

ივ. ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი

ხელნაწერის უფლებით

გოჩა ომარის ძე სირბილაძე

აპოპტოზის როლი და მისი მოდულაცია იმუნური პასუხით
განპირობებული ღვიძლის მსუბუქი დაზიანების დროს

14.00.36—ალერგოლოგია და იმუნოლოგია

დ ი ს ე რ ტ ა ც ი ა

ბიოლოგიის მეცნიერებათა კანდიდატის
სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელი
მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი
თინათინ ილარიონის ასული ჩიქოვანი

თბილისი

2006

შინაარსი

შემოკლებების ნუსხა	4
შესავალი	5
I თავი - ლიტერატურის მიმოხილვა	12
1.1 იმუნური პასუხით განპირობებული ღვიძლის დაზიანების მექანიზმები	12
1.2 აპოპტოზის როლი ღვიძლის ნორმალურ ფუნქციონირებაში	277
1.3 კასპაზების როლი აპოპტოზში	36
1.4 აპოპტოზის მოდულაცია თერაპიული საშუალებებით	400
II თავი - საკვლევი მასალა და მეთოდები	45
2.1 ღვიძლის იმუნური დაზიანების ექსპერიმენტული მოდელები	45
2.2 ჰისტომორფოლოგიური მეთოდი	45
2.3 ღვიძლში აპოპტოზის შეფასება იმუნოჰისტოქიმიური (TUNEL) მეთოდით	45
2.4 აზოტის ოქსიდისა და გლუტათიონ რედუქტაზას ატიურობის განსაზღვრა	46
2.5 ჰეპატოციტების გამოყოფა და მათი მიტოქონდრიული აქტიურობის შესწავლა ტეტრაზოლიუმზე დაფუძნებული კოლორიმეტრიული MTT ტესტით	47
2.6 ჰეპატოციტების კასპაზების აქტიურობის განსაზღვრა	48
2.7 ALT-ს განსაზღვრის სპექტრომეტრიული მეთოდი	48
2.8 მასალის სტატისტიკური დამუშავება	49
III თავი - საკუმარი ბამოკვლევის შედეგები	50
3.1 პლაფერონი ღბ-ს ზეგავლენა Con-A ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს სისხლში ალანინამინოტრანსფერაზას შემცველობასა და ღვიძლში განვითარებულ მორფოლოგიურ ცვლილებებზე	50
3.2 Con-A ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს ღვიძლსა და სისხლში მიმდინარე ოქსიდაციური პროცესების მაჩვენებლების მოდულაცია იმუნომოდულატორებით	59
3.3 Con-A ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს ღვიძლში კასპაზების აქტიურობა და მათი მოდულაცია იმუნომოდულატორებით	64

3.4 ექსპერიმენტული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს ჰეპატოციტების აპოპტოზური ცვლილების შესწავლა იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით.....	67
IV თავი – საკუთარი შედეგების განხილვა.....	67
დასკვნები.....	83
პრაქტიკული რეკომენდაციები.....	84
ლიტერატურის სია.....	85

შემოკლებების ნუსხა

- დნმ/რნმ** – დეზოქსი/რიბონუკლეინის მუავა
- კასპაზა** – აპოპტოსის მწარმოებელი ცისტეინური პროტეაზა
- ALT** – ალანინამინოტრანსფერაზა
- Apaf-1** – ადაპტერი პროტეინის აპოპტოზური პროტეაზ-გამააქტიურებელი ფაქტორი-1
- ATP** - ადენოზინტრიფოსფატი
- Bcl-2** – B-უჯრედული ლეიკემიის პროტეინი
- Bid, Bak, Bax** – Bcl-2 ოჯახის პროაპოპტოზური წევრები
- CD** – ლიფერენცირების კლასტერი
- Con-A** – კონკანავალინ-A (ბუნებრივი მიტოგენი)
- CTL** – ციტოტოქსიური ლიმფოციტები (ბუნებრივი მიტოგენი)
- GalN** – დ-გალაქტოზამინი
- GSH** – გლუტათიონი
- GVHD** - ტრანსპლანტანტი მასპინძლის წინააღმდეგ” დაავადება
- FADD** - FAS-ასოცირებული სიკვდილის დომენი
- FAS** – სიმსივნის ნეკროზის გაქტორის ოჯახში შემავალი II ტიპის ტრანსმემბრანული პროტეინი
- HBV** - ჰეპატიტის B ვირუსი
- HCV** - ჰეპატიტის C ვირუსი
- ICAM** – უჯრედ-მორისი ადჰეზიური მოლეკულა
- IFN** – ინტერფერონი
- IL** – ინტერლეიკინი
- HbsAg** - ჰეპატიტის B ვირუსის ზედაპირული ანტიგენი
- iNOS** - ინდუციბელური აზოტის ოქსიდის სინთეტაზა
- LPS** – ლიპოპოლისაქარიდი (ენდოტოქსინი)
- MHC** - ჰისტოშემთავსებლობის მთავარი კომპლექსი
- NF-kB** - ბირთვის ტრანსკრიპციული ფაქტორი kappa-B
- NK** - ბუნებრივი კილერები /იმუნური უჯრედები/
- NO** - აზოტის ოქსიდი
- NOS** - აზოტის ოქსიდის სინთეტაზა
- RIP** – რეცეპტორთან ურთიერთმოქმედი პროტეინი
- ROS** – რეაქტიული ჟანგბადის სახეობები
- TNF** – ციტოკინ სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორის ჯგუფის წარმომადგენელი
- TGF** - სიმსივნის ზრდის ფაქტორი
- VCAM** – სისხლძარღვოვანი ადჰეზიური მოლეკულა

შესავალი

პრობლემის აქტუალობა

მედიცინის განვითარების მნიშვნელოვანი ტემპების მიუხედავად, XXI საუკუნის დასაწყისში ვირუსული ჰეპატიტები კვლავ მძიმე და გლობალურ პრობლემად რჩება. ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის მონაცემებით ვირუსული ჰეპატიტით დაავადებულთა რაოდენობა განუხრელად მატულობს და მილიარდზე მეტს შეადგენს. უფრო მეტიც, სხვადასხვა სახის ჰეპატიტით დედამიწის მოსახლეობის თითქმის მესამედი არის ან ოდესმე იყო ინფიცირებული. მსოფლიოში ყოველწლიურად ამ დაავადებით ან მისი გართულებით 2 მლნ-მდე ადამიანი იღუპება.

საქართველოში 2004 წელს ვირუსული ჰეპატიტების (B და C) 1000-მდე ახალი შემთხვევა დაფიქსირდა. აღსანიშნავია, რომ B ჰეპატიტის შემთხვევაში მწვავე მიმდინარეობა აღინიშნებოდა დაავადებულთა 64%-ში, ხოლო ქრონიკული – 35%-ში, მაშინ როცა C ჰეპატიტის დროს ფაქტიურად ნახევარზე მეტი (დაახლოებით 55%) ქრონიკული იყო. უფრო მეტიც, საქართველოს მოსახლეობის 5-7% ჰეპატიტის სხვადასხვა ვირუსის მატარებელია.

B და C ჰეპატიტის ვირუსებით დაინფიცირება ორგანიზმს ორი მთავარი საშიშროების წინაშე აყენებს: ერთი მხრივ, დაავადების ფულმინანტური მიმდინარეობის შემთხვევაში (ღვიძლის კომა, ელვისებური ჰეპატიტი) მაღალი ლეტალური გამოსავალი (90% ლეტალურად მთავრდება), მეორეს მხრივ კი, პროცესის ქრონიზაცია, რაც საბოლოოდ ღვიძლის ციროზის ან ჰეპატოცელულური კარცინომის განვითარებით მთავრდება. ჰეპატიტის ელვისებურად მიმდინარეობას ადგილი აქვს B და D ჰეპატიტების ვირუსით ერთდროულად დაინფიცირების 80%-ში.

მსოფლიოს წამყვანი ჰეპატოლოგიური ცენტრების მონაცემებით, HBV ინფექციის ფულმინანტური მიმდინარეობის საშიშროება ინფიცირებულთა 80%-ში შეინიშნება (Grob et al., 1998). მსოფლიო ჯანდაცვის ორგანიზაციის მონაცემებით, დაახლოებით 2 მილიარდ

ადამიანს გადატანილი აქვს B ჰეპატიტი, ხოლო 350 მილიონზე მეტი HBV მტარებელია, ქრონიკულ მტარებელთა 25%-ში კი დაავადება ღვიძლის კიბოს განვითარებით მთავრდება (Alter, 1995). მსოფლიოში ღვიძლის კიბოთი ყოველწლიურად 1 მილიონზე მეტი ადამიანი იღუპება. ქრონიკული HBV ინფექციის პერსისტენტობის ერთ-ერთი მიზეზი ისაა, რომ ინფიცირდება ჰეპატოციტების 100% და არ ხდება მათი მოცილება.

მწვავე ვირუსული ჰეპატიტის გადატანის შემდეგ გამოჯანმრთელების პროცესი დიდხანს მიმდინარეობს. ეს განსაკუთრებით ეხება C ჰეპატიტს, რომელიც ყველაზე რთული მიმდინარეობით ხასიათდება. მსოფლიო ჯანდაცვის ორგანიზაციის მონაცემებით, C ჰეპატიტით მსოფლიოში 300 მილიონი ადამიანია ინფიცირებული, რომელთაგან 130 მილიონი ამ ვირუსის ქრონიკული მტარებელია. C ჰეპატიტი შემთხვევათა 70-80%-ში განიცდის ქრონიზაციას და ამათგან 50%-ს ციროზი უვითარდება. უფრო მეტიც, ზოგჯერ ქრონიკული ჰეპატიტის დიაგნოსტირება არ ხდება და დაავადება მხოლოდ ციროზის სტადიაზე გამოვლინდება. საკმაოდ ხშირად C ჰეპატიტის მქონე პაციენტებს ახასიათებთ “ცრუ გამოჯანმრთელება”, როცა სისხლის ბიოქიმიური ანალიზები ნორმაში მოდის (Scheuer et al, 1990). ეს ფენომენი შეიძლება გაგრძელდეს რამდენიმე თვიდან რამდენიმე წლამდეც კი. ამიტომ არც თუ უსაფუძვლოდ მას სიმძიმის მიხედვით შიდას ადარებენ. ყოველივე ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე, ვირუსული ჰეპატიტების მკურნალობას ძალიან დიდი მნიშვნელობა აქვს.

არაციტოპათიური ვირუსებითა (HBV, HCV) და აუტოიმუნური გენეზით გამოწვეული ჰეპატიტების დროს ღვიძლის დაზიანების მექანიზმები საბოლოოდ გარკვეული არ არის, თუმცა მასში T უჯრედული იმუნური პასუხის განმსაზღვრელი როლი დღეისათვის დასაბუთებულია (Ando et al., 1997). ადეკვატური იმუნური პასუხი პრაქტიკულად გამორიცხავს ქრონიკული ჰეპატიტის განვითარების შანსს. სუსტი იმუნური პასუხის შემთხვევაში დაავადების მწვავე ფაზა მსუბუქად, ხშირად უსიმპტომოდ მიმდინარეობს, რაც შესაძლოა პროცესის შემდგომ

ქრონიზაციას და ჰეპატოცელულური კარცინომის ან ციროზის განვითარებას განაპირობებდეს.

