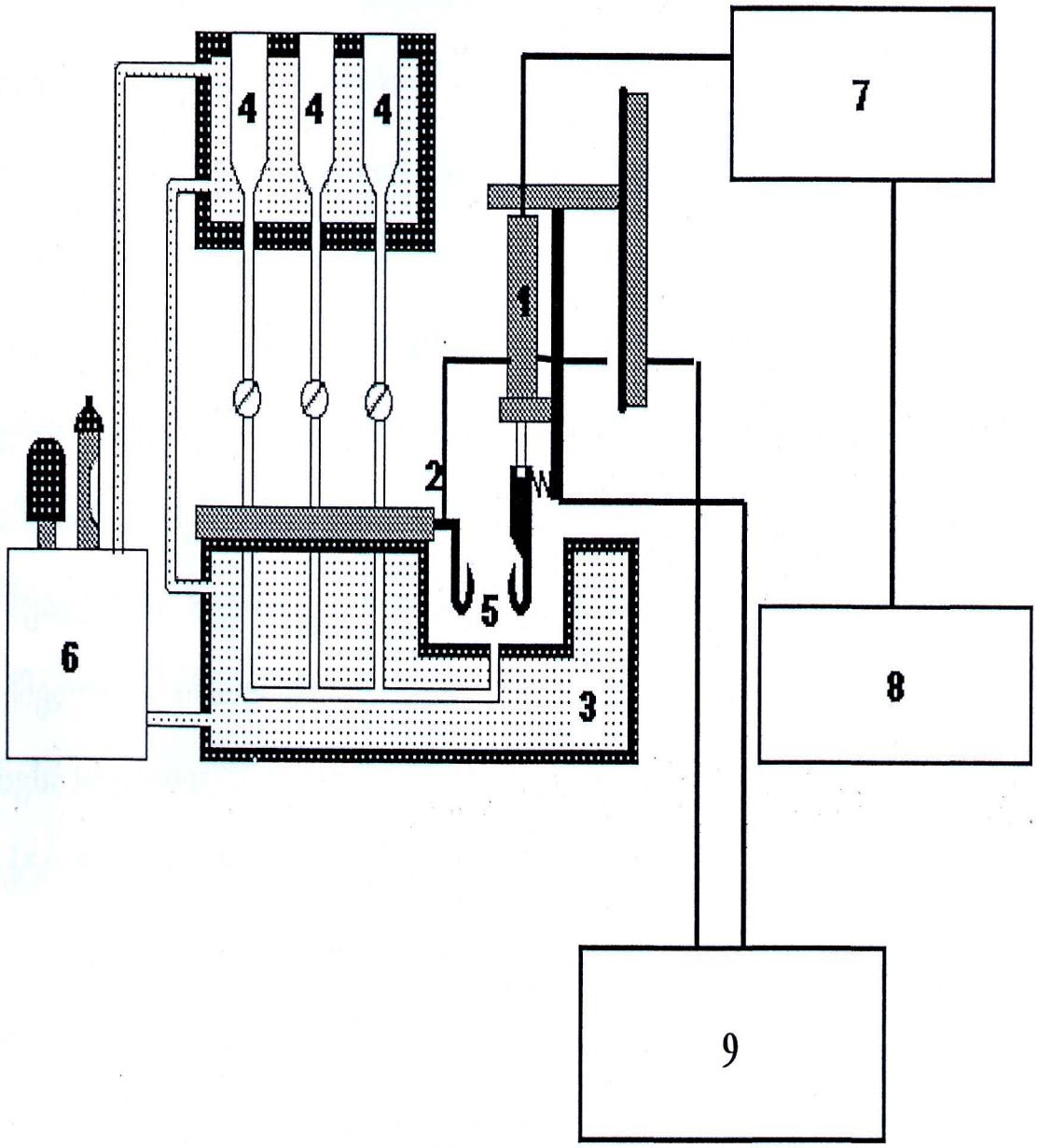
NaCI - 118,0; KCI-4,7; $NaHCO_3$ – 14,9; RH_2PO_4 – 1,18: $MgSO_4.7H_2o$ – 1,17; $CaCI_2.2H_2O$ – 2,5 გლუკოზა – 11,0. ცდები ტარდებოდა ხსნარის pH-ს კონტროლის ქვეშ, რომლის გაზომვა მთელი ცდის განმავლობაში ხორციელდებოდა უშუალოდ ყოველი ზემოქმედების

წინ pH-მეტრის (ან იონომეტრის) საშუალებით. ხსნარის pH-ს ცვლილება დასაშვებია 7.35-7.45 ფარგლებში.

ხსნარის ტემპერატურის მუდმივობა ცდის განმავლობაში ხორციელდება $37 \pm 0.5C^{o}$ დონეზე ულტრათერმოსატატის მეშვეობით, რომელიც შემთბარ წყალს გადატუმბავს წყლის პერანგიან სპეციალურ კოლბებში და თერმოსტატირებულ კამერაში,



სურ. 2.3 კონტრაქტილური პასუხის ჰიპერკალიურ (8მმოლ/ლ) ხსნარზე (საწყის დაჭიმვაზე დამოკიდებულებით).


4
4
4
7
1
2
5
6
3
8
9

სურ. 2.4. დანადგარის ბლოკ-სქემა: 1 – მექანოტრონი; 2 – გაჭიმვისა და კალიბრების მექანიზმი; 3 – თერმოსტატირებული კამერა; 4 – კრებსის ხსნარიანი კოლბები; 5 – სამუშაო კამერა; 6 – ულტრათერმოსტატი; 7 – გამაძლიერებელთა ბლოკი; 8 – რეგისტრატორი; 9 – ელექტროსტიმულატორი.

რომლებიც გაერთიანებულია საერთო, უწყვეტ, გამდინარე სისტემაში (სურ. 2.4).

2.5 გამოყენებული ზემოქმედებები

არტერიების სისხლძარღვოვანი პრეპარატის კუმშვადობის ანალიზისათვის საჭიროა გამოსაკვლევი ფარმაკოლოგიური ნივთიერებები და მეტაბოლიტები მომზადდეს ყოველი ცდის წინ და ჩავამატოთ რინგერ-კრებსის მკვებავ ხსნარში. ზემოქმედების ხანგრძლივობა და გამოყენებული ნივთიერების კონცენტრაციას საჭიროებისამებრ არჩევს ექსპერიმენტატორი. ნივთიერებები შეყავთ აბაზანის სამუშაო კამერაში 15-30 წუთის ინტერვალით. ეს გვაძლევს საშუალებას შევისწავლოთ მეტაბოლური რეგულაციის ფაქტორების მოქმედება იზოლირებულ სისხლძარღვოვან პრეპარატებზე და

განვსაზღვროთ მათი მნიშვნელობა სხვა მარეგულირებელ ფაქტორებთან შედარებით.

კონკრეტულად ჩვენს ექსპერიმენტებში გამოყენებული იყო შემდეგი ნივთიერებები:

ნეიროგენური ვაზოკონსტრიქციის ჩახშობის მიზნით ყველა ცდებში აბაზანაში ვამატებდით ადრენერგული რეცეპტორების ბლოპკატორს – გუანეთიდინს ($5x10^{-6}$M), ხოლო სისხლძარღვის პრეპარატის საწყისი ტონუსის გაზრდის მიზნით ვიყენებდი ნორეპინერფრინს (10^{-5}M), რომლის შეყვანის შემდეგ დეენდოთელიზაციის სრულფასოვნებას ვამოწმებდით აცეტიქოლინზე (10^{-5}M), რელაქსაციური რეაქციის არარსებობით.

პრეპარატის მაქსიმალური რელაქსაციის დონეს ვამოწმებდით პაპვერინის ($2x10^{-4}$M) შეყვანით.

წინასწარმა გაზომვებმა აჩვენა, რომ ელექტრული სტიმულაციით გამოწვეული იმ პრეპარატების რელაქსაცია, რომელიც იმყოფებიან გუანეთიდინის მოქმედების ქვეშ და გააქტივებული აქვთ ტონუსი ნორეპინეფრინით, ხორციელდება სტაბილური ხასიათით და გრძელდება დაახლოებით 5 საათის განმავლობაში.

2.6. ჰიდროქსილ რადიკალების მაგენერირებელი სისტემა

ცნობილია, რომ ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალები H_2O_2 დისმუტაციის შემდეგ აფორმირებენ ჰიდროქსილ რადიკალებს (HO-), რომლებიც წარმოადგენენ ძლიერ ოქსიდანტს და როგორც აჩვენებენ

ექსპერიმენტული მონაცემები იწვევენ ხანგრძლივ ვაზოდილატაციას და სისხლძარღვთა ოქსიდაციურ დაზიანებას (Marshall, Kontos, 1990).

ჰიდროქსილ რადიკალების გენერირების მიზნით გამოყენებული იყო ე.წ. ფენტონის რეაქცია (H_2O_2-სა და რკინის მარილების ნარევი იძლევა HO^- -ს, რაც პირველად აღწერილი იყო ფენტონის მიერ – იხ. Walling, 1982):

$$\mathbf{Fe^{++} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{+++} + HO^- + OH^-}$$

კონკრეტულად, გამოყენებული იყო $3x10^{-4}M$ H_2O_2 და $2x10^{-4}M$ $FeSO_4$. ცნობილია, რომ ხსნარში $H_2O_2/FeSO_4$ დამატებისთანავე იწყება ჰიდროქსილ რადიკალების გენერაცია მაქსიმალური ინტენსივობით, რაც გრძელდება დაახლოებით 40 წუთის განმავლობაში (Zweier, 1988).

2.7. ექსპერიმენტების პროტოკოლი

<u>ცდების პირველ სერიაში</u> შესწავლილი იყო ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული ენის არტერიის პრეპარატების რეაქცია ელექტრულ სტიმულაციაზე.

ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული რკალისებრი სეგმენტების პრეპარატების რეაქცია ელექტრულ სტიმულაციაზე (ამპლიტუდა – 10ვ, სიხშირე - -4,8 და 16 ჰც, 2 მილისეკუნდიანი მართკუთხა იმპულსების თანმიმდევრობა 45 წამის

ხანგრძლივობით) შესწავლილი იყო ნორეპინეფრინით (10^{-6} M) გააქტივებული ტონუსის არსებობის და მის გარეშე პირობებში.

დეენდოთელიზაციის ხარისხის კონტროლის თვალთახედვით, ელექტროსტიმულაცამდე ვახდენდით აცეტილქოლინით (10^{-5} M) ზემოქმედებას.

ცდების ამ სერიაში ჩატარებული იყო 12 ექსპერიმენტი, მათ შორის 6 ინტაქტური ენდოთელიუმის მქონე პრეპარატებზე და 6 ენდოთელიუმ ჩამოცილებულზე.

ცნობის მეორე სერია ჩატარდა ატროპინის, პროპრანოლოლის და ნიტრო L-არგინინ მეთილ ესტერის (L-NAME) ეფექტის დადგენის მიზნით ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტი ელექტრო-სტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე. იმ პრეპარატებზე, რომლებიც ნორეპინეფრინით ზემოქმედების შემდეგ იძლეოდა ტონუსის სტაბილურ მატებას, ელექტრულ სტიმულაციამდე 10 წუთის განმავლობაში ხორციელდებოდა 10^{-5} M კონცენტრაციის ატროპნის (6 ინტაქტური და 6 დეენდოთელიზირებული პრეპარატი) ან 10^{-5}M კონცენტრაციის პროპრანოლოლის (აქაც 6+6 ექსპერიმენტი), ან 10^{-4}M L-NAME (6 ინტაქტური და 6 დეენდოთელიზირებული პრეპარატი) დამატება რინგერ-კრებსის ხსნარიან აბაზანაში.

ცდების მომდევნო, მე-3 სერიაში შევეცადეთ გაგვერკვია კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპდის (CCRP) და მისი რეცეპტორების ანტაგონისტის (CGRP – 8-37) ეფექტი ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის ელექტროსტიმულაციით (6 ექსპერიმენტი) და თვით კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდით (10^{-8} M) და იზოპროტერენოლით (10^{-6} M) გამოწვეულ პრეპარატების

რელაქსაციაზე (შესაბამისად 6-6 ექსპერიმენტი). CCRP – (8-37) კონცენტრაციით $2x10^{-8}$ M ემატებოდა რინგერ-კრებსის ხსნარში ნორეპინეფრინის შეყვანამდე 30 წუთით ადრე.

<u>ცდების მე-4 სერიაში</u> შესწავლილი იყო ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის ელექტრო-სტიმულაციის დროს მიღებულ რელაქსაციაზე ამ პრეპარატების წინასწარი, 30-წუთიანი კაპსაიცინით (10^{-6} M), დამუშავების გავლენა. ამ შემთხვევაშიც ჩატარდა 6 ექსპერიმენტი.

<u>ცდების მე-5 სერია</u> მიეძღვნა ჰიდროქსილ რადიკალების როლის შესწავლას პრეპარატის რელაქსაციაზე მათი დამთრგუნველი ეფექტის ფორმირებაში. ჩვენ გამოვიყენეთ HO¯ს ისეთი ძლიერი სკავენჯერი როგორიცაა დიმეთილსულფოქსიდი (DMSO). ამ აგენტისა და ფენტონის რეაქციის (და მისი შემადგენელი კომპონენტების) გავლენა ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ ჩამოცლილი რკალისებრი სეგმენტის რელაქსაციურ რეაქციაზე სხვადასხვა სიხშირით (თითეულ შემთხვევაში 6-6 ექსპერიმენტი, სულ 60 ექსპერიმენტი, მათ შორის 30 – საკონტროლო).

<u>ცდების მე-6, ბოლო სერია</u> ჩატარდა კვლავ 6 პრეპარატზე, რომლებზეც შესწავლილი იყო ფენტონის რეაქციის, ანუ ჰიდროქსილ რადიკალების გავლენა ნიტროგლიცერინით (10^{-5} M) გამოწვეულ ბოცვერის ენის არტერიის რკალისებრი პრეპარატების რელაქსაციაზე.

2.8. მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება და კვლევის მოცულობა

მიღებული მონაცემები გლუვი დაძაბულობის დონის შესახებ გამოისახებოდა საშუალო სიდიდეებით და სტანდარტული გადახრებით. რელაქსაციური ფაქტორების მოქმედებისას საწყისი (100%) სიდიდეთ ვიღებდით პაპავერინით ($2x10^{-4}$ M) გამოწვეულ მაქსიმალური რელაქსაციის დონეს.

რაოდენობრივი მონაცემები მიღებული სულ 138 ექსპერიმენტში მუშავდებოდა სტიუდენტის t-ტესტის გამოყენებით დაწყვილებული და დაუწყვილებელი მონაცემებისათვი. სხვაობა განიხილებოდა სტატისტიკურად სარწმუნოდ, როდესაც P იყო < 0.05.

თავი მესამე

მიღებული შედეგები

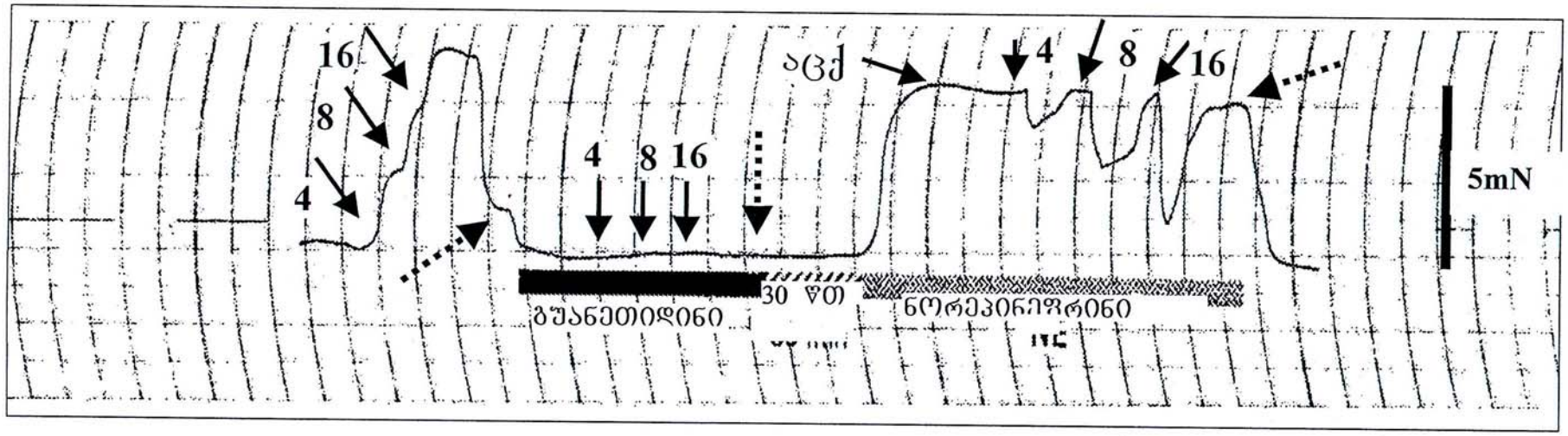
3.1. *ენდოთლიუმ-ჩამოცილებული ენის არტერიის პრეპარატების რეაქცია ელექტრულ სტიმულაციაზე*

ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული რკალისებრი სეგმენტების პრეპარატების რეაქცია ელექტრულ სტიმულაციაზე (ამპლიტუდა – 10ვ, სიხშირე – 4,8 და 16 ჰც, ხანგრძლივობა – 45 წამი) შესწავლილი იყო ნორეპინეფრინით (10^{-6} M) გააქტივებული ტონუსის არსებობის და მის გარეშე პირობებში.