ღვიძლის ფუნქციონირების შენარჩუნებაში გადამწყვეტი მნიშვნელობა აპოპტოზის საშუალებით ვირუსით ინფიცირებული უჯრედების სწრაფ და დროულ მოცილებას ენიჭება. ჯანმრთელ ორგანიზმში მკვდარი უჯრედები სწრაფად ჩაინაცვლება მიტოზის გზით წარმოშობილი ახალი უჯრედებით, ანუ ორგანოებში უჯრედული ჰომეოსტაზი ნარჩუნდება, მაშინ როცა მწვავე დაზიანების დროს ჭარბი და/ან ხანგრძლივი აპოპტოზი ღვიძლის ფუნქციისა და რეპერფუზიის მოშლის მიზეზი ხდება. ჭარბი აპოპტოზი აღინიშნება მწვავე ვირუსული, ალკოჰოლური ჰეპატიტების, ღვიძლის ქოლესტაზური დაავადების, ვილსონის დაავადებისა და “ტრანსპლანტანტი მასპინძლის წინააღმდეგ” დაავადებისთვის (GVHD). მეორეს მხრივ, ვირუს-ინფიცირებული ჰეპატოციტების აპოპტოზის დეფიციტი მუტირებული გენების მატარებელი უჯრედების მოცილების მოშლასა და უჯრედების უსაზღვრო გამრავლებას იწვევს, რაც გამუდმებული ანთების პირობებში ღვიძლისა და ნაღვლსადენი სისტემის სიმსივნეების განვითარებას უწყობს ხელს. აქედან გამომდინარე, სხვადასხვა პათოლოგიის დროს ღვიძლის ქსოვილში აპოპტოზის მაინჰიბირებელი თუ მასტიმულირებელი პრეპარატები პოტენციურად ძლიერი თერაპიული საშუალებები შეიძლება გახდეს.

ვირუსული ჰეპატიტების პათოგენეზიდან გამომდინარე, ზოგიერთი ავტორი ვირუსული ჰეპატიტების სამკურნალოდ უპირატესობას იმუნოტროპულ და ანტიოქსიდაციურ პრეპარატებს ანიჭებს (Zein et al., 1998; Schwarz, 1996; დ.მეტრეველი, 1999; დ. პავლიაშვილი, 1999). აღნიშნული ფაქტის გათვალისწინებით საინტერესოა ისეთი იმუნომამოდულირებელი თვისების მქონე პრეპარატების შესწავლა, როგორცაა პლაფერონი ლბ.

პლაფერონი ლბ შექმნილია სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტში პროფესორ ვლადიმერ ბახუტაშვილის მიერ. მას როგორც იმუნომამოდულირებელი, ისე ანთების საწინააღმდეგო, ანტიიშემიური და ანტიოქსიდაციური თვისებები გააჩნია (თ. ჩიქოვანი, 1997; დ. ჭავჭავაძე, 1999; რ. რუხაძე, 1999; მ. გონგაძე, 2004). გარდა ამისა, დადგინდა, რომ

პლაფერონი ლბ-ს გამოყენება ღვიძლის სხვადასხვა პათოლოგიის დროს ღვიძლს მეტაბოლური და მორფოლოგიური ცვლილებების განვითარებისგან იცავს (მ. ფაშალაშვილი, 1995; დ.პავლიაშვილი, 1999; Rukhadze et al., 1998; Chikovani et al., 1999). უფრო მეტიც, შესწავლილია პლაფერონი ლბ-ს ანტიაპოპტოზური თვისებაც (ჭოჭუა და სხვ., 2006). პრეპარატის ჰეპატოპროტექტორული მოქმედების ზუსტი მექანიზმი კი დღემდე უცნობია.

ყოველივე ზემოთთქმულიდან გამომდინარე, მიზანშეწონილად ჩავთვალეთ, შეგვესწავლა აპოპტოზის როლი ჩონ- ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის ექსპერიმენტულ მოდელში და მასზე იმუნომოდულირებელი პრეპარატების გავლენა.

ყოველივე ზემოთ თქმულიდან გამომდინარე, მიზანშეწონილად ჩავთვალეთ, შეგვესწავლა აპოპტოზის როლი Con-A ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის ექსპერიმენტულ მოდელში და მასზე იმუნომოდულატორების მოქმედების მექანიზმი.

კვლევის მიზანი და ამოცანები

კვლევის მიზანს ექსპერიმენტული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს ღვიძლში განვითარებული აპოპტოზური ცვლილებებისა და მასზე იმუნომოდულატორების გავლენის შესწავლა წარმოადგენდა.

აღნიშნული მიზნის მისაღწევად შემდეგი კონკრეტული ამოცანების გადაწყვეტა დაისახა:

1. Con-A-ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის ექსპერიმენტული მოდელის შემუშავება (კონკანავალინ A-ს დოზის შერჩევა ტრანსამინაზების დონის ცვლილებებით);
2. იმუნომოდულატორების (პლაფერონი ლბ, დექსამეტაზონი) გავლენის შესწავლა Con-A ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს პლაზმაში ტრანსამინაზების აქტივობაზე;

3. Con-A ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს კასპაზების (3, 8) აქტიურობისა და მათზე იმუნომოდულატორების გავლენის შესწავლა;
4. იმუნომოდულატორების გავლენის შეფასება Con-A ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს ღვიძლში განვითარებულ ჰისტოლოგიურ ცვლილებებზე;
5. იმუნომოდულატორების გავლენის შესწავლა Con-A ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს სისხლში განვითარებული ოქსიდაციური პროცესების მაჩვენებლებზე (ოქსიდანტური და ანტიოქსიდანტური სისტემის შეფასება).

კვლევის მეცნიერული სიახლე

წინამდებარე ნაშრომში პირველად დადგინდა, რომ მსუბუქი ფორმის ჰეპატიტის დროს ღვიძლში ძლიერდება კასპაზა 3 და 8-თ წარმოებული აპოპტოზი.

დადგინდა, რომ იმუნომოდულატორების გამოყენება Con-A-ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს ღვიძლს იცავს პათოლოგიური ცვლილებების განვითარებისაგან. ამასთანავე, პლაფერონი ღბ ღვიძლის ქსოვილში განვითარებული ცვლილებების სწრაფ აღდგენას უზრუნველყოფს.

პირველად იქნა ნაჩვენები, რომ მსუბუქი ჰეპატიტის დროს პლაფერონი ღბ ზრდის კასპაზების 3, 8 აქტიურობას და ამით ხელს უწყობს დაზიანებული უჯრედების მოცილებას აპოპტოზის გზით. დაზიანებული უჯრედების მოშორება კი, თავის მხრივ, აღკვეთს დაავადების ქრონიზაციის შესაძლებლობას.

ნაშრომის პრაქტიკული ღირებულება

წინამდებარე ნაშრომის შედეგებმა გამოავლინა პლაფერონი ღბ-ს პროაპოპტოზური თვისება და ცხადყო მისი მოქმედების ზოგიერთი მოლეკულური მექანიზმი, რაც საფუძვლად დაედება მის გამოყენებას

არამარტო მწვავე ვირუსული ჰეპატიტების, არამედ, ღვიძლის ქრონიკული ინფექციის დროს.

დაცვაზე გამოტანილი ძირითადი დებულებები

- მსუბუქი ჰეპატიტის ექსპერიმენტულ მოდელში პლაფერონი ლბ-ს გამოყენება აჩქარებს ღვიძლში რეგენერაციული პროცესების განვითარებას.
- პლაფერონი ლბ-ს გამოყენება Con-A-ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის ექსპერიმენტულ მოდელში ზრდის ჰეპატოციტებში კასპაზების (3 და 8) აქტიურობას ღვიძლის ნორმალური მორფო-ფუნქციური მდგომარეობის აღდგენის პერიოდში.
- პლაფერონი ლბ ექსპერიმენტის სხვადასხვა ვადაზე სისხლში აზოტის ოქსიდის შემცველობაზე განსხვავებულად მოქმედებს.

ექსპერიმენტული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს იმუნომოდულატორების გამოყენება სისხლში გლუტათიონრედუქტაზას დონეს არეგულირებს.

ნაშრომის აპრობაცია

დისერტაცია აპრობირებულია საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტში ბიომედიცინისა და ბიოტექნოლოგიის განყოფილებების გაფართოებულ სხდომაზე 2006 წლის 3 მაისს. დისერტაცია რეკომენდირებულია საჯარო დაცვისათვის.

დისერტაციის ძირითადი დებულებები მოხსენებულია

I საერთაშორისო კონფერენცია – “სამედიცინო რეაბილიტაცია და რაიტერაპია” (თბილისი, 20-24 ივნისი, 2006).

დისერტაციის მოცულობა და სტრუქტურა

დისერტაცია წარმოდგენილია ნაბეჭდი ტექსტის 101 გვერდზე. შეიცავს შესავალს, ლიტერატურის მიმოხილვას, მასალისა და მეთოდის

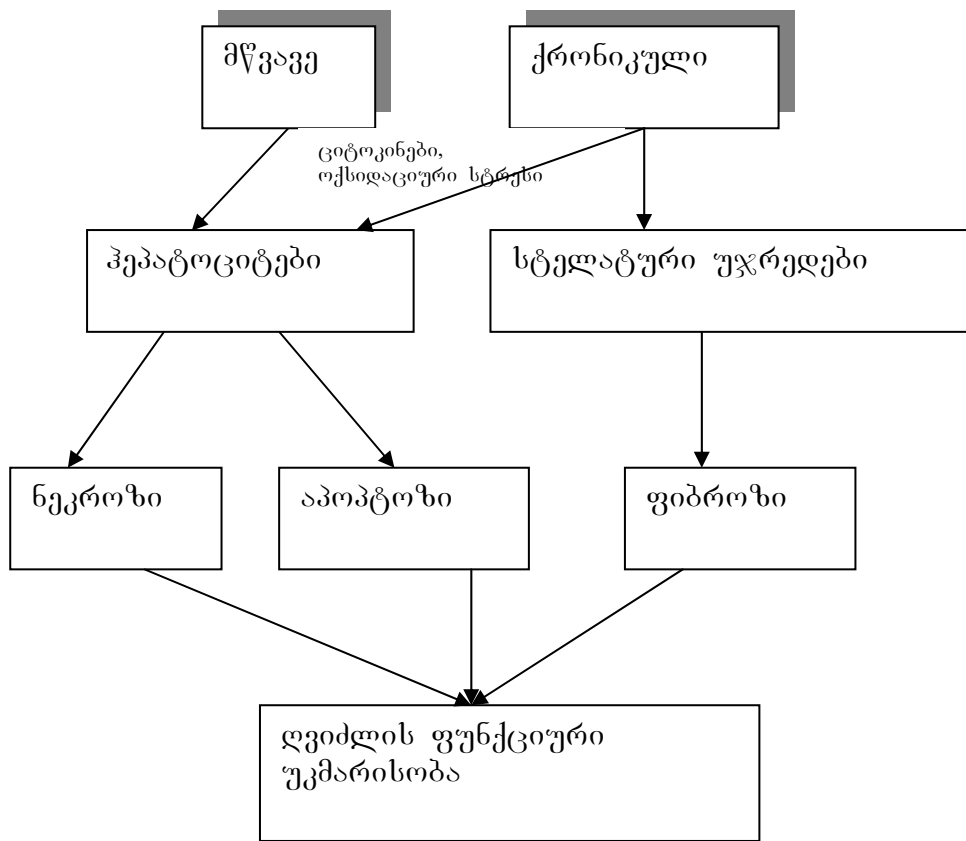
აღწერას, საკუთარ გამოკვლევებს, კვლევის შედეგების ანალიზს, დასკვნებს, პრაქტიკულ რეკომენდაციებს და გამოყენებული ლიტერატურის სიას. ნაშრომი გაფორმებულია 2 სქემით, 1 ცხრილით, 6 დიაგრამით და 13 სურათით. ლიტერატურის სია წარმოდგენილია 185 დასახელებით (მათ შორის 10 ქართულენოვანი და 175 ინგლისურენოვანი წყაროთი).

I თავი - ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1 იმუნური პასუხით განპირობებული ღვიძლის დაზიანების მექანიზმები

ღღისათვის ჰეპატიტების გამომწვევი რამდენიმე ვირუსია ცნობილი. ჰეპატიტის ვირუსი პირდაპირი ციტოპათიურობით არ გამოიჩენება (Lok et al., 2001). აქედან გამომდინარე, ჰეპატოციტების ღიზის ორგანიზმის იმუნური პასუხის სიძლიერეზეა დამოკიდებული (Dudley et al., 1972). აუტოიმუნური გენეზისა და არაციტოპათიური ვირუსებით (HBV, HCV) გამოწვეული ჰეპატიტების დროს ღვიძლის დაზიანებას T უჯრედული რეაქცია განაპირობებს. ვირუსული ეტიოლოგიის ღვიძლის დაზიანების დროს უჯრედ-დამოკიდებული იმუნური პასუხი მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ჰეპატოციტულარული ნეკროზისა და იმუნოპათოგენური მექანიზმების განვითარებაში. ცნობილია, რომ ღვიძლის მწვავე დაზიანებას პათოლოგიური აპოპტოზი განაპირობებს (Gremion et al., 2004; Kountouras et al., 2003). აპოპტოზის დეფექტმა კი შეიძლება ავთვისებიანი ტრანსფორმაცია, ვირუსული ლატენტური მიმდინარეობა და აუტოიმუნური დაავადებები გამოიწვიოს (Solary et al., 1996).

ვირუსული ჰეპატიტების დროს ღვიძლის ქსოვილში საერთო ჰისტოლოგიური ცვლილებები ვითარდება. კერძოდ, დამახასიათებელი ნიშანია ღვიძლის მწვავე ანთება და ქრონიზაციის შემთხვევაში ფიბროზული გადაგვარება. ანთებითი პროცესების დროს ხშირად ხდება ღვიძლში ლიმფოციტებით ინფილტრაცია, ჰეპატოციტების მასიური ნეკროზი, რომელსაც თან ერთვის ლეიკოციტური და ჰისტოციტური რეაქცია (Adams et al., 1989).



სქემა №1. აპოპტოზის სქემატური როლი ღვიძლის დაზიანების განვითარებაში

მასიური ფულმინანტური ნეკროზის დროს მთელი აცინუსი ზიანდება. ღვიძლი ზომაში მცირდება. ნეკროზის ფართო გავრცელებისას ადგილი აქვს ქსოვილის ნეკროზს შემაერთებელქსოვილოვანი ხარისხების შენარჩუნებით. ამ ნეკროზს “მასტოიდურს” უწოდებენ. შედეგად, საბოლოოდ შეიძლება ციროზი განვითარდეს. ხშირად მას ნაწიბურის განვითარება სდევს თან.

ჰეპატოციტულარული დაზიანება უმეტეს შემთხვევაში გამოწვეულია არა უშუალოდ დამაზიანებელი აგენტის, არამედ იმ ანთების უჯრედების მიერ, რომლებიც სტრესის ქვეშ მყოფმა ჰეპატოციტებმა მოიხიდეს (Ando et al., 1997). ღვიძლი კრიტიკულ ორგანოა ადამიანის სხვა სიმსივნების დროსაც. ჰეპატოციტულარული კარცინომა მსოფლიოში ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებული მზარდი სიხშირის სიმსივნეა. გარდა ამისა, ღვიძლი მეტასტაზის გამო სხვა სიმსივნების უმრავლესობის სამიზნეცაა.

ჰეპატოციტულარული კარცინომა მეტად ახლოს დგას ქრონიკულ ჰეპატიტთან და ციროზთან, რაც რეგენერაციის დროს ზრდის კონტროლის მექანიზმებში მომხდარ ცვლილებებზე მიუთითებს. ეს კი, თავის მხრივ, ნაწილობრივ ციტოკინების მოქმედების შედეგია და ღვიძლის კარცინოგენეზშიც შეიძლება ჰქონდეს ადგილი.

ნორმალურ ჰეპატოციტებს სხვადასხვა ციტოკინის (ინტერლეიკინ-1 ალფას (IL-1 α), ინტერლეიკინ-1 ბეტას (IL-1 β), სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორის (TNF), IL-6-ის) რეცეპტორები გააჩნია. გარდა ამისა, ღვიძლის უჯრედების უმეტესობას, როგორცაა კუპფერის უჯრედები, ჰეპატოციტები, და ლიმფოციტები, ციტოკინების სინთეზისა ან მათზე რეაგირების უნარი შესწევს. ამდენად, ღვიძლი ციტოკინების როგორც მთავარ მწარმოებელს, ისე მათ გამანადგურებელს წარმოადგენს. ამის გამო, ღვიძლის დაავადების მრავალი ტიპი ციტოკინების მეტაბოლიზმის რეგულირების მოშლას უკავშირდება. ღვიძლის დაავადების მიზეზისდა მიხედვით, რამდენიმე ინფექციური, არაინფექციური და მეტაბოლური აგენტი ციტოკინების გამომუშავების მთავარ სტიმულებს შეიძლება წარმოადგენდეს.

მწვავე ვირუსული ჰეპატიტების დროს იზრდება IL-6, TNF α , IL-1 და IL-2 კონცენტრაციები, რომლებსაც აქვთ პრო-ანთებითი და ციტოტოქსიური ეფექტი (Bertoletti et al., 2003). ქრონიკული HBV-ს დროს IL-2 და TNF α -ს შემცველობა მცირდება და იზრდება IL-1 და IL-2R დონე. ქრონიკული HCV-ს დროს კი IL-2R იზრდება, ხოლო IL-2 და IFN γ მცირდება.

ჰეპატიტების დროს გაზრდილი ვირუსული რეპლიკაცია ROS-დამოკიდებული ბირთვის ტრანსკრიფციის ფაქტორ kappa-B-ს გამონთავისუფლებას იწვევს (Schwarz, 1996). მწვავე ვირუსული ჰეპატიტების დროს IL-1 α , IL-1 β , IL-6 და TNF α -ს დონე იზრდება (Tsutsui et al., 2003), დაბალია ლიპოპროტეინ(ა)-ს დონე (Geiss et al., 1996).

იმუნური პასუხი ვირუსის ელიმინაციაში უდიდეს როლს თამაშობს, რაც დამტკიცებული იქნა მწვავე B და C ჰეპატიტებს შესწავლისას. მწვავე B ჰეპატიტის მიმდინარეობა HBV-ს მიმართ ციტოტოქსიური T-ლიმფოციტების (CTL) პოლიკლონური პასუხით ხასიათდება, რაც არ

შეინიშნება ქრონიკული B ჰეპატიტით დაავადებულებში. დადგენილია, რომ დაავადების გამოსავალი HBV-სპეციფიურ CTL პასუხზეა დამოკიდებული (Rehermann, 1996).

მწვავე B ჰეპატიტის დროს HBV-ს ოლიგოპეპტიდები უკავშირდებიან მასპინძლის უჯრედების MHC I კლასის მოლეკულებს და ტრანსპორტირდებიან უჯრედის ზედაპირზე. ასეთ უჯრედებს T-ლიმფოციტები აღმოაჩენენ და ანადგურებენ (Kakimi et al., 2000). თუ არ მოხდა ვირუსის ელიმინაცია, პროცესი ქრონიკულ ხასიათს იღებს. მწვავე B ჰეპატიტის კეთილსაიმედო მიმდინარეობის დროს იმუნური სისტემა ვირუსის ელიმინაციას უზრუნველყოფს მანამ, სანამ უჯრედის გენომში ვირუსის გენომის საბოლოო ინტეგრაცია მოხდება. HBV ინფექციის იმუნოპათოგენური მექანიზმების განვითარებაში ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი როლი ციტოკინებს ეკუთვნის. ისინი იმუნური სისტემის მოდულაციას ახდენენ და პირდაპირი ანტივირუსული მოქმედება გააჩნიათ (Missale et al., 1995). მწვავე B ჰეპატიტის ფულმინანტური მიმდინარეობის დროს მომატებულია IL-1, IL-2, IL-6 და TNF α (Webster et al., 2000; Missale et al., 1995). ნორმაში ჰეპატოციტები გამოყოფენ უჯრედშორისი ადჰეზიის მოლეკულა-1-ის (ICAM-1) ძალიან მცირე რაოდენობას, რაც აღმოჩენილი იქნა იმუნოპათოლოგიურად. ICAM-1-ის ჭარბი ექსპრესია უჯრედებზე ღვიძლის ანთებითი დაზიანების მაუწყებელია, რასაც ხელს უწყობენ IL-1 β , TNF α , IFN γ და ენდოტოქსინი (Sato et al., 1996). B ჰეპატიტის დროს ინდუცირებული პერიფერიული სისხლის მონონუკლეური უჯრედების სიკვდილი შეიძლება IL-12 ჰეტეროდიმერის და IL-10-ის ექსპრესიის ანორმალურობასთან იყოს დაკავშირებული (Ji et al., 2001). გარდა ამისა, ჰეპატიტის B ვირუსი ზრდის iNOS-ის ტრანსკრიფციას უჯრედულ კულტურებში (Amaro et al., 1999). უნდა აღინიშნოს, რომ მწვავე B ჰეპატიტის დროს პერიფერიული სისხლის მონონუკლეური უჯრედების სპონტანური პორლიფერაციის მატების ფონზე ამ უკანასკნელთა პასუხი მიტოგენურ სტიმულაციაზე დათრგუნულია, რაც ლიმფოციტებისა და

მონოციტების ფუნქციური აქტივობის დაქვეითებით არის გამოწვეული (დ. პავლიაშვილი 1999).

ვირუსის პერსისტენცია შესაძლოა დამოკიდებული იყოს T უჯრედების სპეციფიურ დეფექტთან, რომელიც HBV ანტიგენის გამომცნობას უშლის ხელს (Zheng et al., 2004). როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, ქრონიკული ჰეპატიტების დროს განვითარებული იმუნური პასუხი სუსტია. თუ ქრონიკული B ჰეპატიტის დროს იმუნური პასუხი ძალიან სუსტია, მაშინ ღვიძლის დაზიანებაც ნაკლებია ან საერთოდ არ აღინიშნება, ხოლო ვირუსი რეპლიკაციას აგრძელებს ღვიძლის ნორმალური ფუნქციის ფონზე. ასეთი ავადმყოფები “ჯანმრთელი” მატარებლები ხდებიან. ამას განსაკუთრებული მნიშვნელობა აქვს ლეიკემიით დაავადებულთათვის, თირკმლის უკმარისობის ან გადანერგილი ორგანოს მქონე პირთათვის, იმუნოსუპრესული მკურნალობის ქვეშ მყოფი პაციენტებისთვის, შიდსით დაავადებულთათვის, ახალშობილებისთვის. მათ ღვიძლში საკმაო რაოდენობით HBsAg-ია აღმოჩენილი, მიუხედავად იმისა, რომ არ არსებობს ჰეპატოციტულარული ნეკროზი. თუ უჯრედ-დამოკიდებული იმუნური პასუხი უფრო გამოხატულია, მაშინ ჰეპატოციტულური ნეკროზი ვითარდება, მაგრამ ეს პასუხი საკმარისი არ არის ვირუსის ელიმინაციისათვის, საბოლოოდ კი ქრონიკული ჰეპატიტი ვითარდება (Dudley et al., 1972).

ასე რომ, B ჰეპატიტის გამოსავალი ჰუმორული და უჯრედული იმუნიტეტის მდგომარეობით განისაზღვრება.

ვირუსით ინფილტრირებული ჰეპატოციტების ლიზისის შეუძლებლობა მრავალი მექანიზმით აიხსნება. იგი შეიძლება დაკავშირებული იყოს სუპრესორული T უჯრედული ფუნქციის გაძლიერებასთან, ციტოტოქსიური ლიმფოციტების (კილერების) დეფექტთან ან უჯრედის მემბრანაზე ანტისხეულების ბლოკირებასთან.