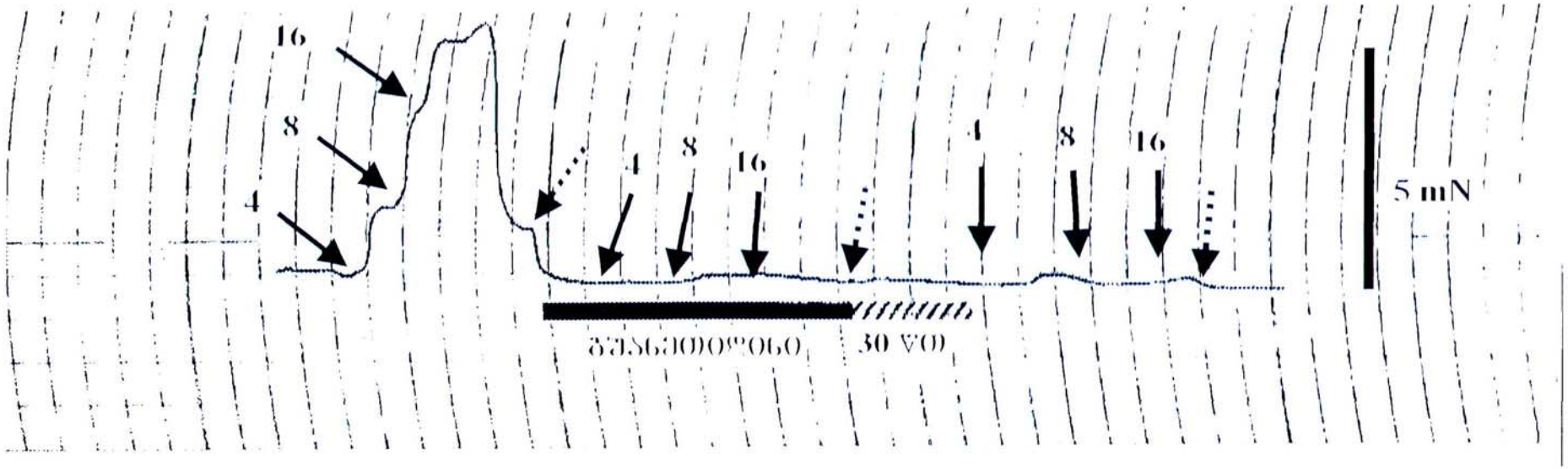
იმ პრეპარატებზე, რომლებშიც დადასტურდა ელექტრულ სტიმულაციაზე კონტრაქტურით რეაგირების თვისება, ჩატარებულ იქნა ზემოქმედება გუანეთიდინით ($5x10^{-5}$M) და ამის შემდეგ (20-წუთიანი დაყოვნებით) კვლავ იქნა გამეორებული ელექტრული სტიმულაცია. მომდევნო პროცედურა ითვალისწინებდა ხსნარიდან გუანეთიდინის გამორეცხვას და საწყისი პირობების აღდგენისათვის პრეპარატის 30-წუთიან ყოფნას რინგერ-კრებსის ნორმალურ (რაიმე დანამატების გარეშე) ხსნარში.

ელექტრული სტიმულაცია კვლავ იქნა გამოყენებული აღნიშნულ პრეპარატებზე ნორეპინეფრინით ინდუცირებული აქტიური ტონუსის (სურ. 3.1) და მის გარეშე (სურ. 3.2) პირობებში. დეენდოთელიზაციის ხარისხის კონტროლის თვალთახედვით, ელექტროსტიმულაციამდევახდენდით აცეტილქოლინით (10^{-5} M) ზემოქმედებას. სურ. 3.3-ზე წარმოდგენილია რეაქცია აცეტილქოლონზე და ადენოზინზე ($2x10^{-6}$ M), როდესაც

ენდოთელიუმი ინტაქტურია (A, B) და აღნიშნული აგენტები იწვევენ პრეპარატის ეფექტურ რელაქსაციას, ხოლო ენდოთელიუმის ჩამოცლის შემდეგ (C) – რეაქცია დათრგუნულია. საჭიროა ერთხელ



სურ. 3.1. ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული ბოცვერის ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის პრეპარატის პასუხები ელექტრულ სტიმულაციაზე (10ვ, 45 წამი, 4, 8, 16ჰც – მითითებულია შესაბამისი სიხშირეების მაჩვენებელი რიცხვებითა და ისრებით). აღნიშვნები: წყვეტილი ისრებით მითითებულია პრეპარატის გამორეცხვა; აცქ – აცეტილქოლინი.



სურ. 3.1. ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული ბოცვერის ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის პრეპარატის პასუხები ელექტრულ სტიმულაციაზე (10ვ, 45 წამი, 4, 8, 16ჰც – მითითებულია შესაბამისი სიხშირეების მაჩვენებელი რიცხვებითა და ისრებით). წყვეტილი ისრებით მითითებულია პრეპარატის გამორეცხვა. სტიმულაცია ხორციელდებოდა გუანეთიდინის შეყვანამდე, მის ფონზე და მისი გამორეცხვის შ,დეგ.

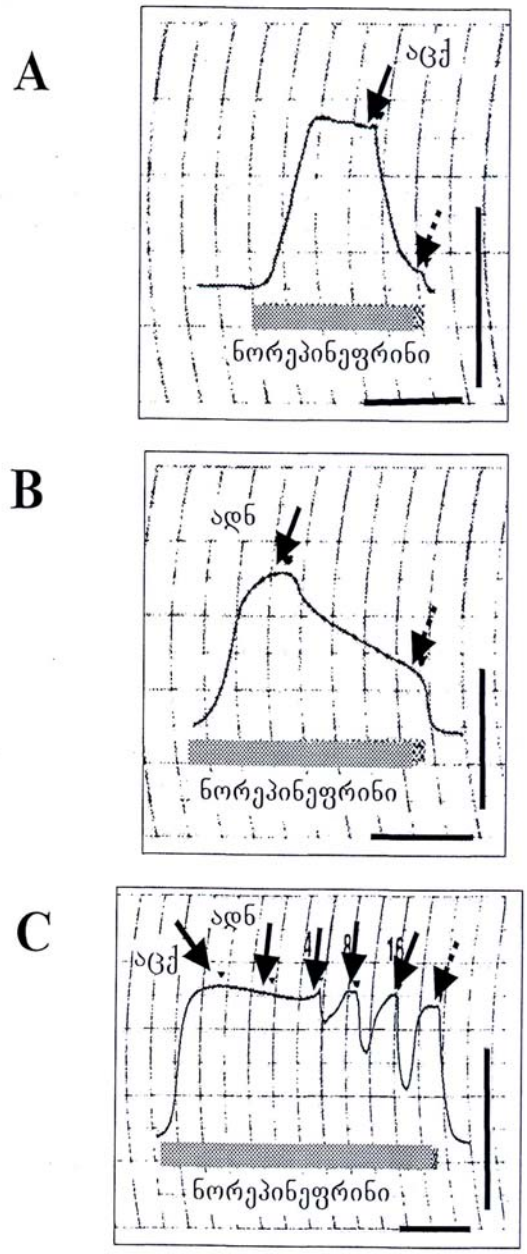
კიდევ აღინიშნოს, რომ ყველა პრეპარატი წინასწარ გადიოდა გუანეთიდინის ეფექტის შემოწმებას ელექტრულ სტიმულაციაზე (რელაქსაცია ნორეპინეფრინით გააქტივებული ტონუსის პირობებში და რეაქციის არარსებობა ასეთი ტონუსის გარეშე).

როგორც სურათები 3.1. და 3.2. მოწმობენ გუანეთიდინით ზემოქმედებიდების შემდეგ პრეპარატების გამორეცხვის და ნორმალურ ხსნარში 30 წუთიანი ყოფნის მიუხედავად, ისინი არ რეაგირებენ ელექტრულ სტიმულაციაზე თუ მათი ტონუსი არ არის წინასწარ გააქტივებული ნორეპინეფრინით, ხოლო ამ უკანასკნელ შემთხვევაში პრეპარატი რეაგირებს რელაქსაციით და რელაქსაციის ამპლიტუდა დამოკიდებულია ელექტროგაღიზიანების სიხშირეზე.

3.2. *ატროპინის, პროპრანოლოლის და ნიტრო L-არგინინ მეთილ ესტერის (L-NAME) ეფექტი ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე*

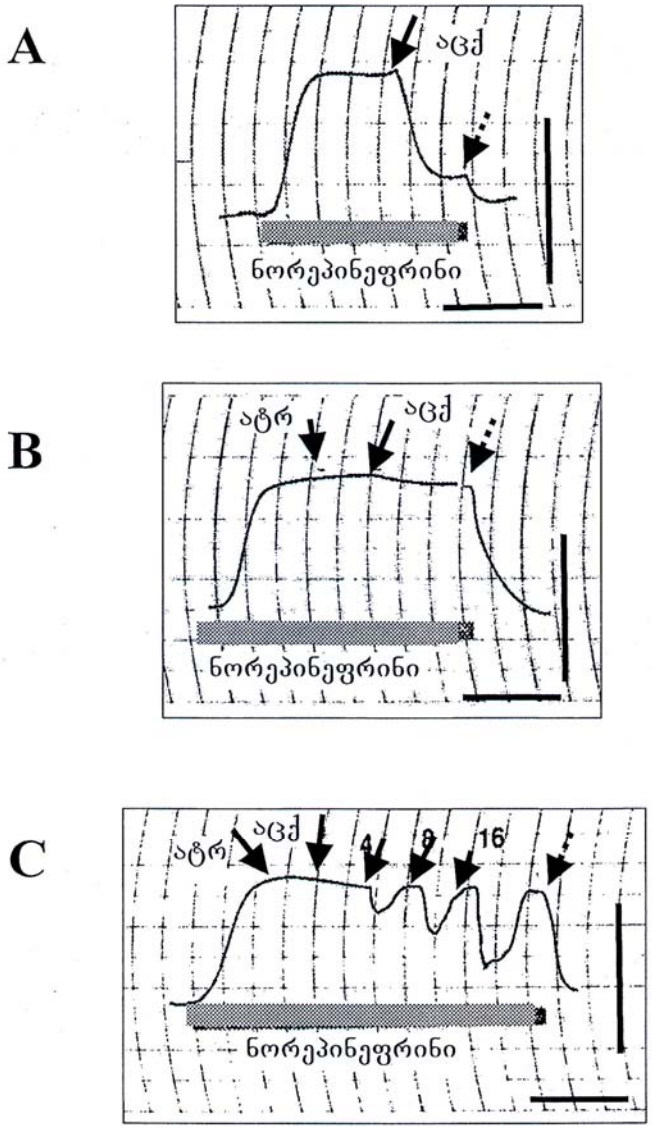
იმ პრეპარატებზე, რომლებიც ნორეპინეფრინით ზემოქმედების შემდეგ იძლეოდნენ ტონუსის სტაბილურ მატებას, ელექტრულ სტიმულაციამდე 10 წუთის განმავლობაში ხორციელდებოდა ატროპინით (10^{-5} M) ან პროპრანოლოლით (10^{-5} M) ზემოქმედება. 4-16 ჰერცის სიხშირით სტიმულციამ გამოავლინა ატროპინ და პროპრანოლოლ რეზისტენტული რელაქსაცია, როგორც ენდოთელიუმ ინტაქტურ (სურ. 3.4.) ისე ენდოთელიუმ ჩამოცილებულ (სურ. 3.5.) პრეპარატებში. მიღებული რელაქსაციური ეფექტი, გამოხატული პაპავერინით ($2x10^{-4}$ M) ინდუცირებული

მაქსიმალური რელაქსაციის პროცენტებში, მოცმულია მომდევნო ცხრილში (NI). ტესტურ ზემოქმედებას პაპავერინით ვახდენდით ექსპერიმენტის დასასრულს. როგორც ეს



სურ. 3.3. ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ინტაქტური (A,B) და ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული (C), ნორეპინეფრინით გააქტივებული პრეპარატების რეაქცია აცეტილქოილინზე (აცქ) და

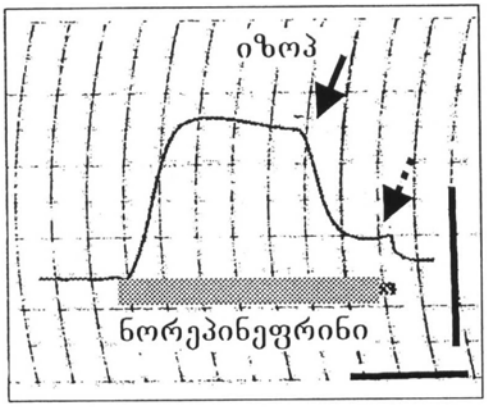
ადენოზინზე (ადნ). აღნიშვნები: 4, 8, 16 – ელექტრული გაღიზიანების სიხშირე; წყვეტილი ისრებით – პრეპარატის გამორეცხვა, ჰორიზონტალური სქელი ხაზი – 30 წუთი, ვერტიკალური – 5mN.



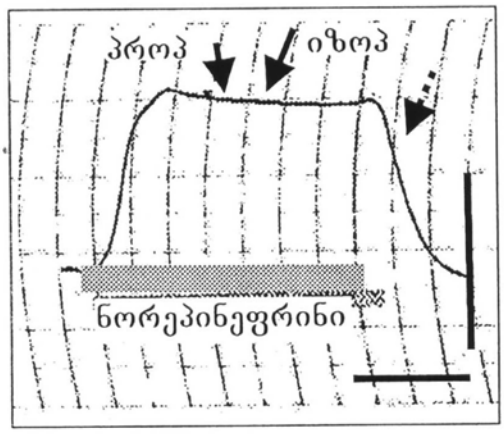
სურ. 3.4. ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ინტაქტური, ნორეპინეფრინით გააქტივებული პრეპარატების რეაქცია აცეტილქოლნზე (აცქ) და ატროპინზე (ატრ). აღნიშვნები: 4, 8, 16 –

ელექტრული გაღიზიანების სიხშირე; წყვეტილი ისრებით – პრეპარატის გამორეცხვა, ჰორიზონტალური სქელი ხაზი – 30 წუთი, ვერტიკალური – 5mN.

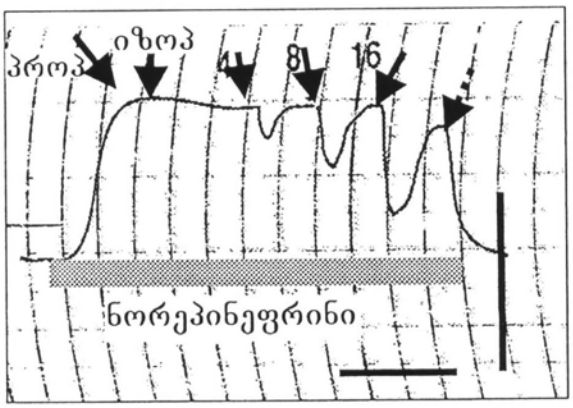
A



B



C



სურ. 3.5. ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული, ნორეპინეფრინით გააქტივებული პრეპარატების რეაქცია იზოპროტერენოლზე (იზოპ) და პროპრანოლოლზე (პროპ). აღნიშვნები: 4, 8, 16 – ელექტრული გაღიზიანების სიხშირე; წყვეტილი ისრებით – პრეპარატის გამორეცხვა, გორიზონტალური სქელი ხაზი – 30 წუთი, ვერტიკალური - 5mN.

ცხრილი3.1.

ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ინტაქტური და ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული რკალისებრი სეგმენტების პრეპარატების რელაქსაციური რეაქცია (პაპავერინით გამოწვეული მაქსიმალური რელაქსაციის პროცენტებში) სხვადასხვა სიხშირით ელექტრული გაღიზიანების სიხშირე (ჰც)

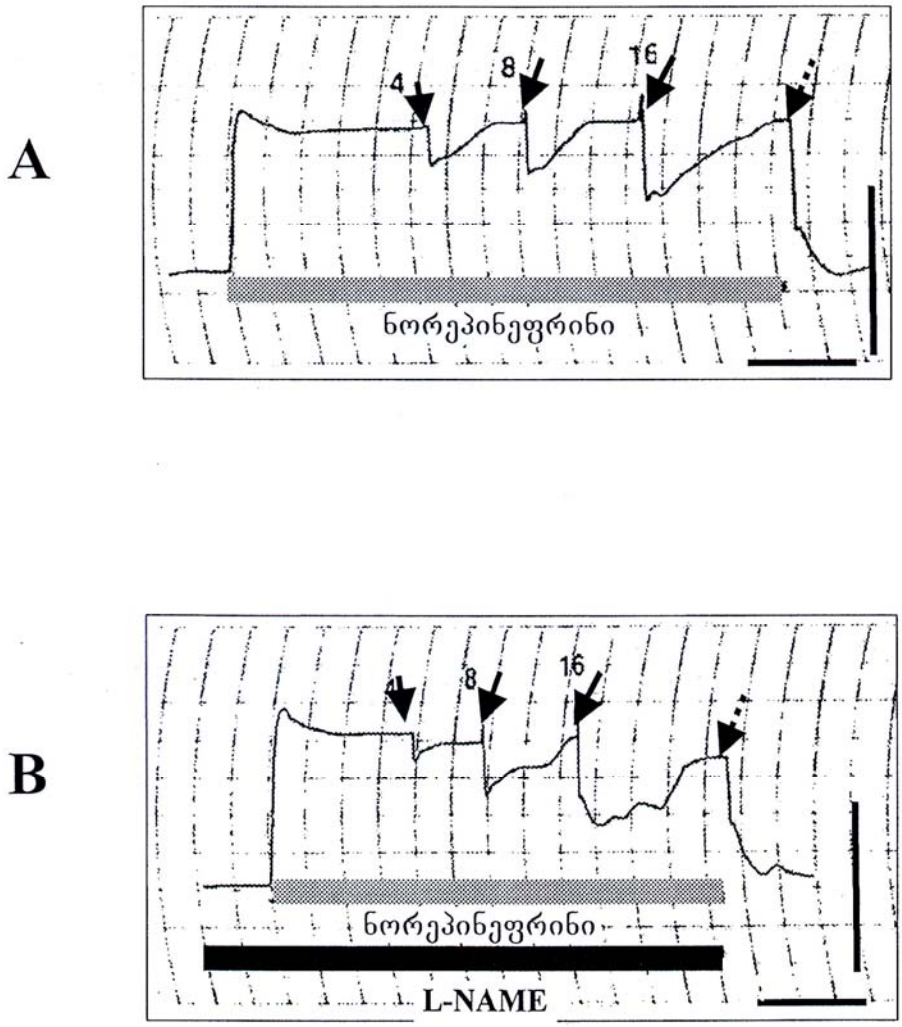
ენდოთელიუმ-ინტაქტური პრეპარატი			ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული პრეპარატი		
	ზემოქმედება		ზემოქმედება		
	კონტროლი	ატროპინი	კონტროლი	კაპსაიცინი	პროპრანოლოლი
4	45.4±6.2	45.5±8.5	46.6±7.2	9.5±3.3	44.2±6.2
8	53.5±8.2	57.6±4.2	57.7±6.6	17.5±6.6	56.6±5.6
16	70.1±4.3	70.6±6.6	71.3±7.2	17.3±9.5	71.2±4.4

მონაცემები მოწმობენ ელექტროსტიმულაციით გამოწვეული ენის არტერიის პრეპარატების რელაქსაციური რეაქცია არის ენდოთელიუმ დამოუკიდებელი. უფრო მეტიც, ასევე არ იქონია რაიმე გავლენა დეენდოთელიზირებული პრეპარატების რელაქსაციურ რეაქციაზე ელექტრული სტიმულაციის საპასუხოდ L-NAME-ს (10^{-4} M) გამოყენებამ (სურ. 3.6). თუმცა ინტაქტური ენდოთელიუმის შემთხვევაში, პრეპარატებში, რომლებიც მნიშვნელოვანი რელაქსაციით რეაგირებენ აცეტილქოლინზე, L-NAME იგივე დოზებში იწვევს ამ რეაქციის ბლოკირებას (სურ. 3.7).

3.3. *კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის (CGRP) და მისი რეცეპტორების ანტაგონისტის (CGRP – 8-37) ეფექტი ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე.*

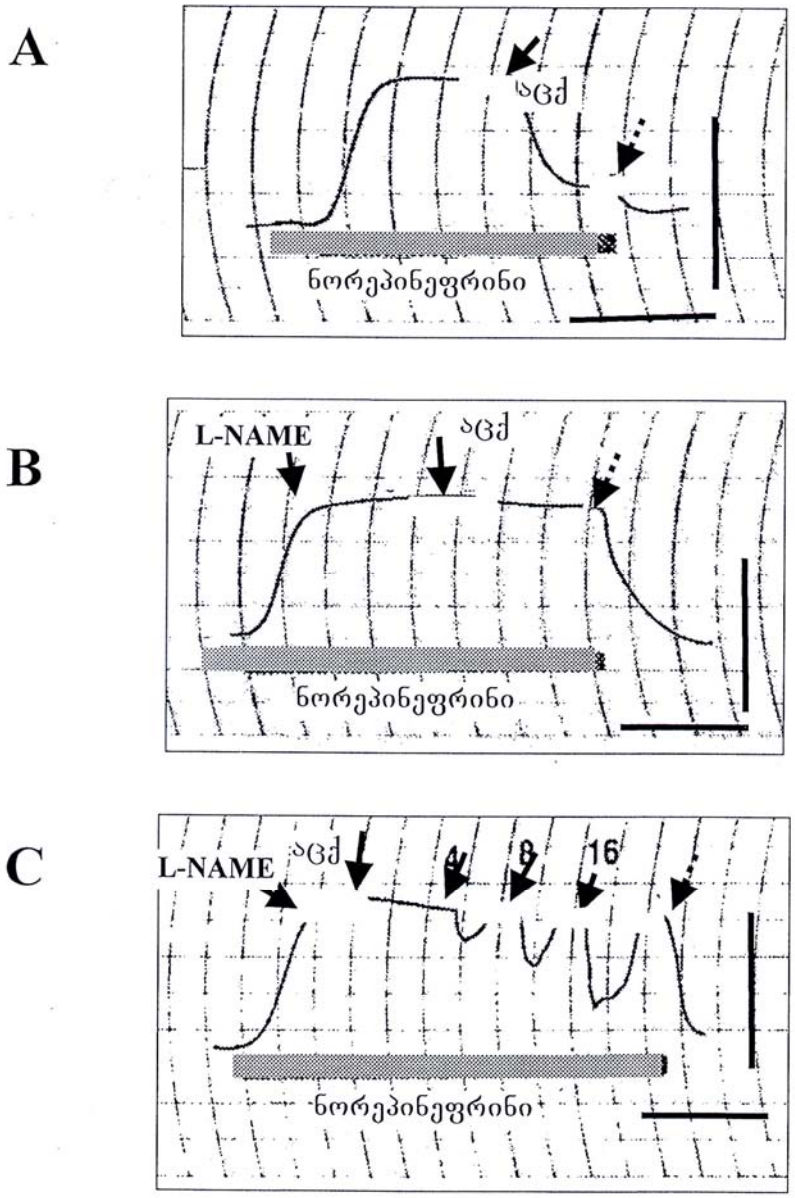
ცდების მომდევნო სერიაში ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის დეენდოთელიზირებულ პრეპარატებზე გუანეთიდინის ეფექტის დადასტურების შემდეგ გამოვიყენეთ კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის (CGRP) რეცეპტორების ანტაგონისტის (CGRP – 8-37) ეფექტი ელექტროსტიმულაციით და თვით კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდით გამოწვეულ პრეპარატების რელაქსაციაზე. CGRP – 8-37 კონცენტრაციით $2x10^{-8}$M ნორეპინეფრინის შეყვანამდე 30 წუთით ადრე ემატებოდა რინგერ-კრებსის ხსნარში. სხვადასხვა სიხშირის ელექტროსტიმულაციით მიღებული შედეგები წარმოდგენილია სურ.

3.7. რელაქსაციური რეაქცია გამოხატულია პაპავერინით ($2x10^{-4}$M) გამოწვეული მაქსიმალური რელაქსაციის პროცენტის სახით.



სურ. 3.6. ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული, ნორეპინეფრინით გააქტივებული პრეპარატების რეაქცია ელექტრულ გაღიზიანებაზე საკონტროლო (A) ცდებში და L-

NAME-ს ფონზე (B). აღნიშვნები: 4, 8, 16 – ელექტრული გაღიზიანების სიხშირე; წყვეტილი ისრებით – პრეპარატის გამორეცხვა, ჰორიზონტალური სქელი ხაზი – 30 წუთი, ვერტიკალური – 5mN.



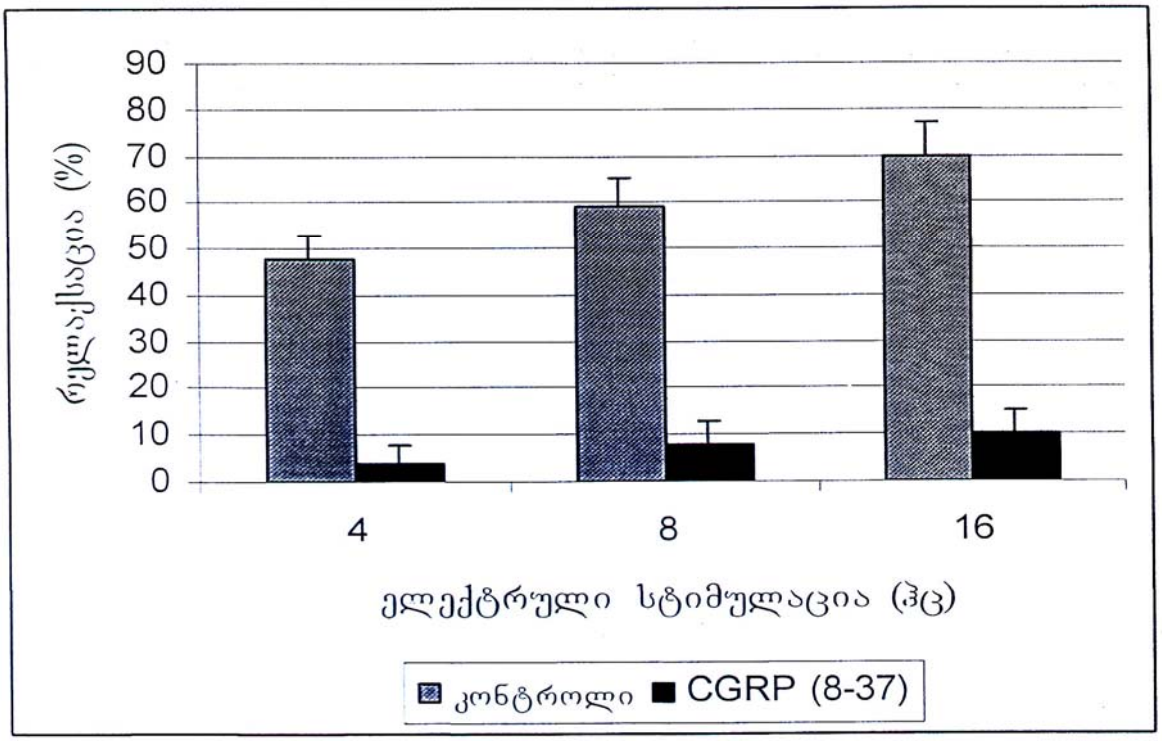
სურ. 3.7. ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ინტაქტური, ნორეპინეფრინით გააქტივებული პრეპარატების რეაქცია (A)

აცეტილქოლინზე (აცქ); (B) – იგივე L-NAME-ს დამატების შემდეგ; (C) – რეაქცია ელექტრულ გაღიზიანებაზე L-NAME-სა და აცეტილქოლინის შეყვანის შემდეგ. აღნიშვნები: 4, 8, 16 – ელექტრული გაღიზიანების სიხშირე; წყვეტილი ისრებით – პრეპარატის გამორეცხვა, ჰორიზონტალური სქელი ხაზი 30 წუთი, ვეტიკალური – 55mN.

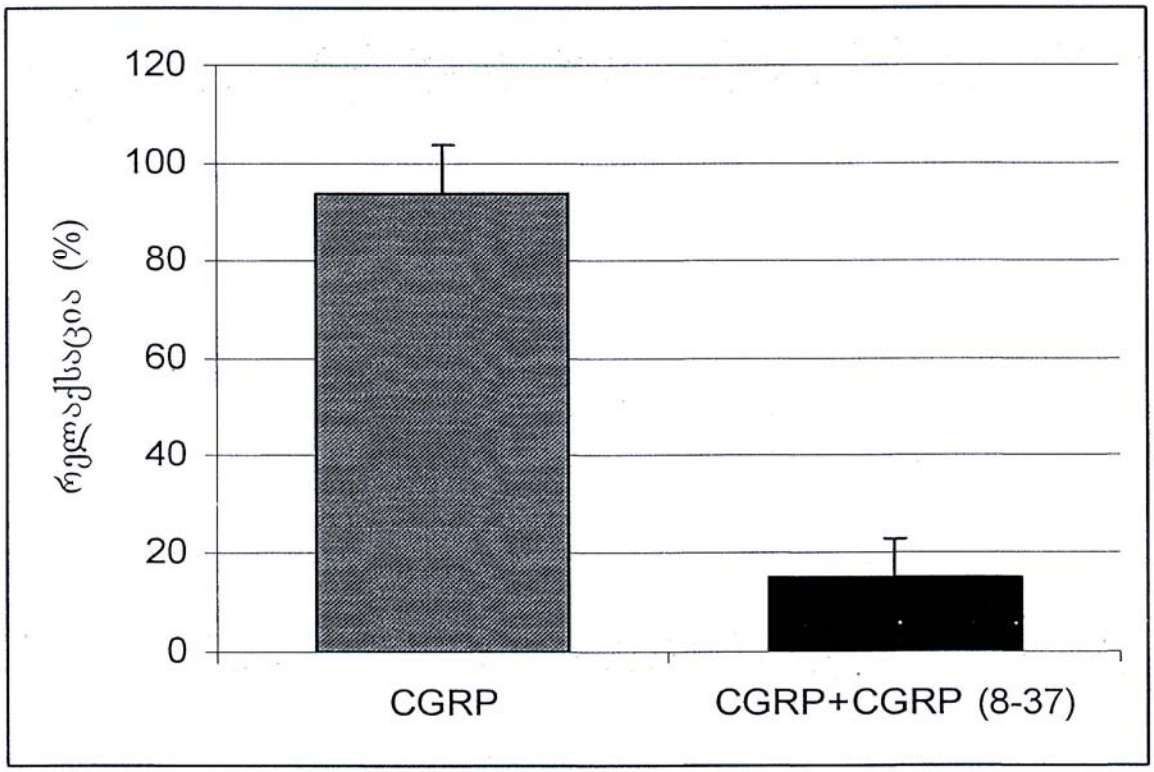
მიღებული შედეგები ნათლად მოწმობს, რომ ელექტროსტიმულაციით გამოწვეული ენის არტერიის პრეპარატის რელაქსაცია განპირობებული უნდა იყოს კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის მოქმედებით. ამ მოსაზრებას დამატებითი მტკიცებულება მიღებული იქნა შემდეგ ცდებში. სურ. 3.9-ზე წარმოდგენილი მონაცემებიდან ჩანს, რომ CGRP-თ (10^{-8} M) ჯერ ერთი, მიღწევა 90%-ზე მაღალი რელაქსაცია და მეორეც ის, რომ იგი მკვეთრად ითრგუნება თუ ამ პეპტიდის რეცეპტორების ანტაგონისტს (აღნიშნული კონცენტრაციით) ნორეპინეფრინის შეყვანამდე დავამატებთ რინგერ-კრებსის ხსნარს. ამრიგად CGRP- 8-37 თრგუნავს არა მარტო ელექტრული სტიმულაციით ინდუცირებულ ნეიროგენურ რელაქსაციას, არამედ CGRP-ს ეგზოგენურ დამატებაზე აღმოცენებულ რელაქსაციასაც ენდოთელიუმ ჩამოცილებულ ბოცვერის ენის არტერიის რკალისებრ სეგმენტებში. ამავე დროს აღნიშნული პრეპარატი არ იწვევს რაიმე ცვლილებას იზოპროტერენოლით (10^{-6} M) გამოწვეულ რელაქსაციურ პასუხებში (სურ. 3.10).

ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის ელექტროსტიმულაციის დროს მიღებული რელაქსაციის ბუნების შემდგომი დაზუსტების მიზნით გამოვიყენეთ ამ პრეპაატების წინასწარი, 30-წუთიანი

დამუშავება კაპსაიცინით (10^{-6} M). როგორც ცხრილ 3.1.-ში მოტანილი მინაცემები აჩვენებენ, აღნიშნულის შედეგად ელექტროსტიმულაციით გამოწვეული რელაქსაცია მნიშვნელოვნად შემცირდა. კაპსაიცინის მნიშვნელოვანი დამთრგუნველი ეფექტი ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე და დათრგუნვის სრული მოხსნა CGRP-ის დამატების შემთხვევაში კარგად ჩანს სურ. 3.11. აქედანვე ნათელია, რომ ელექტროსტიმულაციაზე



სურ. 3.8. CGRP-რეცეპტორების ანტაგონისტის (CGRP-(8-37) ეფექტი ბოცვერის ენის არტერიის ნორეპინეფრინით გაქტივებული პრეპარატის რეაქციაზე (პროცენტებში, 100%-ად აღებულია პაპავერინით გამოწვეული მაქსიმალური რელაქსაცია) ელექტრულისტიმულაციის საპასუხოდ.



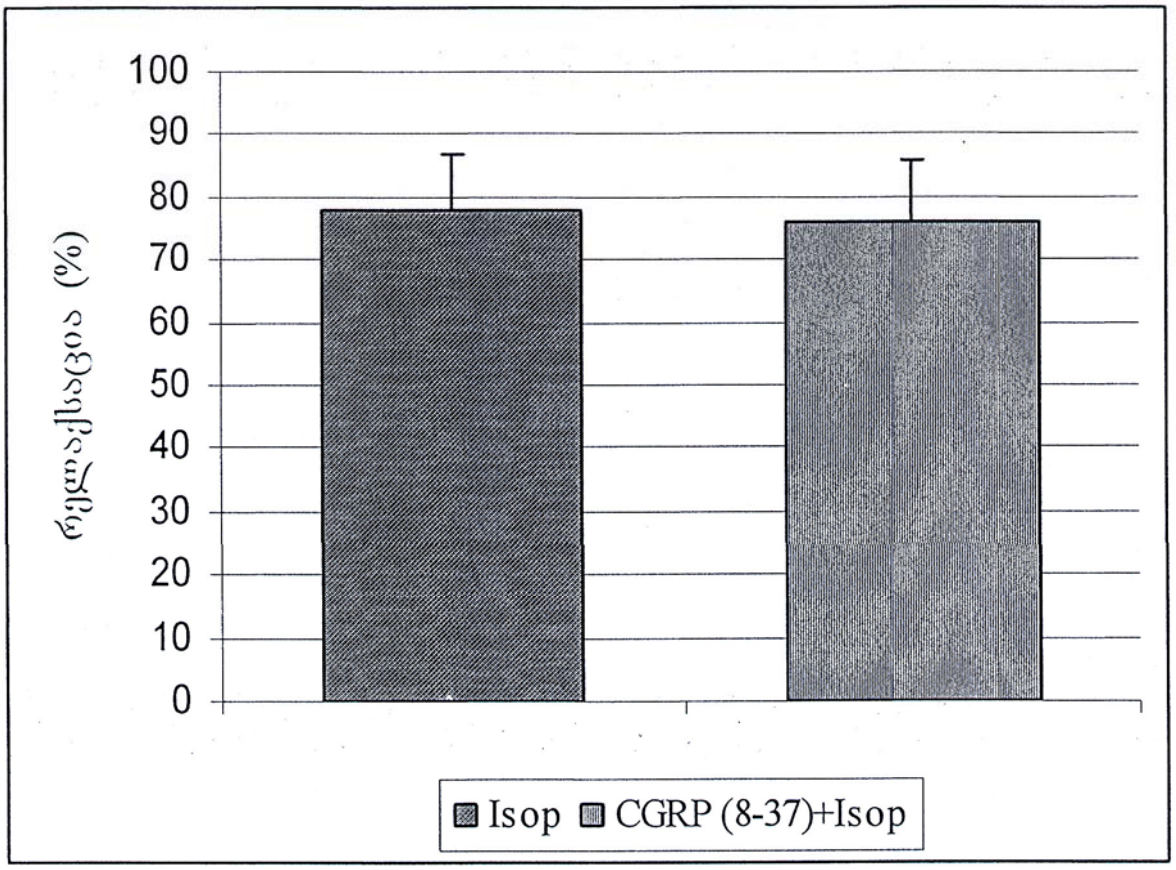
სურ. 3.9. CGRP-რეცეპტორების ანტაგონისტის (CCRP – (8-37) ეფექტი ბოცვერის ენის არტერიის ნორეპინეფრინით გაქტივებული პრეპარატის რელაქსაციაზე, რომელიც მიღებული იყო ეგზოგენური CGRP-ს შეყვანის საპასუხოდ (პროცენტებში, 100%-ად აღებულია პაპავერინით გამოწვეული მაქსიმალური რელაქსაცია)

რეაქციის დათრგუნვა გამოიწვია კაპსაიცინის მიერ CGRP-ს გამოფიტვამ.

3.4. *თავისუფალი რადიკალების გავლენა ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე.*

ცნობილია, რომ ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების ძირითადი ეფექტი ვაზოდილატაცია არის (Lamb, Webb, 1984), მაგრამ მათ შეუძლიათ აგრეთვე გამოიწვიონ ვაზოკონსტრიქციაც (Rubanyi, 1988). ადრე ნაჩვენები იყო, რომ ჰიდროქსილ რადიკალებით გამოწვეული ენდოთელური დაზიანება თრგუნავს ენდოთელიუმ-დამოკიდებული რელაქსაციური ფაქტორის როგორც პროდუცირებას, ისე მისი მოქმედების ეფექტურობას (Todoki et al., 1992). გარკვეულია, რომ თავისუფალი რადიკალების ჭარბი პროდუცირება არღვევს ვაზოდილატაციურ ფუნქციას, რაც ხელსაყრელ პირობას ქმნის ვაზოკონსტრიქტორული სტიმულის ეფექტურობის მატებისთვის. სისხლძარღვის კედელში გენერირებულ თავისუფალ რადიკალებს შეუძლიათ მოახდინონ როგორც უშუალო ზემოქმედება გლუვკუნთოვან უჯრედებზე, ისე გავლენა იქონიონ ენდოთელურ უჯრედებში ფორმირებად ბიოლოგიურად აქტიურ ენდოგენურ ვაზოაქტიურ მედიატორებზე.

გამომდინარე ზემოთქმულიდან ჩვენ შევისწავლეთ თავისუფალი რადიკალების შესაძლო გავლენა ენის არტერიის კალციტონინის გენთან დაკავშირბული პეპტიდით გამოწვეულ რელაქსაციურ რეაქციაზე, რისთვისაც გამოყენებული იყო კარგად ცნობილი ფენტონის რეაქცია.

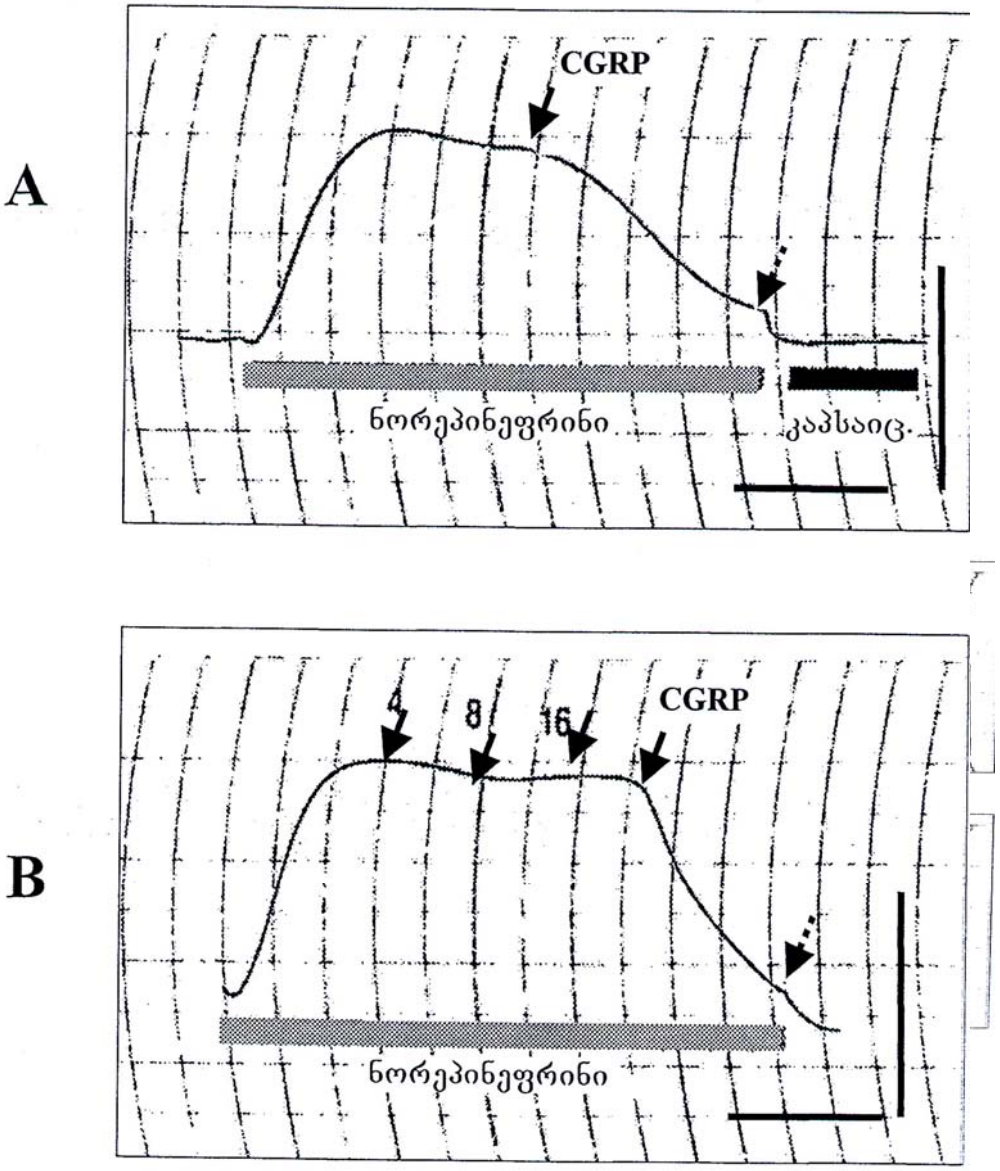


სურ. 3.10. CGRP-რეცეპტორების ანტაგონისტის (CGRP-(8-37) ეფექტი ბოცვერის ენის არტერიის ნორეპინეფრინით გაქტივებული პრეპარატის რელაქსაციაზე, რომელიც მიღებული იყო ეგზოგენური იზოპროტერენოლის (Isop) შეყვანის საპასუხოდ (პროცენტებში, 100%-ად აღებულია პაპავერინით გამოწვეული მაქსიმალური რელაქსაცია).

გაირკვა, რომ ელექტროსტიმულაციით გამოწვეული ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტების რელაქსაცია ნორეპინეფრინით მიღებული სტაბილური ტონუსის პირობებში სრულად ითრგუნება თუ პრეპარატზე წინასწარ ვიმოქმედებთ $H_2O_2/FeSO_4$-თ (სურ. 3.11).

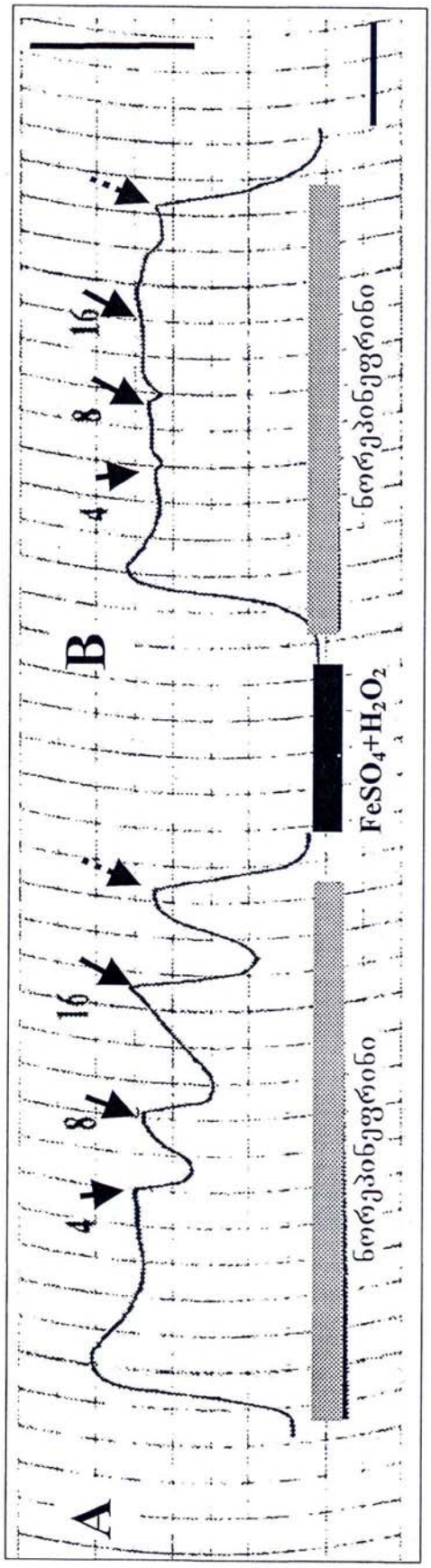
აღნიშნული დამთრგუნველი ეფექტის ფორმირებაში ჰიდროქსილ რადიკალების როლის გარკვევის მიზნით ჩვენ გამოვიყენეთ HO¯ს ისეთი ძლიერი სკავენჯერი როგორიცაა დიმეთილსულფოქსიდი (DMSO). ამ აგენტისა და ფენტონის რეაქციის (და მისი შემადგენელი კომპონენტების) გავლენა ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ ჩამოცლილი რკალისებრი სეგმენტის რელაქსაციურ რეაქციაზე სხვადასხვა სიხშირით ელექტროსტიმულაციის პირობებში მოყვანილია ცხრილში 3.2. როგორც ამ ცხრილში აღრიცხული მინაცემებიდან ჩანს, DMSO ეფექტურად იცავს პრეპარატის რელაქსაციურ რეაქციას $H_2O_2/FeSO_4$-ს დამთრგუნველი გავლენისაგან, რაც მოწმობს იმაზე, რომ სისხლძარღვის პრეპარატის რეაქციის ინჰიბირებაში ფენტონის რეაქციის შედეგად გენერირებული ჰიდროქსილ რადიკალები არის ჩართული.

ჩვენ ზემოთ უკვე აღვნიშნეთ კაპსაიცინის ზემოქმედებით გამოწვეული ენის არტერიეს რკალისებრი სეგმენტების რელაქსაციური რეაქციის დათრგუნვა ელექტროსტიმულაციის პირობებში. ცდების ამ სერიაში ჩვენ კვლავ გავიმეორეთ კაპსაიცინით ზემოქმედება, რომლითაც ამჯერად ჩავანაცვლეთ ფენტონის რეაქციის კომპონენტები. თუ შევადარებთ მიღებულ შედეგს (სურ. 13) დავინახავთ დიდ მსგავსებას კაპსაიცინისა და ჰიდროქსილ რადიკალების ეფექტებს შორის. ეს უკანასკნელი გვაძლევს საშუალებას ვიფიქროთ, რომ ჰიდროქსილ რადიკალები შესსაძლოა აზიანებენ კაპსაიცინ-მგრძნობიარე ნერვებს და ამ გზით



სურ. 11. ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული, ნორეპინეფრინით გააქტივებული პრეპარატების რეაქცია ეგსოგენური CGRP-ს შეყვანაზე კაპსაცინის მომდევნო დამატებით (A); კაპსაიცინის შეყვანიდან 30 წუთის შემდეგ (B) იგივე პრეპარატის რეაქცია სხვადასხვა სიხშირის ელექტრულ სტიმულაციაზე და CGRP-ს შეყვანაზე. აღნიშვნები: 4, 8, 16 – ელექტრული გაღიზიანების სიხშირე; წყვეტილი ისრებით –

პრეპარატის გამორეცხვა, ჰორიზონტალური სქელი ხაზი – 30 წუთი, ვერტიკლური – 5mN.



სურ. 12. ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული, ნორეპინეფრინით გაქტივებული პრეპარატების რეაქცია ელექტრულ გალიზიანებაზე საკონტროლო (A) ცდებში და იგივე ჰიდროქსილ რადიკალებით 40-წუთიანი ზემოქმედების შემდეგ (B). ალნიშვნები: 4, 8, 16 – ელექტრული გალიზიანების სიხშირე; წყვეტილი ისრებით – პრეპარატის გამორეცხვა, ჰორიზონტალური სქელი ხაზი – 30 წუთი, ვერტიკალური - 5Mn.

ცხრილი 3.2.

ფენტონის რეაქციის და ჯანგბადის თავისუფალი რადიკალების სკავენჯერის გავლენა ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული რკალისებრი სეგმენტების სხვადასხვა სიხსირის ელექტრული სტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციურ რეაქციაზე

დანამატი რინგერ-კრებსის ხსნარში	დოზა	რელაქსაცია (პაპავერინით ($2x10^{-4}$ M) გამოწვეული მაქსიმალური რელაქსაციის პროცენტებში)					
		4ჰც		8ჰც		16ჰც	
		კონტროლი	ზემოქმედების შემდეგ	კონტროლი	ზემოქმედების შემდეგ	კონტროლი	ზემოქმედების შემდეგ
-	-	37.5±6.5	30.6±5.2	52.6±8.6	45.9±6.6	81.2±8.3	73.5±7.8
H_2O_2	$3x10^{-4}$ M	25.9±9.2	26.8±7.3	41.3±7.9	41.2±8.2	74.4±6.5	70.2±8.6
$FeSO_4$	$2x10^{-4}$ M	28.5±7.8	29.0±3.9	50.7±5.9	46.6±4.4	84.4±8.9	71.6±5.1
H_2O_2+$FeSO_4$		38.2±7.5	8.7±3.1	56.0±9.9	14.5±5.2	82.8±9.1	20.1±3.5
DMSO	100mM	27.8±8.2	28.4±7.6	46.7±9.5	47.3±9.5	75.4±8.5	72.1±8.8

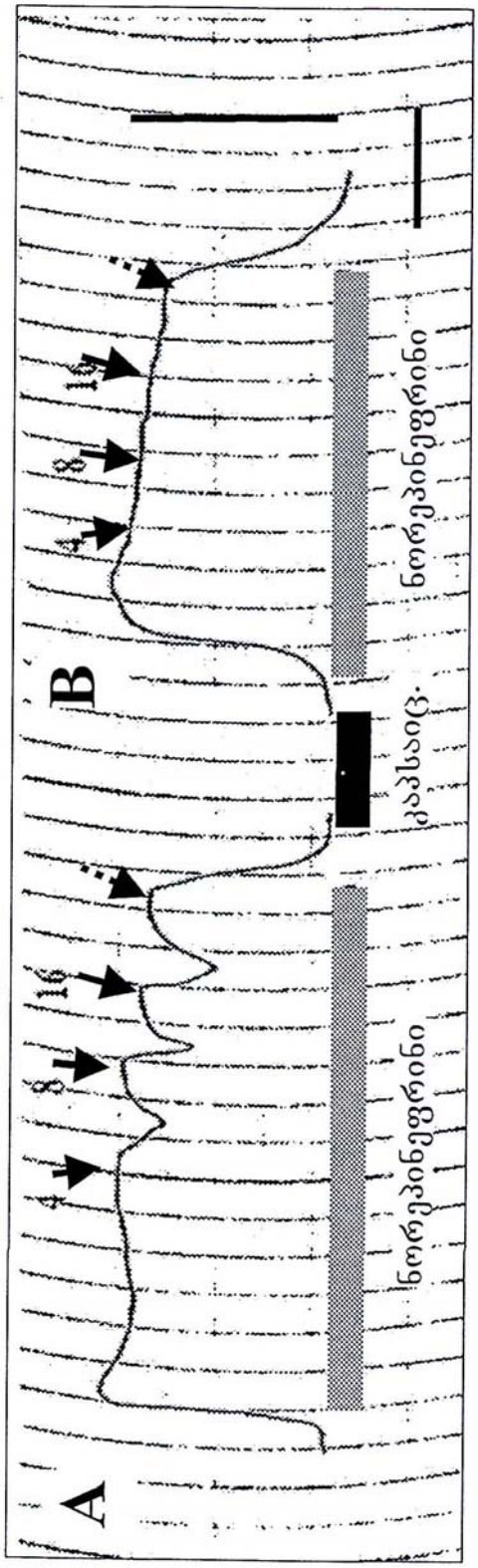
მოქმედებენ კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდით განპირობებული ენის არტერიის პრეპარატის რელაქსაციურ რეაქციაზე.