ქრონიკული B ჰეპატიტის დროს ანტიგენით გააქტივებული ლეიკოციტები ციტოკინებს გამოიმუშავენ და ხდება არასპეციფიური იმუნური პასუხის გაცემა. აღნიშნული ციტოკინები მოიცავს

ინტერფერონსაც. ორგანიზმი ინფექციას ინტერფერონის პროდუქციით პასუხობს, რაც 2 ეფექტს იძლევა: ენზიმების (მაგ: 2'5'-ადენილადსინთაზა) ლოკალური სტიმულაცია, რომლის საშუალებითაც ვირუსის დნმ-ის რეპლიკაცია ინჰიბირდება, და იმუნური პასუხის სტიმულაცია, რომელიც ციტოტოქსიური ლიმფოციტების და NK უჯრედების აქტივაციით ხორციელდება (Ratajczak, 1993). ზოგიერთ შემთხვევაში დაქვეითებულია ინტერფერონის პროდუქცია, რაც ჰეპატოციტების მემბრანაზე ადამიანის I კლასის ლეიკოციტური ანტიგენის ექსპრესიას უშლის ხელს. აქტიური HBV ინფექციის დროს ღვიძლში ლოკალურად პროდუცირდება IFN γ , IL-1 და TNF α . (Tsutsui et al., 2003). შესაძლოა, ეს ანთების არასპეციფიური გამოვლინება იყოს. ამ დროს აღმოჩენილია აგრეთვე IL-2, IL-4, IL-5-ის მატრიცული რნმ-ები. ანალიზებმა ცხადყო, რომ IFN γ -ს აბსოლუტური დონე მიმართულია ღვიძლის მძიმე ანთებითი პროცესის კორელაციისკენ (Shindo et al., 1996).

ქრონიკული ჰეპატიტის დროს გამომწვევი ვირუსის მიმართ სუსტი იმუნური პასუხი ვითარდება (Jeroen et al., 2005). აღსანიშნავია, რომ იმუნური რეაქციები ამ დროს ჰეპატოციტების მემბრანის კომპონენტებისაკენ არის მიმართული. ამასთანავე, ნახვენებია უჯრედული იმუნური პასუხი ჰეპატოციტების ანტიგენების მიმართ. აღნიშნული იმუნიტეტი გააქტიურებული ლიმფოციტებით და მონონუკლეური უჯრედებით ხორციელდება. ქრონიკული ჰეპატიტების დროს გააქტივებული უჯრედების მიერ გამოთავისუფლდება ციტოკინები, რომლებიც ინიცირებენ წამყვან კასკადურ რეაქციებს, რაც პათოლოგიის აღმოფხვრისაკენ არის მიმართული (Streetz et al., 2001). IL-1 β ჰეპატოციტების Fas-დამოკიდებული აპოპტოზის სუპრესიას ახდენს. ეს კი კასპაზა 3-ის სუპრესიით ხორციელდება, რომელიც აპოპტოზის კონტროლს ახდენს (Takehara et al., 1999). IL-2 ააქტიურებს NK უჯრედებს, რომლებსაც ჰეპატოციტების აპოპტოზი და ნეკროზი შეუძლიათ გამოიწვიონ (Blom et al., 1999).

1989 წელს C ჰეპატიტის ვირუსის იდენტიფიკაცია მოხდა. სტატისტიკური მონაცემებით, მსოფლიოს დონორთა 0.01-2%-ის სისხლი C ჰეპატიტით არის ინფიცირებული (Alter et al., 1995), ხოლო იმ პირებს, რომლებსაც ჰემოტრანსფუზია მრავალჯერადად უტარდებოდათ, შემთხვევათა 10-15%-ში ანტი-HCV გამოუვლინდათ (Makris et al., 1990). HCV-ინფიცირებული ნემსით ჩხვლეტისას ავადდება 3-10% (Mitsui et al., 1992). აშშ-ში ნარკომანთა 40% მწვავე C ჰეპატიტით არის დაავადებული (საერთო შპრიცების გამოყენების გამო), ხოლო დიდ ქალაქებში მცხოვრებ ნარკომანთა 28%-ს ინფექციიდან 2 წლის შემდეგ სისხლში ანტი-HCV ანტისხეულები აღენიშნება. ფიქრობენ, რომ სქესობრივი გზით C ჰეპატიტით ინფიცირების ალბათობა უმნიშვნელოა (Bresters et al., 1994). აგრეთვე ნაკლებად აღინიშნება ვირუსის ვერტიკალურად გადაცემის შემთხვევებიც. მისი სიხშირე იმ შემთხვევაში მატულობს, როცა დედის სისხლში HCV-ის რნმ არის მომატებული (Ohto et al., 1994).

აღსანიშნავია, რომ HCV ვირუსი ცირკულირებს ღვიძლსა და სისხლში, ხოლო სხეულის სხვა ნაწილებში იგი არ მოიპოვება. ვირუსი გამოირჩევა ძლიერი რეზისტენტულობით გარემო პირობებისადმი და დაღვრილი სისხლის გამშრალ ლაქებში თვეობით ცხოვრობს (Liang et al., 2000).

C ჰეპატიტი უფრო ხშირად უსიმპტომოდ მიმდინარეობს და დაახლოებით 70-80%-ში ქრონიკულ ხასიათს იძენს. ე.ი. მწვავე C ჰეპატიტი ინფიცირებულთა მხოლოდ მცირე ნაწილში აღინიშნება.

C ჰეპატიტის გამომწვევი ვირუსის ორგანიზმში მოხვედრა პროცესში სხვადასხვა იმუნური სტიმულის ჩართვას განაპირობებს (Lauer et al., 2001). იზრდება IL-2, IL-6, IL-10 და IFN α დონე (Mihm et al., 1997), მატულობს ალანინამინოტრანსფერაზას შემცველობა, ირღვევა ოქსიდანტ-ანტიოქსიდანტური სისტემა, რაც ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის გააქტივებას (Paradis et al., 1997) და ოქსიდაციური სტრესის განვითარებას უწყობს ხელს (Mutlu-Tarkoglu et al., 1997). თავისუფალი რადიკალების მომატება გლუტათიონის და მალონდიალდეჰიდის გააქტიურებას იწვევს

(Farinati et al., 1996), ყოველივე ზემოთ თქმული კი ხელს უწყობს ღვიძლის დაზიანებას და ფიბროზის განვითარებას. HCV-ის რნმ-ის სისხლში ინფიცირებიდან 1-2 კვირის შემდეგ აღმოჩნდება (Thimme et al., 2001). HCV ჰეპატიტის დროს ღვიძლის უჯრედების დაზიანებაში დიდ როლს თამაშობს Fas სისტემა (Hiramatsu et al., 1994). Fas არის უჯრედების ზედაპირული პროტეინი, რომელიც იწვევს აპოპტოზს (Mita et al., 1994).

მსოფლიოში ღვიძლის ციროზის და პოსტრანსფუზიული ჰეპატიტის განვითარების მიზეზად შემთხვევითა 90%-ში C ჰეპატიტი გვევლინება პოსტრანსფუზიული და საყოფაცხოვრებო გზით HCV-ინფიცირებულთა გამოკვლევით დადგინდა, რომ ინფიცირებულთა 67%-ს 6 თვის შემდეგ ალანინამინოტრანსფერაზას მომატება აღენიშნება (Alter et al., 1995). პირებს, რომელთაც შრატის ტრანსამინაზების აქტივობის მაღალი დონე და ანტი-HCV ზრდა აღენიშნებოდათ, სისხლში C ჰეპატიტის გამომწვევი ვირუსი (HCV-ის რნმ) აღმოაჩნდათ. ამ დროს შეიძლება ადგილი ჰქონდეს ჰეპატოციტების არანორმალურ პროლიფერაციას, რაც, თავის მხრივ, ჰეპატოციტულარული კარცინომის განვითარების რისკს ზრდის.

ამჟამად უფრო და უფრო მეტი მონაცემები მეტყველებს იმაზე, რომ HCV-ს ქრონიზაციაში დიდ როლს თამაშობს იმუნური მექანიზმები (Wegst et al., 1995). არსებობს მტკიცებულება, რომ ქრონიკული C ჰეპატიტის დროს ადგილი აქვს ღვიძლისმიერ ციტოტოქსიურობას და იმუნური პასუხის განვითარებას, მაგრამ გაურკვეველია, თუ რა როლს ასრულებს იგი როგორც დამცავი ფაქტორი და როგორც ქრონიკული ინფექციის გამომწვევი ფაქტორი (Nelson et al., 1997; Wong et al., 1998). ამ დროს მატულობს IFN γ და iNOS-ის გენის ექსპრესია, რომლებიც მონაწილეობას იღებენ აუტოკრინულ და პარაკრინულ პროცესებში და ხელს უწყობენ ქრონიკული C ჰეპატიტის პათობიოლოგიას (Schweyer et al., 2000). ქრონიკული HCV-ს დროს ციტოპროლიფერაცია უფრო მკვეთრია, მაშინ როცა აპოპტოზი იმაზე ნაკლებია, ვიდრე ღვიძლში სხვა დაზიანებების დროს. დისბალანსი ციტოპროლიფერაციასა და აპოპტოზს შორის ღვიძლის

დაზიანებასა და ღვიძლის ქსოვილოვანი რკინის ღონესთან არის კავშირში (Farinati et al., 2001).

დაავადების სიმძიმესა და ვირემიას შორის არსებობს კორელაცია, რაც სისხლის შრატში ალანინამინოტრანსფერაზას აქტივობის მომატებით დასტურდება. ამას HCV-რნმ-ის ტიტრის მატება ერთვის თან. ამ დროს იმუნოდეპრესიული მკურნალობა, მართალია, აქვეითებს შრატისმიერი ტრანსამინაზების აქტივობას, მაგრამ ვირემია მატულობს (Kagawa et al., 1993).

ქრონიკული C ჰეპატიტის დროს შრატის ტრანსამინაზების მომატება ღვიძლის დაზიანების ხარისხს არ ასახავს. მაგრამ, თუ იგი 10-ჯერ აღემატება ნორმას, მაშინ ეს ანთებითი და ნეკროზული ცვლილებების მომატების მაუწყებელია (Haber et al., 1995).

ქრონიკული C ჰეპატიტის დროს შესაძლებელია, აუტოიმუნური ჰეპატიტიც განვითარდეს, რაც ზოგიერთი ავტორის აზრით, ინტერფერონით არის ინიცირებული (Garcia-Buey et al., 1995).

აუტოიმუნური ჰეპატიტისთვის დამახასიათებელია შრატში ტრანსამინაზების აქტივობის და აუტოანტისხეულების ტიტრის უეცარი მომატება. ამ დროს იმუნოდეპრესიული თერაპია ეფექტურია (Sherlock, 1999).

ვირუსული ჰეპატიტების დროს ღვიძლის დაზიანებაში ოქსიდანტ-ანტიოქსიდანტური ბალანსის დარღვევა მნიშვნელოვან როლს თამაშობს (Sato et al., 1996). ამ დროს ჰეპატოციტებში გროვდება დიდი რაოდენობით თავისუფალი რკინა, რაც აზიანებს ღვიძლის მემბრანულ და სუბმემბრანულ სტრუქტურებს. ამასთანავე აქტიურდება ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვა, ინაქტივირდება მიტოქონდრიული სუპეროქსიდდისმუტაზა და ვითარდება ოქსიგენური სტრესი (Schwarz et al., 1996). ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვა ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნის კლასიკურ გზას წარმოადგენს. იგი ფოსფოლიპიდების მემბრანის სტრუქტურის შეცვლას და მისი მთლიანობის დარღვევას განაპირობებს, თავისუფალ-რადიკალური

სახეობები მემბრანის დაზიანებითა და ტრანსმემბრანული იონური ბალანსის შეცვლით უჯრედების სიკვდილს განაპირობებენ (Halliwell et al., 1990). ენზიმური და არაენზიმური ოქსიდანტური სისტემის მრავალი კომპონენტი (სუპეროქსიდდისმუტაზა, კატალაზა, გლუტათიონ პეროქსიდაზა, აღდგენილი გლუტათიონი, ფოსფოლიპიდები) დაინჰიბირებული არიან ტოქსინების მიერ, ამავე დროს სისხლში მატულობს ცერულოპლაზმინის დონე (Korda, 1996).