3.4. *თავისუფალი რადიკალების გავლენა ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდით გამოწვეულ რელაქსაციაზე.*

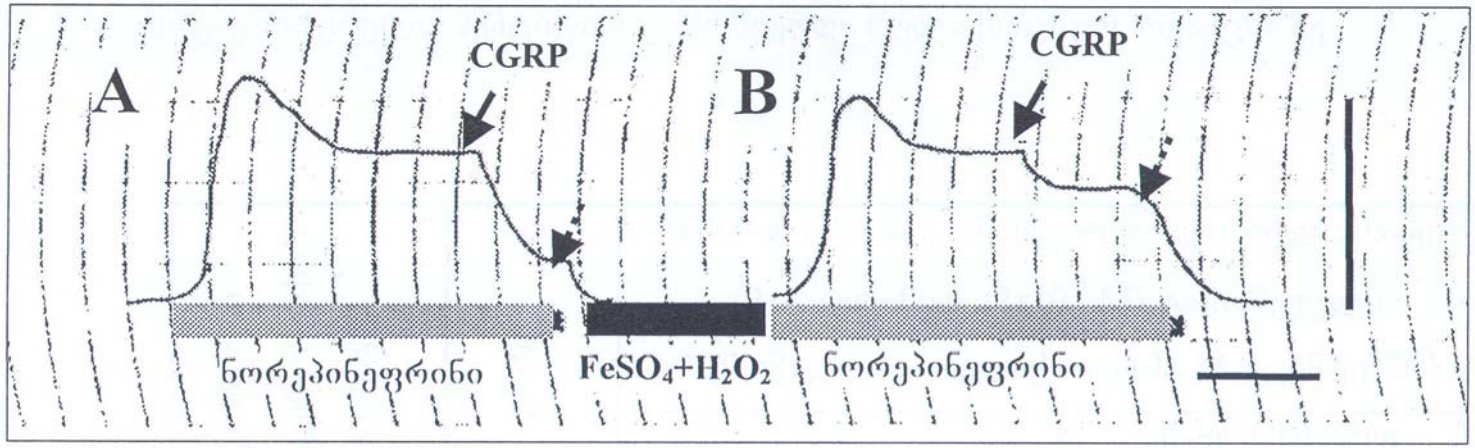
ცდების შემდეგ სერიაში ჩვენ შევეცადეთ გაგვერკვია თუ რა გავლენას ახდენს ჰიდროქსილ რადიკალები ეგზოგენურად შეყვანილი CGRP-თ ინდუცირებულ ბოცვერის ენის არტერიის რკალისებრი სეგმენტის რელაქსაციურ რეაქციაზე. მე-3.14 სურათზე წარმოდგენილია ექვსი ცდის ტიპიური შედეგი. კერძოდ, ნორეპინეფრინით გააქტივებული ტონუსის მქონე პრეპარატი განიცდის მნიშვნელოვან რელაქსაციას კალციტონინს გენთან დაკავშირებული პეპტიდის (CGRP) შეყვანის შემდეგ, ხოლო $H_2O_2/FeSO_4$-თ ზემოქმედების შემდეგ პრეპარატის პასუხი იგივე დოზით შეყვანილ CGRP-ზე მნიშვნელოვნად იქნა დათრგუნული. ასეთივე ტიპის და უფრო მკვეთრად გამოხატული რელაქსაციური პასუხის ინჰიბირება ჩვენ მივიღეთ CGRP რეცეპტორების ანტაგონისტის CGRP (8-37) ნორეპინეფრინის შეყვანამდე რინგერ-კრებსის ხსნარში 30 წუთით ადრე დამატების შემთხვევაში (სურ. 3.15)

ჰიდროქსილ რადიკალების მაინჰიბირებელი ეფექტი კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდით გამოწვეულ

რელაქსაციურ რეაქციაზე მნიშვნელოვანწილად ბლოკირდება ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების სკავენჯერის დიმეთილსულფოქსიდის (DMSO) გამოყენების შემთხვევაში. ცდების ასეთი სერიის შედეგები წარმოდგენილია ცხრილში 3.3.



სურ. 3.13. ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული, ნორეპინეფრინით გაქტივებული პრეპარატების რეაქცია ელექტრულ გაღიზიანებაზე საკონტროლო (A) ცდებში და იგივე კაპსაიცინით 30-წუთიანი ზემოქმედების შემდეგ (B). აღნიშვნები: 4, 8, 16 – ელექტრული გარიზიანების სიხშირე; წყვეტილი ისრებით – პრეპარატის გამორეცხვა, ჰორიზონტალური სქელი ხაზი – 30 წუთი, ვერტიკალური - 5mN.



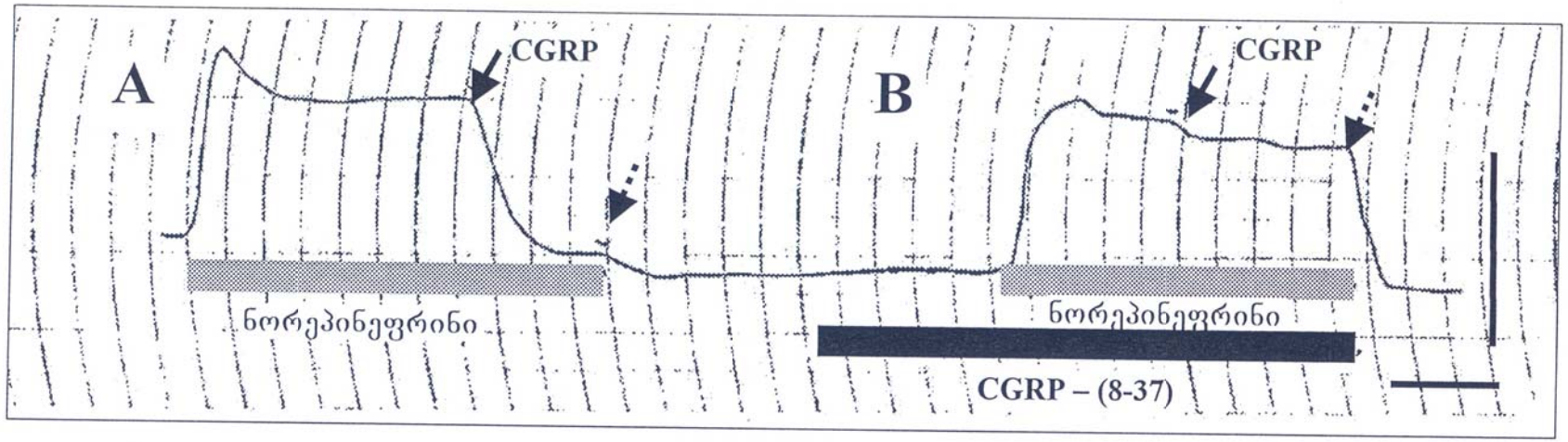
სურ. 3.14. ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული, ნორეპინეფრინით გააქტივებული პრეპარატების რეაქცია ენდოგენური CGRP-ზე საკონტროლო (A) ცდებში და იგივე ჰიდროქსილ რადიკალებით 40-წუთიანი ზემოქმედების შემდეგ (B). აღნიშვნები: წყვეტილი ისრებით – პრეპარატის გამირეცხვა, ჰორიზონტალური სქელი ხაზი – 30 წუთი, ვერტიკალური - 5mN.

ცხრილი 3.3.

ფენტონის რეაქციის და ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების სკავენჯერის გავლენა ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული რკალისებრი სეგმენტების კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდით გამოწვეულ რელაქსაციურ რეაქციაზე

დანამატი რინგერ-კრებსის ხსნარში	დოზა	CGRP-თ (10^{-8} M) ინდუცირებული რელაქსაცია (პაპავერინით ($2x10^{-4}$ M) გამოწვეული მაქსიმალური რელაქსაციის პროცენტებში)	
		კონტროლი	ექსპერიმენტული ზემოქმედება
-	-	90.7 ± 8.2	92.3 ± 4.4
H_2O_2	$3x10^{-4}$ M	93.1 ± 6.1	89.7 ± 5.4
$FeSO_4$	$2x10^{-4}$ M	82.3 ± 5.2	93.2 ± 6.1
H_2O_2+$FeSO_4$		80.1 ± 7.8	19.4 ± 3.9
DMSO	100mM	84.2 ± 9.9	81.8 ± 9.5

ცდების მომდევნო სერიაში (6 ექსპერიმენტი) შემოწმებული იყო ჰიდროქსილ რადიკალების მოქმედების გავლენა ნორეპინეფრნით გააქტივებული ტონუსის მქონე ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული რკალისებრი სეგმენტების ნიტროგლიცერინით გამოწვეულ რელაქსაციაზე. ცნობილია, რომ ნიტროვაზოდილატატორები მოქმედებენ სენსორულ ბოჭკოებზე და ათავისუფლებენ CGRP-ს, რომელიც შემდგომ დიფუზიის გზით აღწევს სისხლძარღვის გლუვ კუნთს, ააქტივებს ხსნად გუანილატ ციკლაზას და იწვევს სისხლძარღვის დილატაციას (Wei et al., 1992). ასეთი ტიპის მექანიზმის არსებობა ჩვენს მიერ შემოწმებული იქნა ბოცვერის ენის არტერიის პრეპარატზე. ცდების შედეგი წარმოდგენილია სურ. 3.16. ნიტროგლიცერინით (10^{-5}M) გამოწვეული რელაქსაცია უცვლელი იყო მიუხედავად იმისა, რომ CGRP-ს მარაგი შემცირებულ იქნა ჰიდროქსილ რადიკალების წინასწარი ზემოქმედებით, რაც უნდა მიუთითებდეს იმაზე, რომ თავისუფალი რადიკალები არ უნდა არღვევდნენ გუანილატ ციკლაზაზე დამოკიდებულ ენის არტერიის დილატაციურ მექანიზმის ფუნქციონირებას.



სურ. 3.15. ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული, ნორეპინეფრინით გააქტივებული პრეპარატების რეაქცია ენდოგენურ CGRP-ზე საკონტროლო (A) ცდებში და იგივე CGRP-რეცეპტორების ანტაგონისტის CGRP – (8-37) ზემოქმედების ფონზე (B). აღნიშვნები: წყვეტილი ისრებით – პრეპარატის გამორეცხვა, ჰორიზონტალური სქელი ხაზი – 30 წუთი, ვერტიკალური – 5mN.

თავი მეოთხე

შედეგების განხილვა

მიღებული შედეგების ანალიზი გვიჩვენებს, რომ კალციტონინის გენთან დაკავსირებული პეპტიდი (CGRP) იწვევს ბოცვერის ენის არტერიის მნიშვნელოვან რელაქსაციას და რომ იგი განპირობებული უნდა იყოს CGRP რეცეპტორების აქტივაციით. ამასთან ერთად უნდა აღინიშნოს, რომ თუმცა აღიარებულია, რომ აზოტის ოქსიდი და მასთან დაკავშირებული კომპონენტები თამაშობენ მნიშვნელოვან როლს ინფორმაციის გადაცემაში ნერვული სისტემიდან სისხლძარღვოვან გლუვ კუნთებზე, როგორც პირველადი მესენჯერები (Toda, Okamura, 1990), ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები ბოცვერის ენის არტერიის შემთხვევაში არ ადასტურებენ ამ მოსაზრებას და, როგორც უკვე ითქვა, რელაქსაციის მთავარ მექანიზმად აღნიშნული სისხლძარღვის შემთხვევაში უნდა განვიხილოთ CGRP – რეცეპტორების აქტივაცია მის გლუვ კუნთებში. გარდა ამისა სავსებით დასაშვებია, რომ CGRP –თ ინდუცირებული ენის არტერიის რელაქსაციის მექანიზმის ფუნქციონირება ნაწილობრივ მაინც უნდა იყოს განპირობებული ATP-მგრძნობიარე K^+ არხების აქტივაციით. ასეთი დასკვნის გაკეთების საშუალებას იძლევა შემდეგი:

1. ნორეპინეფრინით ინდუცირებული ტონუსის პირობებში ელექტრული სტიმულაცია (გუანეთიდინის

ფონზე, რომელიც თრგუნავს გლუვი კუნთის კონტრაქტურას) იწვევს დეენდოთელიზირებული პრეპარატის რელაქსაციას.

2. ეს რელაქსაცია არის ენდოთელიუმ დამოუკიდებელი და არ იცვლება არც პროპრანოლოლის (β-ადრენო-რეცეპტორების ანტაგონისტი), არც ატროპინის (მუსკარინული ქოლინერგული ანტაგონისტი) მოქმედებით იმ კონცენტრაციებში, რომელიც თრგუნავდა აცეტილქოლინის რელაქსაციურ მოქმედებას, მაგრამ არ აფერხებდა ენდოთელიუმ-ინტაქტური პრეპარატის რელაქსაციურ რეაქციას ელექტრულ გაღიზიანებაზე.
3. L-NAME, აზოტის ოქსიდის სინთეზის არასელექციური ინჰიბიტორი იმ კონცენტრაციებში, რომელიც თრგუნავს დეენდოთელიზირებული პრეპაატის რელაქსაციურ რეაქციას აცეტილქოლინზე, ვერ ახდენს რაიმე გავლენას იგივე პრეპარატების ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე.
4. CGRP-რეცეპტორების ანტაგონისტი CGRP (8-37) იმ კონცენტრაციით, რომელიც თითქმის სრულიად ახშობს ეგზოგენურად შეყვანილი CGRP–ს მოქმედებას, აინჰიბირებს ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული პრეპარატების

ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციას და ბოლოს

5. ენდოგენური CGRP–ს კაპსაიცინით პერივასკულური ნერვებიდან გამოფიტვამ სელექციურად დათრგუნა ნეიროგენური რელაქსაცია.

CGRP(8-37) წარდგენილი იყო თავდაპირველად, როგორც CGRP–რეცეპტორების შესაძლო ანტაგონისტი (Chiba et al., 1989). იგი თრგუნავდა ზღვის გოჭებში CGRP–თ ინდუცირებული ატრიუმის კონტრაქტილურ რეაქციებს (Dennis et al., 1990) და ჯორჯლის არტერიის რელაქსაციას (Han et al., 1990). ამ უკანასკნელ ნაშრომში ნაჩვენები იყო აგრეთვე, რომ შესაძლოა არსებობდეს ორი ტიპის CGRP–რეცეპტორები: $CGRP_1$ და $CGRP_2$. აქედან $CGRP_1$ სენსიტიურია CGRP(8-37) მიმართ, ხოლო $CGRP_2$ – არა.

ჩვენს მიერ ჩატარებულ ცდებში CGRP(8-37) თითქმის სრულიად დათრგუნა ენის არტერიის რელაქსაცია როგორც მისი ელექტრული სტიმულაციის პირობებში, ისე ეგზოგენური CGRP-ს დამატების შემთხვევაში. ამდენად, ბოცვერის ენის არტერიის პასუხები მისი ნერვული ელემენტების ელექტრული სტიმულაციის პირობებში განპირობებული უნდა იყოს $CGRP_1$ – რეცეპტორებით. რაც შეეხება იმ ნარჩენ რეაქციას, რომელიც მივიღეთ CGRP(8-37)-თ ინჰიბიციის შედეგად იგი ალბათ უნდა იყოს გამოწვეული ან ინჰიბიტორის შედარებით დაბალი კონცენტრაციით ($2x10^{-8}$ M), რაც არ იძლევა 100% ინჰიბირების გარანტიას, ან შესაძლოა ასახავდეს

$CGRP_2$-რეცეპტორების მცირე რაოდენობის აქტივობას (რაც არ ითრგუნება ჩვენს მიერ გამოყენებული ინჰიბიტორით).