ოქსიგენური სტრესი, თავის მხრივ, iNOS-ის გააქტიურებას და აზოტის ოქსიდის ჭარბ პროდუქციას იწვევს (Turpaev et al., 1998). iNOS-ის პროდუქცია იზრდება ჰეპატოციტებში სტრესის წარმოქმნის საპასუხოდ. ეს პასუხი კი ხორციელდება მრავალ სხვადასხვა ფაქტორს შორის კომპლექსური ურთიერთობით, როგორებიცაა კუპფერის უჯრედების გააქტიურება, რეაქტიული ჟანგბადის ფორმების წარმოქმნა, კოლაგენოზების წარმოქმნის ენდოტოქსიური კონტამინაცია (Tirmenstein et al., 2000). NO-ს მოქმედების ერთ-ერთი შედეგი კი მის მიერ ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის გაზრდა (Dobash et al., 1997) და ამ ფერმენტთა მაკოდირებული გენების ექსპრესიაა (Nunoshiba et al., 1993). გარდა ამისა, თავად NO ანტიოქსიდანტურ თვისებებსაც ამჟღავნებს. დადგენილია, რომ NO TNF α -ით ინდუცირებული კასპაზა 3 და კასპაზა 8-ის გააქტიურებისაგან და უჯრედის აპოპტოზური სიგნალისაგან ჰეპატოციტთა დაცვას უზრუნველყოფს (Li et al., 1999; Rai et al., 1998). NO ხელს უწყობს IL-10-ის სიმსივნის საწინააღმდეგო მოქმედებას (Sur et al., 2000).

უნდა აღინიშნოს ისიც, რომ NO-ს ციტოპროტექტორულ ზემოქმედებასთან ერთად, რასაც იგი აპოპტოზის დათრგუნვით აღწევს, ამავე უჯრედების სიკვდილის გამოწვევაც შეუძლია (Melino et al., 1997). NO თრგუნავს NF-kB-ს ექსპრესიას ენდოთელურ უჯრედებში (Spiecker et al., 1998). ქრონიკული ვირუსული ჰეპატიტების მიმდინარეობაში NO მნიშვნელოვანი პათოლოგიური პროცესების ჩამოყალიბებას განაპირობებს (Majano et al., 1998). პათოლოგიური პროცესები კი IFN α , TNF α , ბაქტერიული

პოლისაქარიდით და დექსამეტაზონით რეგულირდება. ამასთან, $IFN\alpha$ იწვევს iNOS-ის გენის ექსპრესიას, TGF- β 1 აინჰიბირებს ციტოკინ-ინდუცირებული NO-ს გამომუშავებას iNOS-ის პოსტ-ტრანსფუზიული სინთეზის ბლოკირებით (Koide et al., 1994).

ღვიძლის იმუნური დაზიანების მექანიზმების შესასწავლად ექსპერიმენტული მოდელები გამოიყენება. კონკანავალინ A (Con-A)-თი გამოწვეული ჰეპატიტი, როგორც ღვიძლის იმუნური დაზიანების ექსპერიმენტული მოდელი, ფართოდ გამოიყენება ჰეპატიტების პათოგენეზისა და მკურნალობის ახალი გზების შესასწავლად (Tiegs et al., 1992; Tagawa et al., 1997; Nikoletti et al., 2000; Kato et al., 2001). Con-A არის ლექტინი, რომელიც ააქტივებს ლიმფოციტებსა და მონოციტებს, რომლებიც, თავის მხრივ, *in vitro* გამოიმუშავენ სხვადასხვა ციტოკინს. იგი ღვიძლის სინუსის მიმართ მაღალი აფინურობით ხასიათდება (Tiegs et al., 1992). Con-A-თი გამოწვეული ღვიძლის დაზიანება T უჯრედების გააქტიურების შედეგად გამოწვეული ჰეპატოციტების აპოპტოზისა და ნეკროზის შედეგია. Con-A-ს აკუმულაცია ღვიძლის სინუსებში მოცირკულირე ლიმფოციტების გაზრდილ მოდენას და შემდგომ, ბლასტოიდური ფორმაციის გზით მის ლოკალურ პროლიფერაციას იწვევს. ღვიძლში იმუნური უჯრედების გააქტიურება იწვევს იმ ციტოკინების მომატებულ ექსპრესიას, რომლებიც ღვიძლის დამაზიანებელი ეფექტით ხასიათდებიან (Gantner et al. 1995; Leist et al., 1995). ლიმფოციტების ინფილტრაცია ღვიძლის ქსოვილში უკვე Con-A-ს შეყვანიდან 8 საათის შემდეგ იწყება, ხოლო ციტოკინთა უმრავლესობის მაქსიმალური დონე ლიმფოციტების ინფილტრაციამდე მიიღწევა. ეს კი აჩვენებს, რომ ციტოკინების დონის ადრეული მომატება ღვიძლის უჯრედების დაზიანებაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს (Mizuhara et al., 1994; Trautwein et al., 1998). Con A-ინდუცირებული ჰეპატიტების დროს მკვეთრად იზრდება CD8 მატრიცული რნმ, რომელიც ციტოტოქსიური T უჯრედების მარკერია, მაგრამ, CD8⁺ T-უჯრედულ ინფილტრაციას მინიმალური ეფექტი გააჩნია ჰეპატიტების განვითარებაში (Okamoto et al., 1998). ამ მხრივ

კრიტიკულ მედიატორებს γ ინტერფერონი (IFN γ) და სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორი α (TNF α) წარმოადგენენ (Ksontini et al., 1998; Trautwein et al. 1998; Tagawa et al., 1997). მათი დონეები მომატებულია. TNF α არის ციტოკინი, რომელიც ძირითადად გააქტიურებული მაკროფაგებისგან და ზოგიერთი სხვა ტიპის უჯრედის მიერ გამოთავადება. ანტი-TNF ანტისხეულების შეყვანა Con-A-ს დანიშნამდე თავებს ღვიძლის დაზიანებისგან იცავს, რაც განპირობებული TNF-ს დონის მნიშვნელოვანი შემცირებით.

TNF α მნიშვნელოვანი მედიატორია სხვადასხვა ფიზიოლოგიური და პათოლოგიური მდგომარეობის და აპოპტოზის დროს. იგი აუცილებელია ღვიძლის რეგენერაციის დროს ჰეპატოციტების ნორმალური პროლიფერაციისთვის. TNF α ფუნქციონირებს, როგორც კომიტოგენი და აინდუცირებს ბირთვული ტრანსკრიფციის ფაქტორ kB-ს, რომელსაც ანტი-აპოპტოზური ეფექტი აქვს. მეორე მხრივ, Con A-ინდუცირებული ჰეპატიტის დროს TNF α ჰეპატოტოქსიურობის მედიატორია, იწვევს რა აპოპტოზსა და ნეკროზს. იგი აგრეთვე მნიშვნელოვანი მედიატორია ვირუსული ჰეპატიტების დროს (Ray et al., 1998). რაც შეეხება IFN γ -ს, იგი აადვილებს მაკროფაგების ან NK უჯრედების აქტივაციას და პროლიფერაციას (Guidotti et al., 2001), MHC II კლასის ექსპრესიას (Gantner et al., 1995; Kustner et al., 1996). ჰეპატოციტების დაზიანებას აგრეთვე განაპირობებენ Fas/Fas ლიგანდი და პერფორინი (Iwai et al., 1999; Tagawa et al., 1998).

ჰისტოლოგიურად, Con-A ინდუცირებული ჰეპატიტის დროს ხდება T და პოლიმორფობირთვული უჯრედების ინფილტრაცია პორტულ არეში და ცენტრალური ვენის ირგვლივ. გარდა ამისა, Con-A ინდუცირებული ჰეპატიტისთვის დამახასიათებელია ზონათაშორისი ნეკროზი. ნეკროზის არეში აღმოჩენილია CD4⁺ T ლიმფოციტები (24 საათის შემდეგ), ხოლო 48 საათის შემდეგ როგორც CD4⁺, ასევე CD8⁺ T ლიმფოციტები (Sato et al., 1996).

Con-A ინდუცირებული ჰეპატიტის დროს ანთების მაკონტროლებელი მნიშვნელოვანი ფაქტორია აგრეთვე IL-10 (Watanabe et al., 1996; Tiegs et al.,

1997; Louis et al., 2003). იგი TNF α -ს და IFN γ -ს გააქტიურების დათრგუნვის გზით ღვიძლის დაზიანებას ამცირებს (Fiorentino et al., 1991). ენდოტოქსინის მოქმედებიდან მალევე კუპფერის უჯრედების მიერ IL-10-ის გენის ექსპრესია ხდება, ხოლო მოგვიანებით მას გამოიმუშვებენ პერიფერიული სისხლის უჯრედები, მაგალითად მაკროფაგები (Knolle et al., 1998). ზემოთ ჩამოთვლილი ციტოკინების გარდა Con-A ინდუცირებული ჰეპატიტის დროს ანთების განვითარების მნიშვნელოვანი ციტოკინია IL-12 (Masayoshi et al., 2000). გარდა ამისა, ამ დროს შეინიშნება ციტოქრომ P-450-ის გენის სუპრესია (Okamoto, 1999).

უნდა აღინიშნოს, რომ Con-A დამოკიდებული ჰეპატიტის დროს ციტოკინების ექსპრესიაზე პასუხისმგებელი არიან კუპფერის უჯრედები (Okamoto, 2000). ამ დროს გამოიყოფა IL-6, რომელიც დამცველ ეფექტს ავლენს (Mizuhara et al., 1994). გარდა ამისა, საგრძნობლად მატულობს IL-2, IL-4-ის დონეებიც (Masayoshi et al., 2000).

Con-A-ს შეყვანის შემდეგ საგრძნობლად მატულობს ICAM-1 და VCAM-1-ის ექსპრესია (Watanabe et al. 1996), რაც კორელაციაშია უჯრედებში NF-kB ძლიერ და სწრაფ გააქტივებასთან. ამრიგად, შესაძლოა ვიფიქროთ, რომ NF-kB-ს გააქტიურება ღვიძლის დაზიანებაში მონაწილეობს (Trautwein 1998).

Con-A-ს შეყვანა იწვევს არა მარტო ღვიძლის, არამედ სხვა ექსტრაჰეპატური ორგანოების დაზიანებას (ელენთა, ფილტვები, საკვერცხეები). ელენთაში იზრდება IL-2-ის დონე, ხოლო ელენთაში, ფილტვებსა და საკვერცხეებში IFN γ -ისა და TNF α -ს შემცველობა მატულობს (Okamoto et al., 1998).

მრავალი შრომა მიექვსნა Con-A ინდუცირებული ჰეპატიტების მკურნალობის შესწავლას. მაგალითად, Con-A ინდუცირებული ჰეპატიტების დროს ამინოგუანიდინი აინჰიბირებს ალანინამინოტრანსფერაზების აქტივობას, მაგრამ არ აინჰიბირებს ღვიძლში IL-2, IFN γ , TNF α და iNOS მატრიცული რნმ-ის ექსპრესიას (Okamoto et al., 2000).

LPS ხელს უშლის Con-A ინდუცირებული ჰეპატიტის განვითარებას, რაც IL-6-ის ექსპრესიის გაძლიერებით და NK1⁺ T უჯრედების მიერ სინთეზირებული IL-4-ის და IFN γ -ს ინჰიბირებით მიიღწევა. გარდა ამისა, LPS აინჰიბირებს IL-2R α -ს ექსპრესიას (Nishikage et al., 1999).

Con-A ინდუცირებული ჰეპატიტების დროს ღვიძლის იმუნური დაზიანების საწინააღმდეგოდ ეფექტურია დაბალმოლეკულური მასის ჰეპარინის გამოყენება (Hershkoviz et al., 1999).

ნახევნები იქნა, რომ Con-A ინდუცირებული ჰეპატიტების დროს ბერაპროსტი (პროსტაგლანდინების ოჯახის წევრი) ამცირებს ღვიძლის დაზიანებას და ამცირებს სიკვდილობას, აგრეთვე ალტ-ს დონეს პლაზმაში და ღვიძლის ჰისტოლოგიურ სურათს აუმჯობესებს. პროსტაგლანდინები და მისი ანალოგები მნიშვნელოვნად ზრდის ციკლური ადენოზინმონოფოსფატის კონცენტრაციას პროსტაგლანდინის რეცეპტორების საშუალებით, რაც თავის მხრივ ააქტიურებს პროტეინკინაზა A-ს სიგნალის ტრანსდუქციას. ამ პროტეინკინაზის გააქტიურება თრგუნავს T უჯრედების პროლიფერაციასა და ციტოკინების წარმოებას NF- κ B-ის ტრანსკრიპციული აქტიურობის დათრგუნვის საშუალებით, რომელიც ანთებითი ციტოკინების მთავარ ტრანსკრიპციულ ფაქტორს წარმოადგენს. მართალია, ბერაპროსტი ზრდის სპლენოციტების მიერ ინტერფერონ-გამას პროდუქციას *in vitro* პირობებში, *in vivo* პირიქით ინტერფერონის პროდუქციის სარწმუნო ინჰიბირება ხდება.

ვინაიდან ჰეპატიტების დროს ვლინდება ოქსიდაციური სტრესი, ერთ-ერთ თერაპიულ საშუალებად განიხილება ისეთი პრეპარატების გამოყენება, რომლებიც მოქმედებენ ოქსიდაციურ პროცესებზე. შესწავლილი იქნა ეგზოგენური აზოტის ოქსიდის დონორის მოლსიდომინის გავლენა Con-A ინდუცირებული ჰეპატიტის მოდელზე. აღმოჩნდა, რომ ციტოპროტექტორული მექანიზმი დროზეა დამოკიდებული. ეგზოგენური აზოტის ოქსიდის დონორის შეყვანა ღვიძლის დაზიანებამდე (პროფილაქტიკური მიზნით) ან დაზიანების შემდეგ ღვიძლს ჰეპატიტის შედეგად განვითარებული ცვლილებებისგან იცავს. მოლსიდომინით

მკურნალობა Con-A ინდუცირებიდან თუნდაც სამი საათის შემდეგ ღვიძლს დაზიანებისგან იცავს და რეკომენდებულია მისი კლინიკაში გამოყენება (Ding et al., 2004).

გლიცირიზინი ხელს უშლის Con-A ინდუცირებული ჰეპატიტის განვითარებას ეფექტური ციტოკინების ექსპრესიის გარეშე (Okamoto et al., 1999).

1.2 აპოპტოზის როლი ღვიძლის ნორმალურ ფუნქციონირებაში

ზრდასრული ღვიძლის პარენქიმაში უჯრედების გამრავლებისა და აპოპტოზის ტემპების შესახებ ინფორმაცია მწირია. ფიზიოლოგიურად აპოპტოზი ძალიან ძნელად ფიქსირდება, რადგან უჯრედების ცვლის მასშტაბი მინიმალურია. ღვიძლში ყოველ ათი ათას უჯრედზე მხოლოდ 1-5 აპოპტოზური უჯრედის დადგენა ხერხდება (Schulte-Hermann et al., 1995). ოდნავ განსხვავებულია ეს მაჩვენებელი დიეტური ფაქტორების ზემოქმედების დროს (Albright et al., 1997).

გარე თუ შიდა გზებით წარმოებული აპოპტოზი არსებითია ღვიძლში უჯრედული ჰომეოსტაზის შენარჩუნებაში (Igney et al., 2002). გარე გზა უჯრედის ზედაპირიდან Fas-ით, TNF-ით ან TGF- β -ით გაიშვება. შიდა გზა იწყება მიტოქონდრიიდან. მასზე ზეგავლენას ახდენს Bcl-2 ოჯახის წევრები. ორივე გზა ურთიერთგადახლართულია და გამორჩეულ ფიზიოლოგიურ როლს თამაშობს ღვიძლში. აპოპტოზური გზების რეგულაციის მოშლა ხელს უწყობს ისეთი დაავადებების განვითარებას, როგორცაა ჰეპატოცელულარული კარცინომა, ვირუსული ჰეპატიტი, აუტოიმუნური ჰეპატიტი, იშემია. აპოპტოზის დეფექტი ხშირად ცენტრალური პათოგენეტიკური მოვლენაა. აქედან გამომდინარე, აპოპტოზის მოლეკულური მექანიზმების შესწავლა არა მარტო დაავადებების მექანიზმების შესახებ სრული სურათის ჩამოყალიბებისთვის არის აუცილებელი, არამედ ხელს უწყობს ღვიძლის დაავადების პოტენციური თერაპიული მეთოდების შემუშავების პროცესს.

1.2.1 გარე აპოპტოზური გზები

Fas პროტოტიპური სიკვდილის რეცეპტორია. ის პირველად 1989 წელს აღწერეს (Trauth et al., 1989; Yonehara et al., 1989) და წარმოადგენს 42-52 კილოდალტონი მოლეკულური წონის მქონე გლიკოზილირებულ I ტიპის ტრანსმემბრანულ პროტეინს (უჯრედგარე ამინოტერმინალური დომენი). Fas ღვიძლის ყველა ძირითადი სახის უჯრედზეა ექსპრესირებული (ჰეპატოციტები, სტელატური უჯრედები, კუპფერის უჯრედები და ღვიძლის

ენდოთელური უჯრედები). ის შესაბამისი სპეციფიური ლიგანდით აქტივირდება. Fas-ის ლიგანდა II ტიპის ტრანსმემბრანული პროტეინია (უჯრედშიდა ამინოტერმინალური დომენი). Fas-სგან განსხვავებით, მისი ლიგანდა ღვიძლში ფიზიოლოგიურად არ არის ექსპრესირებული, მაგრამ აქტიურდება ღვიძლის დაზიანების შემთხვევაში (Eichhorst et al., 2000). Fas-ისა და მისი ლიგანდის კოექსპრესია კი უჯრედის თვითმკვლელობით მთავრდება. გარდა ამისა, ლიგანდას აპოპტოზის გამოწვევა ექსპრესირებული Fas-ის მქონე მეზობელ უჯრედებშიც შეუძლია (პარაკრინული სიკვდილი).

Fas-ის მთავარი ფუნქციაა აპოპტოზის პროცესის გაშვება (Krammer et al., 1994). მართალია, ის სხვადასხვა ქსოვილსა და უჯრედულ ხაზში გვხვდება (Moller et al., 1994; Weller et al., 1994), მისი უპირატესი ფიზიოლოგიური როლი შესაძლოა იმუნური სისტემის რეგულაციაში მდგომარეობს. ამის მაგალითია MRL/lpr თაგვის ფენოტიპი, რომელიც ძლიერ გააქტიურებული Fas-ის ექსპრესიას აჩვენებს (Mariani et al., 1994). Lpr თაგვს უვითარდება ლიმფადენოპათია და სპლენომეგალია, გარდა ამისა, გამოუმუშავდება აუტო-ანტისხეულების დიდი რაოდენობები. Fas-ის მოლეკულა თავდაპირველად მიჩნეულ იქნა როგორც უჯრედის ზედაპირული რეცეპტორი, რომელსაც ტრანსფორმირებული უჯრედების აპოპტოზური სიკვდილის მედიატორობა და შიშველ თაგვებში მზარდი ექსპერიმენტული სიმსივნეების რეგრესია შეეძლო (Trauth et al., 1989; Yonehara et al., 1989). სერიოზული სისტემური ეფექტების მიუხედავად, Fas-ით წარმოებული აპოპტოზის გამოყენებამ იმედები არ გაამართლა კიბოს თერაპიაში. მეორე მხრივ, დღეისათვის უკვე მრავალი დოკუმენტირებული მონაცემი არსებობს, რომლებიც უჯრედის სიკვდილის სხვადასხვა ფიზიოლოგიურ და პათოლოგიურ ფორმებში Fas-ის არსებით როლზე მიუთითებს (Nagata et al., 1995; Schulze-Osthoff et al., 1994). ჰეპატოციტები მუდმივად ახდენენ Fas-ის ექსპრესიას თავიანთ ზედაპირზე. ნაჩვენებია, რომ თაგვებში ამ რეცეპტორის სტიმულირება რამდენიმე საათში ღვიძლის მუშაობის ფულმინანტურ უკმარისობას იწვევს (Ogasawara et al., 1993; Rensing-Ehl et al., 1995). ვილსონის

მწვავე დაავადების დროს ღვიძლის უკმარისობა და ღვიძლის უჯრედების დაზიანება მოიცავს Fas-ით განვითარებულ აპოპტოზს (Strand et al., 1998). Fas/Fas-ლიგანდის სისტემის დადებითი რეგულაცია დემონსტრირებულია ალკოჰოლურ ციროზში, ქრონიკულ ვირუსულ ჰეპატიტი B-სა და C-ში და განსხვავებული ეტიოლოგიის მქონე ღვიძლის ფულმინანტურ უკმარისობაში (Strand et al., 1998).

Fas-სა და TNF-ის რეცეპტორ 1-ს გააჩნიათ ერთნაირი მოკლე უჯრედშიდა დომენი - ე.წ. “სიკვდილის დომენი” (Tartaglia et al., 1993). მემბრანებთან დაკავშირებული ლიგანდის არარსებობის დროს ყალიბდება Fas-ის ინაქტიური კომპლექსი (Scaffidi et al., 1998). Fas თავის ლიგანდასთან დაკავშირების დროს აპოპტოზურ სიგნალს უჯრედში აგზავნის ე. წ. “სიკვდილის დომენის” საშუალებით. თუმცა, სიგნალის ეფექტური გადაცემისთვის საჭიროა აგრეთვე ე.წ. “სიკვდილის გამომწვევი სიგნალირების კომპლექსის” ჩამოყალიბება. ეს არის Fas რეცეპტორთან დაკავშირებული უჯრედშიდა პროტეინული კომპლექსი, რომელიც უჯრედის შიგნით ერთ-ერთი თავისი კომპონენტის “Fas-ასოცირებული სიკვდილის დომენის” საშუალებით იკავშირებს პროკასპაზა 8-ს თავის მხრივ, პროკასპაზა 8 განიცდის ავტოლიზს. ორი პროკასპაზა 8-ის პატარა და დიდი დომენებიდან წარმოიქმნება ერთი აქტიური კასპაზა 8 (ორი დიდი და ორი პატარა დომენით), რომელიც ინიციატორი კასპაზაა, რადგან ის კასკადურად ააქტიურებს ყველა დანარჩენ ეფექტორ კასპაზას და საბოლოო ჯამში უჯრედის აპოპტოზურ სიკვდილს იწვევს (Cohen et al., 1997). ეფექტორი კასპაზების აქტივირების გარდა, კასპაზა 8-ს შეუძლია Bcl-2 ოჯახის წევრის Bid-ის გახლეჩვა და შემოკლებული Bid-ის (tBid) წარმოქმნა. ეს უკანასკნელი კი ააქტიურებს მიტოქონდრიას, რითაც კავშირი მყარდება სიკვდილის რეცეპტორით სიგნალირებასა და შიდა აპოპტოზურ გზას შორის.