არსებობს საკმაოდ დიდი რაოდენობა მტკიცებებისა, რომ ATP-სენსიტიური K^+ არხების ვაზორელაქსაციაში მნიშველოვან როლს უნდა ასრულებდეს (nelson et al., 1990; Quast, Cook, 1989; Nichols, Lederer, 1991). მრავალი მკვლევარი ამტკიცებს, რომ K^+ არხების გამხსნელების რელაქსაციური ეფექტი (მაგალითად, კრომაკალინი და პინაციდილი) გაწონასწორებულია კალიუმის უჯრედგარეთა კონცენტრაციის ზრდით (Chiba et al., 1989; Hamiton et al., 1986; Cok et al., 1988). ნაჩვენებია, რომ CGRP ააქტივებს ადენილატ ციკლაზას და ზრდის ციკლურ AMP-ს შემცველობას ვირთაგვას აორტალურ გლუვ კუნთებში (Kubota et al., 1985). ციკლური AMP-დამოკიდებული მექანიზმის შესაძლო ჩართვას გლუვ კუნთებში AMP-სენსიტური K^+ არხების აქტივაციის პროცესში მტკიცდება იმითაც, რომ გამოვლენილ იქნა მიოციტებში AMP-სენსიტური K^+ არხების აქტივაცია ციკლური AMP-თი (Notsu et al., 1992). ამდენად სავსებით დასაშვებათ მიგვაჩნია, რომ CGRP-თ ინდუცირებული ბოცვერის ენის არტერიის რელაქსაციაში ჩართული იყო ATP-სენსიტიური K^+ არხების აქტივაცია.

Wei at al. (1992) აჩვენეს, რომ კატისებრთა ცერებრული არტერიოლების CGRP-ინდუცირებულ დილატაციაში მონაწილეობს ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატზე დამოკიდებული მექანიზმი. ჩვენი მონაცემების თანახმად ბოცვერის ენის არტერიის შემთხვევაში აღმოჩნდა, რომ ელექტრული სტიმულაციით გამოწვეული რელაქსაცია ატარებს ენდოთელიუმ-დამოკიდებელ ხასიათს და ამასთან ერთად L-NAME-მ არ იქონია რაიმე გავლენა ენის არტერიის

ნეიროგენურ რელაქსაციაზე. ამდენად, ნეიროგენური ვაზოდილატაცია ჩვენს შემთხვევაში არ არის დამოკიდებული აზოტის ოქსიდის გენერაციაზე, რომელიც თავის მხრივ უკავშირდება ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატის გენერაციას.

ვინაიდან ელექტრული სტიმულაციით გამოწვეული ენის არტერიის რელაქსაცია მნიშვნელოვნად ითრგუნება კაპსაიცინით, სენსორული ნეიროტოქსინით, რომელიც ფიტავს CGRP-ს შემცველობას ნერვებში (Saito et al., 1986; Buck, Burks, 1986) უნდა ვიგულისხმოთ, რომ CGRP არის ენის არტერიის სენსორულ ნერვებში და რომ ელექტრული სტიმულაციის შედეგად სწორედ CGRP-ს გამოთავისუფლება იწვევს ვაზოდილატაციას. ცნობილია, რომ სენსორული ნერვისპერიფერიული ტერმინალის აქტივაცია იწვევს ანტიდრომულ ვაზოდილატაციას ლოკალური აქსონრეფლექსის მექანიზმის გზით (Muramatsu, 1987). რადგან ენის სისხლით მომარაგება ხდება ენის არტერიის მეშვეობით, მისი ვასკულური რეაქტიულობა აქტიური სუბსტანციებისადმი სენსირული ნერვების პერიფერული ნეიროტრანსმიტერების ჩათვლით, ალბათ მნიშვნელოვანი უნდა იყოს ენის სისხლის მიმოქცევის რეგულაციის თვალთახედვით.

ფენტონის რეაქციით ჩატარებული ცდების სერიების ანალიზი გვაძლევს საშუალებას დავასკვნათ, რომ ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალები მოქმედებენ CGRP ნერვული ბოჭკოების როგორც პრე- ისე პოსტსინაფსურ დონეზე. ამის საფუძველს გვაძლევს შემდეგი:

1. ელექტროსტიმულაციის პასუხად CGRP-თ განპირობებული ენის არტერიის პრეპარატის

რელაქსაცია თითქმის სრულად იყო ინჰიბირებული პრეპარატებზე $H_2O2/FeSO_4$ ზემოქმედების შედეგად. რაც მიუთითებს იმაზე, რომ ჰიდროქსილ რადიკალებს გაჩნიათ ენდოგენური, პრესინაფსურად ლოკალიზებული CGRP-ის გამოფიტვის უნარი.

2. ფენტონის რეაქციით წინასწარი ზემოქმედების შედეგად მცირდება CGRP-რეცეპტორების ანტაგონისტით დამრთგუნვადი CGRP-თ ინდუცირებული რელაქსაცია, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ ჰიდროქსილ რადიკალები აზიანებენ CGRP-თ გამოწვეულ რელაქსაციას, რაც თავის მხრივ დამოკიდებულია ATP-სენსიტური K^+ არხების აქტივაციაზე პოსტსინაფსურ საიტზე.

3. თავისუფალი რადიკალების სკავენჯერის გამოყენების შედეგად მიღებულია ელექტროსტიმულაციით გამოწვეული რელაქსაციის ინჰიბირების (რასაც განაპირობებდა ფენტონის რეაქციით ზემოქმედება) შეჩერება და ასეთივე შედეგი იქნება მიღებული ეგზოგენური CGRP-თ გამოწვეული რელაქსაციის თავისუფალი რადიკალების დათრგუნვის შემთხვევაშიც – აქაც თავისუფალი რადიკალების სკავენჯერმა დიმეთილსულფოსიდმა, თითქმის სრულად აღადგინა აღნიშნული რელაქსაციის რეაქცია.

დიმეთილსულფოქსიდის (DMSO) აღნიშნული ეფექტი მიუთითებს, რომ საქმე სწორედ ჰიდროქსილ რადიკალების ალაგებასთან, რადგანაც ზოგადად შესაძლო იყო აგრეთვე H_2O_2-ს ალაგებაც, რომელიც არის ჰიდროქსილ რედიკალების პრეკურსორი (საერთოდ არ არის გამორიცხული, რომ ფენტონის რეაქციით მიღებული შედეგი გამოწვეული ყოფილიყო წყალბდის ზეჟანგით (H_2O_2). DMSO, როგორც ცნობილია არის მხოლოდ ჰიდროქსილ რადიკალების სელექციური სკავენჯერი და მისი პროტექტორული ეფექტი ფენტონის რეაქციის გამოყენებისას ენის არტერიის რელაქსაციის ინჰიბირების მიზნით, ნათლად მიუთითებს, რომ HO^- და არა H_2O_2 არის ჩვენს შემთხვევაში აქტიურად მოქმედი აგენტი. გამომდინარე ზემოთქმულიდან CGRP რეცეპტორების შესახებ, ალბათ ლოგიკური იქნება კიდევ ერთხელ დავასკვნათ, რომ ბოცვერის ენის არტერიის შემთხვევაში საქმე გვაქვს ძირითადად CGRP $_1$ რეცეპტორებთან და ჰიდროქსილ რადიკალები უნდა იწვევდნენ სწორედ ამ რეცეპტორების დისფუნქციას. საჭიროა აქვე აღინიშნოს, რომ მექანიზმი, რომელითაც ჰიდროქსილ რადიკალები ერთდროულად ახორციელებენ CGRP – რეცეპტორების დისფუნქციას და ATP-სენსიტური K^+ არხების ინაქტივაციას – ჯერ-ჯერობით გაურკვეველია. Arora და Hess-მა (1985) აჩვენეს, რომ ქსანტინ-ქსანტინ ოქსიდაზით გენერირებული ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალებით ძაღლის კარდიალური ვეზიკულებზე ზემოქმედება იწვევს მუსკარინული რეცეპტორების ლიგანდის მნიშვნელოვან დეპრესიას და გამოთქვეს მოსაზრება, რომ უფრო მეტად ადგილი უნდა ჰქონდეს რეცეპტორების რაოდენობის ცვლილებას, ან შესაძლოა

რეცეპტორის ცილის სტრუქტურის ცვლილებას და ნაკლებად – ცვლილებას რეცეპტორების თანაობაში. ამ მოსაზრებას მივყავართ იმ დაშვებამდე, რომ ჰიდროქსილ რადიკალების სამიზნე შესაძლოა იყოს ცილების სტრუქტურული და ფუნქციური ერთიანობა. ჯერ კიდევ 1981 წელს კაცმა და მესინეომ (Katz, Messineo, 1981) აჩვენა, რომ უჯრედის ფუნქციონირებაზე დიდ გავლენას ახდენს უჯრედული მემბრანის ლიპიდური მიკროგარემოს ცვლილება. უფრო მეტიც, მემბრანული ლიპიდის პოლიუჯერი ცხიმური მჟავების ნაწილი იოლად იჟანგება ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალებით. ამდენად შესაძლოა, რომ ჰიდროქსილ რადიკალები მოქმედებენ:

1. მემბრანულ ლიპიდებზე, რომელთა პეროქსიდაციამ შეიძლება მეორადად გამოიწვიოს მემბრანული ცილის მოდიფიცირება (Lee, Okabe, 1995);
2. მხოლოდ იმ ლიპიდებზე, რომლებიც ცვლიან ცილის მიკროგარემოს (Katz, Messineo, 1981) ან
3. როგორც ცილებზე, ისე მემბრანულ ლიპიდებზე ცალ-ცალკე და ერთდროულად (Fligiel et al., 1984).

CGRP-თ განპირობებული ვაზორელაქსაციის მეორადი მესენჯერული სისტემის ბუნება უცნობია. Wei et al (1992) ჩათვალეს, რომ CGRP-თ ინდუცირებული ცერებრული არტერიოლების დილატაციაშია ჩართული ციკლურ გუანოზინ მონოფოსფატზე დამოკიდებული მექანიზმი. რა თქმა უნდა, დიდ ინტერესს წარმოადგენს კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდის მოქმედებაში სისხლძარღვოვანი გლუვკუნთოვან უჯრედებზე

გუანილატ ციკლაზას მედიატორული მნიშვნელობის განსაზღვრა. ნიტროდილატატორების მოქმედების ძირითადი არსი იმაშია, რომ ისინი უშუალოდ მოქმედებენ სისხლძარღვოვან გლუვ კუნთზე და გენერირებენ აზოტის ოქსიდს ან სპონტანურად, ან ქსოვილის კომპონენტებთან ურთიერთქმედების გზით (Ignarro, 1990). ეს ნივთიერება შემდეგ აქტივებს ხსნად გუანილატ ციკლაზას ან პირდაპირი მოქმედებით, ან შუალედური ნიტროზოთიოლის ფორმირების გზით. ამის შედეგია ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატის და მასზე დამოკიდებული პროტეინკინაზის მატება გლუვი კუნთების მომდევნო მარეზულტირებელი რელაქსაციით. თუ გავიზიარებთ იმ აზრს, რომ კალციტონინის გენთან დაკავშირებული პეპტიდით ინდუცირებული ენის არტერიის პრეპარატის რელაქსაციის მექანიზმის დარღვევა, განხორციელებული ჰიდროქსილ რადიკალების ზემოქმედებით, გულისხმობს ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატის ფორმირების შემცირებას გუანილატ ციკლაზას ინჰიბირების გზით, მაშინ აგრეთვე შესაძლებელი უნდა იყოს იგივე პრეპარატის ნიტროგლიცერინით ინდუცირებული რელაქსაციის დათრგუნვა ჰიდროქსილ რადიკალების ზემოქმედების შედეგად. მაგრამ, როგორც ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები მეტყველებენ, რომ ჰიდროქსილ რადიკალების ასეთ მოქმედებას სინამდვილეში არა აქვს ადგილი. ეს ხაზს უსვამს იმ გარემოებას, რომ მისი მოქმედება არ განისაზღვრება რეცეპტორებისა და გლუვკუნთოვან უჯრედებში გუანოზინ მონო ფოსფატის გენერაციის არეთი. საქმე იმაშია, რომ ნიტროგლიცერინით განპირობებული გლუვ კუნთებში გუანოზინ მონოფოსფატის პროდუქციის პროცესის მგრძნობელობა ჰიდროქსილ

რადიკალებისადმი (ანუ ლიპიდურ პეროქსიდაციისადმი) შეიძლება დიდად განსხვავდებოდეს ბოცვერის ენის არტერიის იმ რელაქსაციისგან, რომელიც ინდუცირებულია $CGRP_1$-რეცეპტორების აქტივაციით და ATP-სენსიტიური K^+ არხების გახსნით. სავსებით შესაძლებელია, რომ ჰიდროქსილ რადიკალები აზიანებენ CGRP ნერვულ ბოჭკოებში პოსტსინაფსურ მემბრანას და არა მეორად მესენჯერულ სისტემას, დაკავშირებულს ციკლურ გუანოზინ მონოფოსფატის ფორმირებასთან გლუვკუნთოვან უჯრედებში. ნარჩენი ვაზოდილატაცია, რომელიც აღინიშნა ჩვენს შედეგებში, განპირობებული უნდა იყოს სხვა მექანიზმების მოქმედებით, შესაძლოა ციკლურ ადენოზინ მონოფოსფატთან დაკავშირებული მექანიზმებით. ამ მოსაზრებას აძლიერებს ისიც, რომ ციკლური ადენოზინ მონოფოსფატი (AMP) მიოციტებში ააქტივებს AMP-სენსიტიურ K^+ არხებს (Notsu et al., 1992). კუბოტამ და სხვ. აჩვენეს, რომ ვირთაგვას აორტის გლუვი კუნთების კულტურაში CGRP ასტიმულირებს ციკლურიAMP-ს და არა GMP-ს (გუანოზინ მონოფოსფატი) ფორმირებას (Kubota et al., 1985). იმის მიუხედავად, რომ ეს შედეგები ხაზს უსვამს ციკლური AMP მნიშვნელოვან როლს სისხლძარღვთა გლუვი კუნთების პასუხებში კალციტონინს გენთან დაკავშირებული პეპტიდის მოქმედებაზე, მათ არა აქვთ პრეტენზია იმის მტკიცებისა, რომ სწორედ ციკლური AMP განაპირობებს CGRP-ს ვაზოდილატატორულ მოქმედებას.

ცნობილია მექანიზმების მთელი რიგი რომელთა მეშვეობით ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალები იწვევენ დისფუნქციას სისხლძარღვებში (Sasaki, Okabe, 1993), ჩონჩხის კუნთებში (Ishibashi et

al., 1996) და მიოკარდში (Okabe et al., 1991). თავისუფალ რადიკალებს ძალუძთ გავლენა მოახდინონ სისხლძარღვოვანი ტონუსის ნორმალურ კონტროლზე ენდოგენური ვაზოაქტიური აგენტების (კატექოლამინები, აზოტის ოქსიდი) ქიმიური დესტრუქციის გზით (Wolin, 1991); ძლიერ რეაქტიული ჰიდროქსილ რადიკალი ქსოვილის დაზიანების თვალთახედვით არის განსაკუთრებული მნიშვნელობის მედიატორი, დაზიანება იწვევს უმიელინო C ბოჭკოების აქტივაციას ვაზოაქტიური აგენტების (შესაძლოა CGRP-ს) გამონთავისუფლებით. ჰიდროქსილ რადიკალებით ხანგრძლივი ზემოქმედების პირობებში ენდოგენური CGRP, ლოკალიზებული ენის არტერიის CGRP ნერვული ბოჭკოს პრესინაფსურ საიტში, იშლება ან უწყვეტად თავისუფლდება საბოლოო გამოფიტვის შედეგით. მიუხედავად კონკრეტული მექანიზმისა ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები აჩვენებენ, რომ ჰიდროქსილ რადიკალები CGRP ნერვული ბოჭკოებისადმი წარმოადგენენ ისეთივე ძლიერ ტოქსიკურ აგენტს, როგორიცაა კაპსაიცინი. ჩვენს გამოკვლევაში არ იყო შესწავლილი CGRP-ს პირდაპირი ინაქტივაცია ჰიდროქსილ რადიკალებით, რადგან როგორც ეგზოგენური CGRP, ისე ელექტრული სტიმულაცია, რომელიც განაპირობებს CGRP გამონთავისუფლებას ხდებოდა მხოლოდ მას ფენტონის რეაქციის შეჩერების და პრეპარატის გარემოს გამორეცხვის შემდეგ. ჩვენი შედეგები აჩვენებენ მხოლოდ იმას, რომ ჰიდროქსილ რადიკალებს შეუძლიათ გამოფიტონ ენდოგენური CGRP, ლოკალიზებული პრესინაფსურად და დააზიანონ აგრეთვე CGRP-თ ინდუცირებული ბოცვერის ენის არტერიის პრეპარატის რელაქსაცია, რომელიც ხორციელდება ATP-

სენსიტიური K^+ არხების აქტივაციით პოსტსინაფსური საიტზე და რომ რელაქსაციის მეორადი მესენჯერული სისტემა, განპირობებული თუნდაც ციკლური გუანოზინ მონოფოსფატით, ნაკლებად არის მგრძნობიარე ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების დესტრუქციული მოქმედებისადმი.

დასკვნები

1. ბოცვერის ენის არტერიის რკალისებრი პრეპარტის ელექტრული სტიმულაცია ნორეპრინეფრინით ინდუცირებული ტონუსის პირობებში ადრენერგული ბლოკატორის მოქმედების ფონზე, იწვევს დეენდოთელიზირებული პრეპარატის რელაქსაციას.
2. ეს რელაქსაცია არის ენდოთელიუმ დამოკიდებელი და არ იცვლება არც β-ადრენო-რეცეპტორების ანტაგონისტის და არც მუსკარინული ქოლინერგული ანტაგონისტის მოქმედებით იმ კონცენტრაციებში, რომელიც თრგუნავს აცეტილქოლინის რელაქსაციურ მოქმედებას.
3. L-NAME, აზოტის ოქსიდის სინთეზის არასელექციური ინჰიბიტორი იმ კონცენტრაციებში, რომელიც თრგუნავს დეენდოთელიზირებული პრეპარატის რელაქსაციურ რეაქციას აცეტილქოლინზე, ვერ ახდენს რაიმე გავლენას იგივე პრეპარატების ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციაზე.
4. CGRP-რეცეპტორების ანტაგონისტი CGRP(8-37) იმ კონცენტრაციით, რომელიც თითქმის სრულიად ახშობს ეგზოგენურად შეყვანილი CGRP-ს მოქმედებას, აინჰიბირებს ენის არტერიის დეენდოთელიზირებული

პრეპარატების ელექტროსტიმულაციით გამოწვეულ რელაქსაციას.

5. პერივასკულური ნერვებიდან ენდოგენური CGRP-ს კაპსაიცინით გამოფიტვა, სელექციურად თრგუნავს ნეიროგენურ ვაზორელაქსაციას.

6. ბოცვერის ენის არტერიის რელაქსაციური პასუხები მისი ნერვული ელემენტების ელექტრული სტიმულაციის პირობებში განპირობებული უნდა იყოს $CGRP_1$- რეცეპტორებით.

7. ჰიდროქსილ რადიკალებს გაჩნიათ ენდოგენური, პრესინაფსურად ლოკალიზებული CGRP-ის გამოფიტვის უნარი რაც აზიანებს ბოცვერის ენის არტერიის პრეპარატის რელაქსაციის მექანიზმს.

ლიტერატურა

1. Азин А.Л. Роль кислорода и двуокиси углерода в регуляции базального тонуса артерий головного мозга. Дисс. доктора мед. наук. Свердловск, 1982.

2. Азин А.Л., Плеханов И.П., Орлов Р.С., Вишневский Г.А. Исследование механизмов активации сократительных клеток мозговых артерий и вен. Физиол. ж.СССР, 1977, 63, 11, 1567-1572.

3. Азин А.Л., Игнатенко А.С., Орлов Р.С. Сократительная деятельность гладкимышечных клеток внутренней сонной и пиальных артерий. Диагностика и хирургическое лечение сосудистых заболеваний головного мозга. Л., 1974, 9-10.

4. Байкатова В.Г., Раевский К.С. Оксид азота в механизмах повреждения мозга, обусловленных нейротоксическим действием глутамата. Биохимия, 1998, т. 63-67, 102-1028.

5. Берлин ГЮСЮ, Петров А.Г., Харкевич Д.А., Шорр В.А. О возможности применения механотронных преобразователей в экспериментальных биологических исследованиях. Бюлл. эксперим. биол. и медициныю, 1979, 88, 11, 626-629.

6. Вайнштейн Г.Б., Парфенов В.Е., Гайдар Б.В. Динаика мозгового кровотока и реактивности церебральных сосудов после двухсторонней окклюзии общих сонных атерий. ФИзиол. ж. СССР., 1988, 74, 6, 820-826.

7. Гуревич М.И., Берштейн С.А. Глаткие мышцы сосудов. Физиология кровообращения. Физиологиа сосудистой системы. М., Наука, 1984.

8. Демченко И.Т., Буров С.В. Непрерывная количественная регистрация локального кровотока с помощью водородного электрода и электроплетизмографи. Физиологический ж. СССР , 1971, 57, 10, с. 1553-1555.

9. Игнатенко А.С.О спонтанной сократительной активности клеток гладкой мускулатуры внутренней сонной артерии. Докл. АН СССР, 1975, 225, 3, 733-735.

10. Меньшикова Е.Б., Венков Н.К., Реутов В.П. Оксид азота и ИО-синтаза в организме млекопитающих при различных функциональных состояниях. Биохимия 2000, т.65, в. 4, с. 485-503.

11. Москаленко Ю.Е., Вайнштейн Б.Б., Демченко И.Т., Кисляков Ю.Я., Кривченко А.И. Внутричерепная гемодинамика. Л., Наука, 1975, с.202.

12. Москаленко Ю.Е., Демченко И.Т., Кривченко А.И., Буров С.В., Дерий А.Н. О возможной структурно-функциональной организации системсы регуляции местного мозгового кровотока. Физиол. ж. СССР, 1975, 61, 1486-1492.

13. Орлов Р.С., Азин А.Л., Бразговский В.А., Ю Игнатенко А.С., Плехано И.П. Механизмы активации гладкой мускулатуры мозговых сосудов. Физиол. ж. СССР., 1975, 61, 10, 1458-1465.

14. Орлов Р.С., Азин А.Л., Бразговский В.А., Ю Игнатенко А.С., Плехано И.П. Механизмы активации гладкой мускулатуры мозговых сосудов. Физиол. ж. СССР., 1975, 61, 10, 1458-1465.

15. Орлов Р.С., Айвар Ю.Н. Влияниме ионов калия на сократительную активность гладких мышц почечных артерий. Физиол. ж. СССР, 1979, 65, 7, 1040-1045.

16. Орлов Р.С., Азин А.Л. Исследование элетромеханической связи в гладкомышечных клетках мозговых артериальных сосудов. Физиол. ж. СССР, 1974, 60, 9, 1439-1445.

17. Шамсутдинова А.Г. О соотношениях мжду кровотоком и напряжением кислорода в почечной ткани при острой нейрогенной гипертензии. Физиол. ж. СССР , 1980, 26, 1, 63-67.

18. Beckman J. Nitric Oxide, Superoxide, and Peroxynitrate in CNS Injure. In: Cerebral Diseases. (eda: Welch K., Caplan L., Reis d., Siesjo B., Weier B.) Academic Press, San Diego, 1997, 209-210.

19. Bicher H. Autoregulation of oxygen supply to the brain tissue. In: Oxygen transport to tissue (Eds. H. Bicher. D. Briley) New York, Plenum Press, 1973, 215-222.

20. Brayden J.E., Large W.A., Electrophysiological analysis of neurogenic vasodilatation in the isolated lingual artery of the rabbit. British Journal of Pharmacology, 1999, 89, 163-171.

21. Bredt D.S. and Snuder S.H. Nitric oxide, a novel neuronal messenger. Neuron, 8, 3, 1992.

22. Brett D.S., Hwang P.M., and Snyder S.H. Location of nitric oxide synthase indicating a neurol role for nitric oxide. Nature 347 (6295), 768-770, 1990.

23. Braian J., Faraci F., Heistad D. Recent insights into regulation of cerebral circulation. Clin exp. Pharmacol. Physiol., 1996, 23, 449-457.

24. Brody M. J., Shaffer R. A. Distribution of vasodilator nerve in the canine hind limb. Am. Physiol., 1970, 218, H470- H474.

25. Brune, B Messmer UK, and Sandau K. THe role of nitric oxide in cell injury Toxicol Lett, Dec 1995; 82-83; 233-7.

26. Burnett, A. L. Nitric oxide in the penis: physiology and pathology. J. Urol. 157, 320-324, 1997.

27. Busse R., Mulsch A. Calcium-dependent nitric oxide synthesis in endothelial cytosol is mediated by calmodulin. FEBS Lett. 1990; 265, 133-6.

28. Chard M. D., Ghatei, M. A., Bloom S., and Crisp A. J. Vasoactive intestinal polypeptide in algodystrphy Br J Rheumatol, Dec 1990; 29(6): 489-90.

29. Chiba T., Yamaguchi A., Yamatani T., nakamura A., Morishita T., Inui T., Fukuse M., Noda T., Fujita T. Calcitonin gen-relatedpeptide actsasanovel vasodilator neurotransmitter in mesenteric resistance veselsof the rat. Nature, 1988, 335, 164-467.

30. Claney R. M., Leszczynska-Pasiak J., Abramson S. B. Nitric oxide and endothelial cell relaxation factor, inhibits neurophil superoxide anione production via a direct action on the HADPH oxidase. J Invest. 90. 1116-1121. 1992.

31. Copp D. H., Cameron E. C., Cheney B. A., Davidson A.G.F., Henze K. G., Evidence of calcitonin – a new hormone from the parathyroid that lowers blood calcium. Endocrinology, 1962, 70, 638-649.

32. Dennis T., Fournier A., Cadieux A., Pomerleau F., Jolicoeur F. B., Pierre S. S., Quirion R. hCGRP8-37, a calcitonin gene-related peptide antagonist revealing calcitonin gen-related peptide receptor heterogeneity in brain and periphery. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1990, 123-128.

33. De Witt D. S. L-arginine and superoxide dismutase present or reverse cerebral hypoperfusion after fluid percussion traumatic brain injury. J. Neurotrauma 1997, 14, 223-233.

34. Dacey R., Duling B., Mechanics and reactivity of rat intracerebral arterioles. Cerebral Blood Flow. Effect Nerves and neurotransmitters., Jowa, 1981, 67-73.

35. DiPette D. J., Wimalawansa S. Cardiovascular actions of calcitonin gene-related peptide. In: Crass J. Avioli L (eds) Calcium Regulationg Hormones and Cardiovascular Function. CRC Press, Ann Arbor, MI, 1994, 239-252.

36. Dirnagl U., Lindauer U., Villinger A. Role of nitric oxide in the coupling of cerebral blood flow to neural activation in rats. Neurosci. Lett. 1993, 149, 43-46.

37. Eccles R, Wilson H. The autonomic innervation of the nasal blood vessels of the cat. J. Physiol. (Lond.), 1974, 28, 549-560.

38. Elliot N. L., Quinless F. W., Parietti E.S. Assessment of a Newark neighborhood: process and outcomes. J Community Hurs, Dec 2000; 17(4): 211-24.

39. Ezra D., Laurind F., Goldstein D. S. Calcitonin gene-related peptide: a potent modulator of coronary flow. Eur. J. Pharmacol., 1987, 137, 101-105.

40. Faraci F., Braian J. Nitric oxide and cerebral circulation. Stroke, 1994, 25, 692-703.

41. Flohe L., Brigelius-Flohe R., Saliou C., Traber M. G., and Packer L. Redox regulation of NF-kappa B activation. Free Radic Biol Med, Jan 1997; 22(6): 1115-26.

42. Franco-Cereceda A. Calcitonin gene-relared peptide and human epicardial coronary arteries: presence, release and vasodilatatory effects. Br. J. pharmacol., 1991, 102, 506-510.

43. Frei B. Natural antioxidants in human health and disease. Academic Press, Boston, 1994.

44. Furchgott R., zawadsky J. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature, 1980, 228, 373-376.

45. Goodman E.C., Iverson L. L. Calcitonin gene-related peptide: Novel neuropeptide. Life Sci. 38: 2169-2178, 1986.
46. Goltzman D., Mitchell J. Interaction of calcitonin gene-related peptide and calcitonin at receptor sites in target tissues, Science, 1985, 227, 1343-1345.

47. Grace G.C., Dusting G.J., Kemp B.E., Marttin T. Endothelium and the vasodilator action of rat CGR. Br. J. Pharmacol., 1987, 91, 729-733.

48. Gray D.W., Marshall I. Human a-CGRP stimulates adenylate cyclase and guanylate cyclase and relaxes rat thoracic aorta by releasing nitric oxide. Br. J. Pharmacol., 1992, 107, 691-696.

49. Greenberg S., Palmer C. biochemical basis of analgesia: metabolism, storage, regulation andaction. Dent. Clin. North. Am., 1978, 22, 31-46.

50. Guo A., Vulchanova L., Wang. J, Li x. Elde R. Immunocytochemical localization of the vanilloid receptor 1 (VR1): relationship to neuropeptdes, the P2X3 purinoceptor and IB4 binding sites. Eur J Neurosci, Mar 1999; 11(3): 946-58.

51. Hansen N., Bgubaak A., Brattid D., Oh W., Stonestreet B. The effects of variations in PaCO2 on brain blood flow and cardiac output in newborn piglet. Pedatr. Res., 1984, 18, 11, 1132-1136.

52. Hao H., Fiscus R.R., Wang X., Diana J. N-omega-Nitro-L-arginine inhibits GMP levels in rat aorta induced by CGRP. Neuropeptides, 1994, 26, 123-131.

53. Heuser L.S., Miller F.N. Differential macromolecular leakage from the vasculature of tumors. Cancer, Feb 1986; 57(3): 461-4.

54. Holzman I.R., Tabata B., Edelstone D.I. Blood flow and oxygen delivery to the organs of the neonatal lamb as a function of hematocrit. Pediatr. Res., Dec 1986; 20: 1274-1279.

55. Holzer P. Local effector functions of capsaicin-sensitive sensory nerve endings: involvement of tachykinins, CGRP and other neuropeptides. Neuroscience, 1988, 24, 739-768.

56. Holzer P., Capsaicin: cellular targets, mechanisms of action, and selectivity for thin sensory neurons. Pharmacol. Rev., Jun 1991; 43: 143-201.

57. Huang P., Huang Z., Mashimo H., Bloch K., Moskowitz M., Beven J., Fesman M. Hypertension in mice leaking the gene for endothelial nitric oxide synthase. Nature, 1994, 377, 239-242.

58. Huang Z. Enlarged in infarct in endothelial nitric oxide synthase knockout mice are attenuated by nitro L-arginine. Cereb. Blood Flow Metab. 1996, 16, 981-998.

59. Hudetz A., Shen H., Kampine J. Nitric oxide from neuronal NOS plays critical role in cerebral cerebrovascular control of newborn piglets. Arc. Dis. Child. Fetal Neonatal. Ed. 1996, 75, F82-F86.

60. Iadecola C., zhang F (a). Inducible nitric oxide synthase gene expression in brain following cerebral ischemia. J. Cereb. Blood Flow Metab. 1995, 15, 378-384.

61. Iadecola C, Li J, Ebner TJ, Xu X(b). Nitric oxide contributes to functional huperemia in cerebellar cortex. Am J Physiol 1995 May 268: 5 Pt 2 R1153-62.

62. Iadecola C., Zhang F., Xu S., Casey R., Ross M.E.(c). Inducible nitric oxide synthase gene expression in brain following cerebral ischemia. J cereb Bloob Flow Metab 1995 May 15:3 378-84.

63. Iadecola C. Does nitric oxide mediate the increases in cerebral blood flow elicited by hypercapnia? Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1992, 89, 3913-3916.

64. Ishimura N., Kitaguchi K., Tatsumi K., Furuya H. Nitric Oxide Involvement in Hypoxic Dilatation of Pial Arteries in the Cat, 1996.

65. Jancso G., Wollemann M. The effect of capsaicin on the adenylate cyclase activity of rat brain. Brain res, Mar 1977; 123(2): 323-9.

66. Jancso G., Ambeus A. capsaicin sensitivity of primary sensoryl neurones and its regulation in Peripheral Naurons in Nociception. John Libbey Euritext, 1994, Paris.

67. Jian R., Ducrot F., Ruskone A., Chaussade S., Rambaud J.C., Modigliani R., Rain J.D., Bernier J.J. Symptomatic, radionuclide and therapeutic assessment of chronic idiopathic dyspepsia. A double-blind placebo-controlled evaluation of cisapride. Dig Dis Sci, May 1989; 34(5): 657-64.

68. Kemppainen P., Forster C., Koppert W., Handwerker H.O. Blood flow increase in the human lip after high-intensity tooth stimulation is not based in cholinergic mechanisms. Society for Neuroscieence, 3 l th Annual Meting 2001, San Diego, Ca.

69. Kitamura K., Kanagawa K., Kojima M., Ichiki Y., Matsuo H., Eto T. Complete amino acid sequence of porcine adrenomedullin and cloning of cDNA ancoding its precursor. FEBS Lett, 1994, 338, 306-310.

70. Kitazano T., Heistad D., Faraci F.M. Role of ATP-sensitive potassium channels in CGRP-induced dilation of rat basilar artery in vivo. Am. J. Physiol., 1993, 265, 581-585.

71. Knowles, R.G. and Moncada, S. Nitric oxide syntheses in mammals. Biochem. J., 298: 249, 194.

72. Kobari M., Fukuuchi Y., Tomita M., Takahashi N., Takeda H. Role of nitric oxide in regulation of cerebral microvascular tone and autoregulation of cerebral blood flow in cats. Brain Res., 1994, 26, 667, 2, 255-2.

73. Kobayashi D., Todoki K, m Ozono S., Okabe E. Calcitonin gene-related peptide mediated neurogenic vasodilation in the isolated canine lingual artery. Jpn. J. Pharmacol., 1995, 67, 329-339.

74. Kontos H. Oxygen radicals in cerebral vascular injury. Circ. Res., 1985, 57, 508-516.

75. Kruger L., Mantyh W., Sternini C., Brecha C., Mantyh C. Calcitonin generelated peptide (CGRP) in the rat central nervous system: pattern of immunoreactivity and recptor binding sites. Brain Res., 1988, 463, 223-244.

76. Kubes P., Suzuki M., Granger D.N. Nitric Oxide: An Endogenous Modulator of Leukocyte Adhesion. PNAS, Jun 1991; 88: 4651-4655.

77. Lamb F.S., Webb R.C. Vascular effects of free rdicals generated by electrical stimulation. Am. J. Physiol., 1984, 247, H709-H714.

78. Lancaster F.E. Nitric oxide and Ethanol-induced Brain damage. A Hipothesis, research Nomegtaph N22, 1993, p, 373-387.

79. Lancaster J.R. Nitric oxide in cells. Am. Sci. 80, 248-258. 1992.

80. Lee C., Okabe E. Hydroxyl radical-mediated reduction of Ca2+ATP ase activity of masseter muscle sarcoplasmic reticulum. Jpn. J. Pharmacil, 1995, 67, 21-28.