Fas ლიგანდასთან ურთიერთქმედება ამ კომპლექსის რეორგანიზებას ახდენს, რასაც მოყვება “სიკვდილის გამომწვევი სიგნალირების კომპლექსის” ფორმირება. იგი შედგება “Fas-ასოცირებული სიკვდილის

დომენის ადაპტორი პროტეინებისგან”, კასპაზა 8 და 10-ისგან, რომლებსაც შეუძლიათ აპოპტოზის ინიციირება. Fas-ის ლიგანდის მიერ “სიკვდილის გამომწვევი სიგნალების კომპლექსის” ფარგლებში Fas-ის, “Fas-ასოცირებული სიკვდილის დომენის ადაპტორი პროტეინების”, კასპაზა 8-ისა და კასპაზა 10-ის დაჯგუფება იწვევს მოცემული კასპაზების აუტოპროტეოლიზურ დამუშავებასა და აქტიური პროტეაზების გამოთავისუფლებას. I ტიპის უჯრედებში დამუშავებული კასპაზა-8 საკმარისია კასპაზების ოჯახის სხვა წევრების გასააქტიურებლად, რომელთა მიერ შესაბამის სუბსტრატებზე ზემოქმედება აპოპტოზის ეგზეკუციურ ფაზას უხსნის გზას (Krammer et al., 2000). II ტიპის უჯრედებში Fas-ის მიერ ეფექტორი კასპაზების სათანადო გააქტიურება დამოკიდებულია ამპლიფიკაციურ მარყუქზე, რაც თავის მხრივ დამოკიდებულია კასპაზა-8-ის მიერ Bcl-2 ოჯახის პროაპოპტოზური წევრის Bid-ის გახლეჩვაზე, როგორც ეს აღწერილია TNF-ის რეცეპტორი 1-ის სისტემის შემთხვევაში. შემდეგ ეტაპზე მიტოქონდრიები გამოთავისუფლებენ პროაპოპტოზურ ფაქტორებს, მაგალითად, ციტოქრომ c-ს, Diablo-სა და “აპოპტოზის გამომწვევ ფატორს”, რომლებიც განაპირობებენ კასპაზა-9-ის გამააქტიურებელი პროტეინული კომპლექსის შემცველი აპოპტოსომის ჩამოყალიბებას. აპოპტოსომა შედგება ციტოქრომი c-ის, APAF-1-ის, dATP-ისა და პრო-კასპაზა-9-ისგან. გააქტიურებული კასპაზა-9 ააქტიურებს აღმასრულებელ კასპაზა-3-ს, კასპაზა-3 კი - კასპაზა-8-ს, რითაც იკვრება კიდევ დადებითი პასუხის მარყუქი (Krammer et al., 2000). ამ ორი ძირითადი გზის გარდა, შემოთავაზებულია კიდევ არანაკლებ ორი გზა, რომლებიც Fas-ის სიგნალირებას აწარმოებენ.

კიდევ ერთი ადაპტორი მოლეკულა – “რეცეპტორთან ურთიერთმოქმედი პროტეინი (ანუ RIP)” - აყალიბებს კომპლექსს “RIP-თან დაკავშირებული ინტერლეიკინ-1 β -გარდამქმნელი ფერმენტის მსგავსი პროტეაზა 1-ის ჰომოლოგიურ სიკვდილის დომენთან” და კასპაზა-2-თან და Fas-ის სიგნალს გადასცემს კასპაზა-8-ის საწყისი გააქტიურებისგან დამოუკიდებლად (Duan et al., 1997). FADD-ისა და RIP-ის გარდა, აღწერილია

Fas-ის მაკავშირებელი კიდევ ერთი პროტეინი - “Fas-ის სიკვდილის დომენთან ასოცირებული პროტეინი” - რომელიც აყალიბებს კომპლექსს “აპოპტოზის სიგნალის მარეგულირებელ კინაზა 1-თან”, რასაც მოყვება “c-Jun ამინოტერმინალური კინაზისა” და მიტოგენით აქტივირებული პროტეინ კინაზა p38-ის გააქტიურება. p38-ს თავის მხრივ შეუძლია ტრანსკრიფციის ფაქტორის - E2F1-ის - გააქტიურება, რომელიც მიხნეულია S-ფაზასა და კასპაზებთან დაკავშირებული პროტეინების მაკოდირებელი გენების ერთდროული ტრანსკრიფციის გამომწვევად (Wang et al., 1999; Kornmann et al., 2000). თუმცა, ახლახანს ვილუნგერისა და მისი კოლეგების კვლევის შედეგებმა კითხვის ნიშნის ქვეშ დააყენა აპოპტოზურ სიგნალირებაში RIP-ისა და “Fas-ის სიკვდილის დომენთან ასოცირებული პროტეინის” მონაწილეობა (Villunger et al., 2000). Fas-ის მიერ წარმოებული აპოპტოზის რამდენიმე ეტაპი შეიძლება იყოს რეგულატორული მექანიზმების სამიზნეები, რაც საშუალებას აძლევს უჯრედებს Fas-ის მიერ სტიმულირებას მოქნილად უპასუხონ. “სიკვდილის გამომწვევი სასიგნალო კომპლექსის” მიერ კასპაზა-8-ის გააქტიურების უნარი ძირითადად რეგულირდება “FADD-ის მსგავსი ინტერლეიკინ-1 β -გარდამქმნელი ფერმენტის მსგავსი მაინჰიბირებელი პროტეინის მიერ” (Krueger et al., 2001). ეს პროტეინი რამდენიმე იზოფორმით არსებობს. ეს იზოფორმები სტრუქტურულად კასპაზა-8-ის მსგავსია, თუმცა არ გააჩნიათ ფერმენტული აქტიურობა (Krueger et al., 2001; Irmiler et al., 1997). იგი შეიძლება ჩართული იყოს “სიკვდილის გამომწვევი სასიგნალო კომპლექსის” სიკვდილის რეცეპტორებში, რითაც ის აჩერებს კომპლექსის მიერ კასპაზა-8-ის პროცესინგსა და მისი გააქტიურებული ფორმის გამოთავისუფლებას. გარდა ამისა, II ტიპის უჯრედებში Fas-ის მიერ წარმოებული აპოპტოზი კონტროლირდება უჯრედის სიკვდილის მიტოქონდრიული გზის მრავალი რეგულატორით, კერძოდ, Bcl-2 ოჯახის წევრების მიერ (Krammer et al., 2000). Fas-ის მიერ წარმოებული უჯრედის სიკვდილი ხდება არა მარტო აპოპტოზით, არამედ - უჯრედულ კონტექსტის მიხედვით – ნეკროზითაც (Leist et al., 1997), რომელიც საჭიროებს ადაპტორ პროტეინ FADD-სა და Fas-თან ურთიერთმოქმედ სერინ/ტრეონინ კინაზ

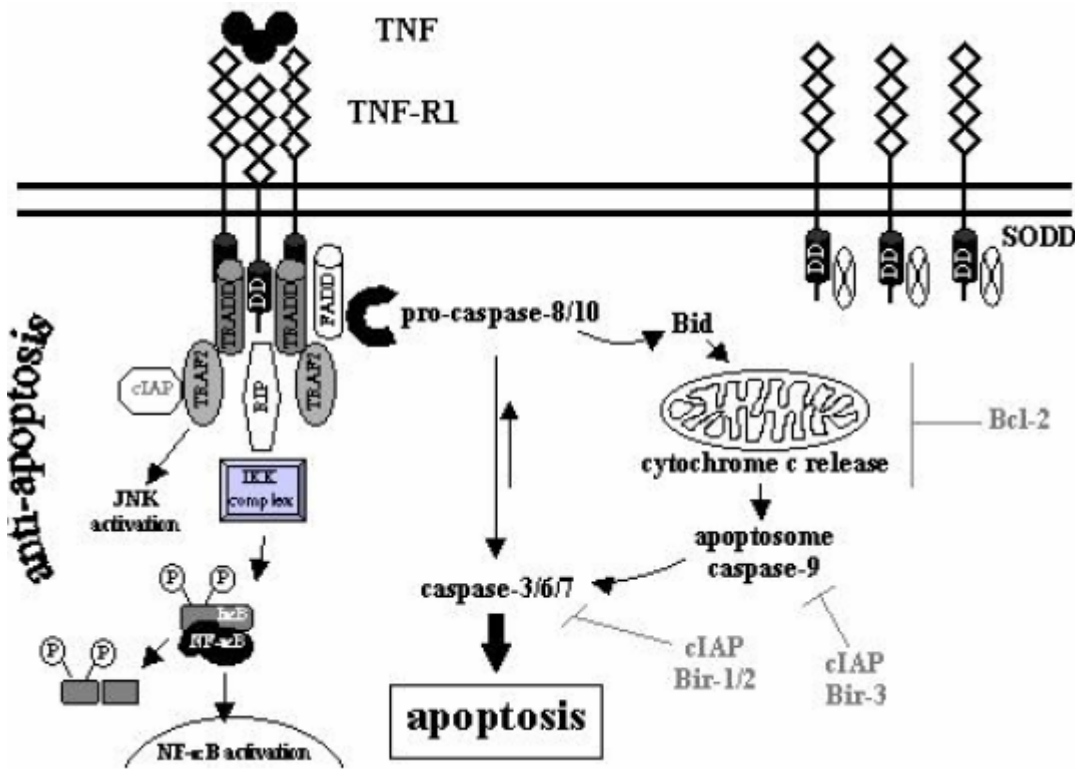
რეცეპტორთან ურთიერთმოქმედ პროტეინს, მაგრამ არა - კასპაზა-8-ს (Holler et al., 2000). იმავედროულად, ისიც უნდა აღინიშნოს, რომ ნეკროზის ეგზეკუციურ პროცესთან Fas-ის დამაკავშირებელი მექანიზმები ჯერ არ არის გარკვეული.

1.2.1.1 სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორის გზა

TNF ანთებისა და იმუნურობის მთავარი მედიატორია. გარდა ამისა, ის იწვევს ღვიძლის მწვავე ფაზის რეაქციას, ღვიძლის რეგენერაციასა და ზრდას, იმუნური უჯრედების სტიმულირებას, ადჰეზიური მოლეკულების დადებით რეგულაციას, შოკისმაგვარ მდგომარეობას, ლიპოლიზს, კახექსიას, ქსოვილის დესტრუქციასა და უჯრედის აპოპტოზურ თუ ნეკროზულ სიკვდილს უჯრედის სხვადასხვა ტიპში (Aggarwal et al., 1992; Tracey et al., 1993). უფრო მეტიც, TNF ჩართულია ადამიანის სხვადასხვა დაავადების, მათ შორის, სეფსისის, დიაბეტის, კიბოს, ოსტეოპოროზის, გაფანტული სკლეროზის, რევმატოიდული ართრიტის პათოგენეზში.

TNF უჯრედული ეფექტები გადაიცემა ორი სპეციფიური ზედაპირული რეცეპტორით: TNF-R1 (20 კილოდალტონი) და TNF-R2 (75 კილოდალტონი) (Leist et al., 1995; Leong et al., 2000). TNF-ისა და TNF-R1-ის ურთიერთმოქმედება ააქტიურებს სიგნალის ტრანსდუქციის რამდენიმე გზას. ამ გზების საერთო ნიშანია TNF-ის მიერ უჯრედის მემბრანაზე სიგნალირების მრავალპროტეინიანი კომპლექსის, ე.წ. “სიკვდილის გამომწვევი სიგნალირების კომპლექსის” ჩამოყალიბების გამოწვევა. ერთი გზა სრულდება კასპაზების გააქტიურებით (Sidoti-de Fraisse et al., 1998), მეორე - ნეიტრალური სფინგომიელინაზის მიერ ცერამიდის წარმოქმნით, მესამე ხასიათდება “c-Jun ამინოტერმინალური კინაზის” აქტივაციით და ტრანსკრიფციის ფაქტორი c-Jun-ის თანამდევი გააქტიურებით, მეოთხე გზას კი აპოპტოზის შემაფერხებელი ტრანსკრიფციის ფაქტორი NF-κB-ის აქტივაციამდე მიყვართ (Liu et al., 1996). ტრანსკრიფციის აღნიშნული ფაქტორები პასუხისმგებელი არიან სხვადასხვა ბიოლოგიური პროცესის, მათ შორის, უჯრედის ზრდისა და სიკვდილის, განვითარების, ონკოგენეზის,

იმუნური, ანთებითი და სტრესული პასუხებისათვის მნიშვნელოვანი გენების ექსპრესიის გამოწვევაზე. ამ გზების ბალანსი უჯრედის ბედს გადაწყვეტს.