81. Lee Y, Takami K., Kawai Y., Girgis S., Hillyard C., MacIntre I., Emson P., Tohyama M. Distribution of calcitonin gene-related peptide in the rat peripheral nervous system with reference to its coexistence with substance P. Neuroscience, 1985, 15, 1227-1237.

82. Lincoln T. Cyclic GMP and mechanisms of vasodilation. Pharmacol. Ther., 1989, 41, 497-502.

83. Luckhoff A., Pohl U., Busse R. Increased free calcium in endothelial cells in response to hypoxia and restitution of normoxia. Pflugers Arch 1989; 406 (Suppl): R46.

84. Lundberg J.M. Evidence for the existance of vasozctive intestinal polypeptide (VIP) and acetylcholine neurones in cat exocrine glands. Morphological, anatomical and functional studies. Acta Physiol. Scand. Suppl., 1981, 496, 1-57.

85. Lundberg J.M., Anggard A., Fahrenkrug J. VIP as a mediator of hexamethonium-sensitive, atropin-resistant vasodilation in the cat tongue. Acta Physiol. Scand., 1982, 116, 387-392.

86. Malinski T., Bailey F., Zhang Z., Chopp M. Nitric Oxide measured by a porphyrinic microsensor in rat brain after transient middle cerebral artery occlusion. J. Cereb. Blood Flow Metab. 1993, 13, 355-358.

87. Marshall J.J., Kontos H.A. Endothelium-derived relaxing factors. A perspective from in vivo data. Hypertension, 1990, 16, 371-386.

88. Marshall I, Al-Kazwini SJ, Holman JJ, and RK Craig. Human alpha-calcitonin gene-related peptide (CGRP) is a potent vasodilator in human mesenteric vasculature. Br J Clin Pharmacol, Dec 1988; 26(6): 691-5.

89. Martins A., Doley T., Wright S., Boss B. Response of cerebral circulation to topical hystamine. Stroke, 1980, 11, 5, 469-476.

90. McCormack D.C., Mak J., Coupe M.O., Barnes P. Calcitonin gene-related vasodilation ofhuman pulmonary vessels. J. Appl. Physiol., 1989, 67, 1265-1270.

91. McKenzie KE, Armstrong BA, Chen Y, Nagarajan M, Aldaz CM, Sukumar S Alterations in the Ha-ras-l and the p 53 pathway genes in the progression of N-methyl-N-nitrosourea-induced rat ammary tumors. *Mol Carcinog* 197 Oct 20:2 194-203.

92. Mittal C.K. Nitric oxide synhase: Involvement of oxygen radicals in conversion of L-arginine to nitric oxide. Biophys. Res. Commun. 193, 126-132. 1993.

93. Miyauchi T., Ishikawa T., Sugishita Y., Saito A., Goto K. Effects of capsaicin on nonadrenergic noncholinergic nerves in the guinea pig atria: role of calcitonin generelated peptide as cardiac neurotransmitter. J Cardiovasc Pharmacol, Dec 1987; 10(6): 675-82.

94. Moncada S., Palmer R., Higgs E. Nitric oxide: physiology, pathpohysiology and pharmacology. Pharmacol. Rev., 1991, 43, 109-142.

95. Moncada, S: Nitric oxide gas: mediator, modulator, and pathophysiologic entity. J. Lab. Clin. Med., 120, 187, 1992.

96. Mulderry P.K., Ghatey M., Rodrigo J., Allen J.M., Rosenfeld M.G., Polak J.M., Bloom S.R. Calcitonin gene-related peptide in cardiovascular tissues of the rat. Neuroscience, 1985, 14, 947-954.

97. Mulle C., Benoit P., Pinset C., Roa M., changeux J.P. Calcitonin gene-related peptide enhances the rate if desensitization of the nicotinic acetylcholine receptor in cultured mouse muscle cells. PNAS, Aug 1988; 859(15); 5728-32.

98. Mural F. Nitric oxide signaliing: Would you beleave that a simple free radical could be a messenger, autocoid, paracine substance, neurotransmitter and hormone? Recent Prog. Horm. Res., 1998, 53, 43-59.

99. Nakamuta H., Fukuda Y., Koida M., Fujii N., Otaka A., Funakoshi S., Yajima H., Mitsuyasu N., Orlowaski R. Binding sites of calcitonin gene-related peptide (CGRP): abundant occurance in visceral organs. Jpn. J. Pharmacol., 1986, 42, 175-180.

100. Nathan, C., Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. FASEB J., 6, 3051, 1992.

101. Neher R, Riniker B., Maier R., Byfield P., Gudmundsson T.V., MacIntre I. Human calcitonin. Nature, 1968, 220, 984-986.

102. Nelson M.T., Hung Y., Beyden J., Hescheler J., Standen N.B. Arterial delations in response to calcitonin gene-related peptide involve activation of K+channels. Nature, 1990, 344, 770-773.

103. Nillson L., Edvinsson I., Jansen I. Mechanisms of action of the dilatory response to CGRP in guinea pig basilar artery. Ann NY Acad. Sci., 1992, 657, 510-512.

104. Notsu T., Tanaka I., Mizota M., Yanagibashi K., Fukutake K.A cAMP-dependent protein kinase inhibitor modulates the blocking action of ATP and 5-hydroxydecanoate on the ATP-sensitive K+channel. Life Sci., 1992, 51, 1851-1856.

105. Nuki C., Kawasaki H., Kitamura K., Takegana M., Kangawa K., Eto T., Wada A. Vasodilator effect of adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide receptors in rat mesenteric vascular beds. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1993, 196, 245-251.

106. Okabe E., Kato Y., Kohno H., Hess M., Ito H. Inhibition by free radical scavengers and by cyclooxygenase inhibitors of the effect of acidosis on calcium transport by masseter muscle sarcoplasmic reticulum. Biochem. Pharmacol., 1985, 34,961-968.

107. Okabe E., Todoki K., Odajima C., Ito H. Free radicals-induced changes in mesenteric microvascular dimensions in the anesthetized cat. Jpn. J. Pharmacol, 1983, 33, 1233-123.

108. Palmer R.M.J., Ashton D.S., Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. Nature 1988; 333; 664-6.

109. Pelligrin D.a., Koenig H.M., Albreh R.F., The role of nitric oxide (HO) in cerebral arteriolar relaxation buring hypoxia in the rat (Abstract). ANESTHESIOLOGY 1993; 79; A757.

110. Pernow J. Actions of constrictor (NPY and endothelium) and dilator (substance P, CGRP and VIP) peptides on pig splenic and human skeletal muscle arteries involvement of endothelium. Br. J. Pharmacol, 1989, 97, 983-989.

111. Persson K., Garcia-Pascual A., Anderson K. Differences in the actions of CGRP on pig detrusor and vesical arterial smooth muscle. Acta Physiol. Scand., 1991, 143, 45-53.

112. Pohl U., Busse R. Hypoxia stimulates release of endothelium-derived relaxant factor. Am J Physiol 1989; 256; H1595-H1600.

113. Popescu L.M., Panoiu C., Hinescu M., Nuto O. The mechanism of cyclic GMP induced relaxation in vascular smooth muscle. eur. J. Pharmacol., 1985, 107, 393-394.

114. Preibisz J.J. CGRP and regulation of human cardiovascular homeostasis. Am. J. Hypertens., 1993, 6, 434-450.

115. Rosenfeld M.G., Mermod J.J., Amara S.G., Swanson L.W., Sawchenko P., Rivier J., vale W., Evans R. Production of a novel neuropeptide ancoded by calcitonin gene via tissue specific RNA processing. Nature, 1983, 304, 129-135.

116. Rozenfeld M.G., Mermod J.J., Amara S.G., Swanson L., Sawchenko P., Rivier J., Vale W.W., Evans R.M. Production of a novel neuropeptide encoded by the calcitoningene via tissue-specific RNA processing. Nature, 1983, 304, 129-135.

117. Rubanyi G.M. Vascular effects of oxygen-derived free radicals. Free radical Biol. Med. 1988, 4, 107-120.

118. Rubanyi G.M., Vanhoutte P.M. Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. Am J. Physiol 1986; 250, H822-7.

119. Sakata J., Shimokubo T., Kitamura K., Nakamura S., Kangawa K., Matsuo H., Eto T. Molecular cloning and biological activitis of rat adrenomedullin, a hypotensive peptide. Biochem. Biphys. Res. Commun., 1993, 195, 921-927.

120. Samuelsson B. Prostaglandins, thromboxanes and leukotrienes. Formation and biological roles. Hervey Lect., 1979, 75, 1-40.

121. Schiffer D., Autilio-Gambetti L., Chio A., Gambetti P., Giordana M.T., Gullotta F., Migheli A., and Vigliani M.C. Ubiquitin in motor neuron disease: study at the light and electron microscope. J Neuropathol Exp Neurol, Jul 1991; 50(4): 463-73.

122. Sessa W.C., Pritchard K., Seyedi N., Wang J., Hinteze T.H. Chronic exercise in bogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. circ. Res., Feb 1994; 74: 349-353.

123. Sessa, W.C. The nitric oxide synthase family of proteins. J. Vasc. Res., 1994, 31: 131.

124. Sexton P.M., McKenzie J.S., Mason R.T., Moseley J., Martin T.J., Mendelsohn F. Localization of binding sites for calcitonin gene-related peptide in rat brain by in vitro autoradiography. Neuroscience, 1986, 19, 1235-1245.

125. Shulz J.B. Blokade of neuronal nitric oxide synthase protect against excitotoxicity in vivo. J. Neurol. 1995, 15, 8419-8429.

126. Sigrist S., Franco-Cereceda A., Muff R., Henke H., Lundberg J.M., Fisher J.A. Specific receptor and cardio vascular effects of calcitonin gene-related peptide. Endocrinology, 1986, 119, 381-384.

127. Sinz E.H., Kochaneak P.M., Dixon C.E. Inducible nitric oxide synthase is an endogenous neuroprotectant after traumatic brain injury in rats and mice. The J. of clinical Investigation 1999. v. 104.N5, 647-656.

128. Skofitsch G., Jacobowitz D.M. Calcitonin gene-related peptide: detailed immunohistochemical distribution in the central nervous system. Peptide, 1985, 6, 721-745.

129. Suzuki H., Ikezaki H., Hong D., Rubinstein I., PGH_2-T_xA_2-receptor blockade restores vasoreactivity in a new rodent model of genetic hypertension. J Appl Physiol, Jun 2000; 88: 1983-1988.

130. Szabo C. Physiological and pathophysiological roles of nitric oxide in the central nervous system. Brain Res. Bull., 1996, 41, 3, 131-141.

131. Szolcsanyi J., Helyes Z., Orosze G., Nemeth J., Pinter E. Release of somatostatin and its role in the mediation of the anti-inflammatory effect induced by antidromic stimulation of sensory fibres of rat sciatic nerve. Br. J. Pharmacol., Mar 1998; 123: 936-942.

132. Tanaka K. Is nitric oxide really important for regulation of thq cerebral circulation? Yes or no? Keio J. Med., 1996, 45, 1, 14-27.

133. Todoki K., okabe E., Kiyose T., Sekishita T., Ito H. Oxygen free radical-mediated selective endothelial dysfunction in isolated coronary artery. Am. J. Physiol., 1992, 262, H806-H812.

134. Toyoda K., Fujii K., Ibayashi S., Nagao T., Kitazono T., Fujishima M. Role of nitric oxide in regulation of braon stem circulation during hypotension. J. Cereb. Blood Flow Metab., 1997, 17, 1089-1096.

135. Tschopp F.A., Henke H., Petermann J.B., Tobler H., Janzer R., Hockfelt T., Lundberg J.M., Cuello C., Fischer J.A. Calcitonin gene-related peptide and its binding sites in the human central nervous systemand pituitary. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1985, 82, 248-252.

136. Twery M.J., Joels M., Gallagher J.P., Orlowski R.C., Moss R.L. Neuronal membrane sensitivity to a salmon calcitonin analogue with negligible ability to lower serum calcium. Neurosci Lett, Mar 1988; 86(1): 82-8.

137. Uddman R., Edvinsson I. Neuropeptides in the cerebral circulation. Cerebrovasc. Brain Metab. rev., 1989, 1, 230-252.

138. Ursell P.C., Ren C., Aibala A., Danilo P. Nonadrenergic noncholinergic innervation; anatomc distribution of CGRP-immunoreactive tissue in the dogs heart. Circ. res., 1991, 68, 131-140.

139. Ursell P.C., Ren C.L., Albala A., Danilo P. Nonadrenergic noncholinergic innervation: anatomic distribution of CGRP-immunoreactive tissue in the dogs heart. Circ. Res., 1991, 68, 131-140.

140. Wahl M., Unterberg A., Whalley N. Bacthmann A., Young A., Edvinsson L., Wagner F. cerebrovascular effects of bradikinin. Neural. Regul. Brain Circ., Amsterdam, 1988, 119-430.

141. Wei E.P., Moskowitz M.A., Boccalini., Kontos H.A. Calcitonin gene-related peptide mediates nitroglucerin and sodium-nitroprusside-induced vasodilatation in feline cerebral arterioles. Circ. Res., 1992, 70, 1313-1319.

142. Wimalawansa S. Calcitonin gen-related peptide and its receptors: molecular genetics, physiology, pathophysiology, therapeutic potentials. Endocrine reviews, 1996, 17, 5, 533-585.

143. Wimalawansa S.J., MacIntre I. calcitonin gene-related peptide and its specific binding sites in the cardiovascular system of rat. Int. J. Cardiol., 1988, 20, 29-37.

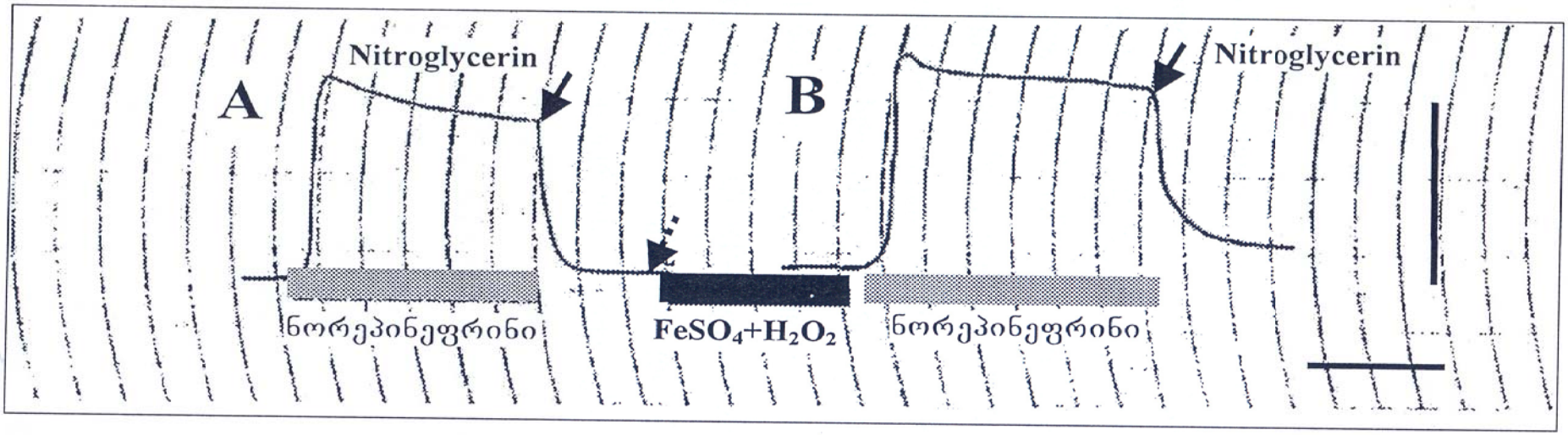
144. Wink D., Cook J.A., Kim Y., Vodovotz Y., Pacelli R. Krishna M.C., Russo A., Mitchell J.B., Jourd heuil D., Miles A. M., Grisham M.B. Superoxide Modulates the Oxidation and Nitrosation of Thiols by Nitric Oxide-derived Reactive Intermediates. Chemical aspects involved in the balance between oxidative and nitrosative stress. J. Biol. Chem., Apr 1997; 272; 11147-11151.

145. Wood J.N., Winter J., James I.F, Rang P.H., Yeats J., Bevan S. Capsaicin-induced ion fluxes in dorsal root ganglion cells in culture. J. Neurosci., Sep 1988; 8: 3208-3220.

146. Yoshizaki H., Takamiya M., Okada T. Characterization of picomolar afinity binding sites for CGRP in rat brain and heart. Biochem Biophys. Res. Commun., 1987, 146, 443-451.

147. Zhai P., Eurell E., Cooke P.S., Lubahn D.B., Gross D.R. Myocardial ischemia-reperfusion injury in estrogen receptor- α knockout and wild-type mice. Am J Physiol Heart Circ Physiol, May 2000; 278: 1640-1647.

148. Zoccoli G., Grant D.A., Wild J., Walker A.M. Nitric oxide inhibition abolishes sleep-wake differences in cerebral circulation. Am. J Physiol Heart Circ Physiol, Jun 2001; 280: 2598-2606.



სურ. 3.16. ბოცვერის ენის არტერიის ენდოთელიუმ-ჩამოცილებული, ნორეპინეფრინით გააქტივებული პრეპარატების რეაქცია ნიტროგლიცერინზე საკონტროლო (A) ცდებში და იგივე ჰიდროქსილ რადიკალებით 40-წუთიანი ზემოქმედების შემდეგ (B). აღნიშვნები: წყვეტილი ისრებით – პრეპარატის გამორეცხვა, ჰორიზონტალური სქელი ხაზი – 30 წუთი, ვერტიკალური – 5mN.

70-a