სქემა. 2. TNF სიგნალის ტრანსდუქციის გზა. TNF-ის დაკავშირება მის მონათესავე რეცეპტორებთან იწვევს “სიკვდილის დომენის ინჰიბიტორის” ჩამოცილებასა და სიკვდილის გამოწვევი სიგნალირების კომპლექსის ჩამოყალიბებას, რომელიც შედგება “TNF-ის R1 რეცეპტორთან ასოცირებული სიკვდილის დომენისგან”, “TNF-ის რეცეპტორთან ასოცირებული ფაქტორი-2-გან” და RIP-ისგან. შემდგომი მოვლენები ინიცირდება IκB კინაზის IKKβ სუბერთეულის კომპლექსითა და კასპაზა-8-ით

TNF-ის სიგნალის გადაცემის პროცესის საწყისი მოიცავს TNF-R1-ის უჯრედგარე დომენთან TNF-ის ტრიმერის დაკავშირებასა და TNF-R1-ის უჯრედშიდა სიკვდილის დომენისაგან მაინჰიბიტორული პროტეინის, ე.წ. სიკვდილის დომენების საილენსერის ჩამოცილებას (Tschopp et al., 1999; Jiang et al., 1999). წარმოქმნილი აგრეგირებული რეცეპტორი ამოიცნობს ადაპტორული პროტეინის, ე.წ. TNF-ის რეცეპტორთან ასოცირებული სიკვდილის დომენის მიერ, რომელიც მოიხიდავს დამატებით ადაპტორულ

პროტეინებს, როგორცაა “რეცეპტორთან ურთიერთმოქმედი პროტეინი”, “TNF-ის რეცეპტორთან ასოცირებული ფაქტორი 2” და “Fas ასოცირებული სიკვდილის დომენი” (Hsu et al., 1996; Stanger et al., 1995; Chinnaiyan et al., 1995). ეს პროტეინული კომპლექსი პასუხს აგებს სიგნალირების მოვლენების დაწყებაზე (Rath et al., 1999)

1.2.2 შიდა აპოპტოზური გზა

შიდა აპოპტოზური გზა უჯრედის შიგნიდან სტიმულირდება. მისი გამომწვევი შეიძლება იყოს ულტრაიისფერი გამოსხივება, რეაქტიული ჟანგბადური სახეობები (ROS), ზრდის ფაქტორის მოცილება ან ქიმიოთერაპიული წამლები). ამ დროს Bcl-2 ოჯახის წევრების - Bak-ისა და Bax-ის - საშუალებით მიტოქონდრიიდან იწყება კასპაზაზე დამოკიდებული და დამოუკიდებელი აპოპტოზური გზები.

1.2.2.1 აპოპტოზის მიტოქონდრიული რეგულირება

მიტოქონდრიული კასპაზის აქტივაცია მჭიდრო კავშირშია მიტოქონდრიის გარე მემბრანის გამტარობის გაზრდასთან (Green et al., 2004). ამ პროცესის რეგულაციაში ჩართულია Bcl-2 ოჯახის პროტეინები, მიტოქონდრიული ლიპიდები, ბიოენერგეტიკული მეტაბოლიტების მოძრაობის მარეგულირებელი პროტეინები და მიტოქონდრიის მემბრანაში არსებული მიტოქონდრიული გამტარობის მაკოტროლებელი ფორის კომპონენტები, მათ შორის, ძაბვა-დამოკიდებული ანიონური არხი, ადენინ ნუკლეოტიდ ტრანსპორტიორი და ამ ტრანსპორტიორთან ურთიერთმოქმედი პროტეინი ციკლოფილინი D. მიტოქონდრიის გარე მემბრანის გამტარობის გაზრდა იწვევს ინტერმემბრანული სივრცის პროტეინების, კერძოდ, ციტოქრომ c-ის, პროკასპაზა 9-ის, “აპოპტოზის გამომწვევი ფაქტორის”, “კასპაზის მიტოქონდრიიდან წარმოშობილი მეორე აქტივატორისა” და Htra2/Omi-ს გამოთავისუფლებას. ამ პროცესის ზუსტი მექანიზმი ჯერ-ჯერობით უცნობია და ინტენსიური კვლევის პროცესშია. Bcl-2 ოჯახის წევრებისა და ბაქტერიული ტოქსინების ფორების შემქნელი

სპირალების სტრუქტურული მსგავსების საფუძველზე შემოთავაზებულია ჰიპოთეზა (Mucmore et al., 1996), რომ Bcl-2 ოჯახის წევრები - Bak და Bax - მიტოქონდრიის გარე მემბრანაში ფორმებს ქმნიან, რაც განაპირობებს ინტერმემბრანული სივრცის პროტეინების გამოთავისუფლებას. სხვა მოდელის მიხედვით, Bcl-2 ოჯახის წევრები შესაძლოა ურთიერთქმედებს მიტოქონდრიის სპეციფიურ პროტეინებთან და ხელს უწყობს გამტარობის ცვლილებას მაკონტროლებელი ფორმების გაღებით. მესამე შესაძლო სცენარის მიხედვით, Bcl-2 ოჯახის წევრები შესაძლოა იწვევს მიტოქონდრიის მემბრანის ფორმისა და ლიპიდის ფორმის შეცვლას. ყველა ჰიპოთეზა გადაიკვეთება ინტერმემბრანული სივრცის პროტეინების გამოთავისუფლებაზე. გამოთავისუფლებული ციტოქრომი c პროკასპაზა 9-სთან, ციტოპლაზმურ პროტეინ Apaf-1-თან და ATP-სთან ერთად ქმნის მრავალპროტეინიან კომპლექსს, აპოპტოსომას, რაც, თავის მხრივ, ააქტიურებს პროკასპაზა 9-ს და შესაბამისად ხელს უწყობს უჯრედის კასპაზა-დამოკიდებული სიკვდილის დაწყებას.

გამოთავისუფლებული “აპოპტოზის გამომწვევი ფაქტორი” აპოპტოზს კასპაზის გარეშე იწვევს (Susin et al., 1996). ამ გზით გამოწვეული აპოპტოზის დამახასიათებელი ნიშანია დნმ-ის ფრაგმენტაცია დიდ ფრაგმენტებად (დაახ. 50 კილოდალტონი). “კასპაზის მიტოქონდრიიდან წარმოშობილი მეორე აქტივატორი” და Htra2/Omi კასპაზის აქტივაციის ფიზიოლოგიურად შემაფერხებელი “აპოპტოზის მაინჰიბირებელი პროტეინების” ინჰიბირებას ახდენენ. ამრიგად, “კასპაზის მიტოქონდრიიდან წარმოშობილი მეორე აქტივატორი” და Htra2/Omi არაპირდაპირი გზით უწყობენ ხელს კასპაზის გააქტიურებასა და კასპაზა-დამოკიდებული აპოპტოზის განვითარებას.

1.3 კასპაზების როლი აპოპტოზში

აპოპტოზი კოორდინირდება ცისტეინის პროტეაზების ოჯახით - ე. წ. კასპაზებით - რომლებიც პროტეინების მთელი არსენალის შეზღუდული პროტეოლიზის გზით უჯრედის დემონტაჟს აწარმოებენ. ძუძუმწოვართა კასპაზების ოჯახი 14 წევრისგან შედგება, რომელთა ნაწილი საკუთრივ აპოპტოზში მონაწილეობს, დანარჩენი წევრები კი სავარაუდოდ ანთების ციტოკინების პროცესინგში მონაწილეობს. კასპაზების აპიკალური აქტივაციის მოვლენები ჩვეულებრივ ინიცირდება ადაპტორები მოლეკულების მიერ, რომლებიც განაპირობებენ კასპაზების აგრეგაციას და ხელს უწყობენ მათ აუტოაქტივაციას. მაშინ, როცა კასპაზების დისტალური აქტივაციის მოვლენები კონტროლირდება მანამდე კასკადში უკვე გააქტიურებული კასპაზების მიერ, მრავალი უჯრედული სტრესი აპოპტოზს იწვევს მიტოქონდრიის დაზიანებითაც, რომლის დროსაც გამოთავისუფლდება ისეთი ციტოკინები, როგორცაა ციტოქრომი c და “კასპაზის მიტოქონდრიიდან წარმოშობილი მეორე აქტივატორი”. ეს ციტოკინები კი, თავის მხრივ, ააქტიურებენ კასპაზებს და უჯრედის სიკვდილს იწვევენ.

კასპაზები უჯრედის სიკვდილის მექანიზმის შემადგენელ კომპონენტებად პირველად ნაჩვენები იქნა *Caenorhabditis elegans* ნემატოდ ჭიაზე წარმოებულ კვლევებში. უჯრედის პროგრამირებული სიკვდილის უუნარო მუტანტი ჭიების გენეტიკური ანალიზის საშუალებით დადგინდა, რომ *ced-3* გენის პროდუქტი საჭირო ყოფილა განვითარებასთან დაკავშირებული უჯრედის პროგრამირებული ყველა სიკვდილის განხორციელებისთვის. Yuan-ისა და მისი კოლეგების 1993 წლის მნიშვნელოვანი სტატიის მიხედვით (Yuan et al., 1993), CED-3 გენი მჭიდროდ უკავშირდება ადამიანის პროტეაზა ინტერლეიკინ-1 β გარდამქმნელ ფერმენტს. მართალია, აღმოჩნდა, რომ ეს ფერმენტი არ ასრულებს ცენტრალურ როლს აპოპტოზში, მასსა და CED-3-ს შორის ჰომოლოგიის შესახებ აღნიშნულ საწყის ინფორმაციას სწრაფად მოჰყვა ამ ფერმენტის მსგავსი პროტეაზების აღმოჩენა, რომლებსაც შემდგომში სხვა

სახელწოდება - “კასპაზები” (ციტეინის ასპარტატ-სპეციფიური პროტეაზები) – დაერქვა (Thornberry et al., 1998; Cohen et al., 1997; Earnshaw et al., 1998). კასპაზები ძირითად სპეციფიურობას ასპარტამის მჟავის ნარჩენების მიმართ ამჟღავნებენ, რაც მეტად უჩვეულო სუბსტრატის მიმართ მიზიდულობის მაგალითია (Earnshaw et al., 1998; Green et al., 1998; Martin et al., 1995). მოცემული ფერმენტები შედარებით არააქტიური წინამორბედების (პრო-კასპაზების) სახით არსებობენ. მათი აქტიურ ფორმაში გარდაქმნა შიდა ასპარტამის მჟავის ნარჩენების პროტეოლიზური გახლეჩვის გზით მიმდინარეობს. ეს მიუთითებს იმაზე, რომ კასპაზები აუტოპროტეოლიზით ან კასკადის ზევით გააქტიურებული სხვა კასპაზებით აქტიურდებიან. კასპაზები ზოგადად შეიძლება დაიყოს ორ ფუნქციურ ჯგუფად: ისინი, რომლებიც აპოპტოზის დროს აქტიურდებიან (კასპაზა-2, -3, -6, -7, -8, -9 და -10), და ისინი, რომლებიც იმუნური პასუხის დროს ანთების ციტოკინების პროცესინგში არიან ჩართული (კასპაზა-1, -4, -5 და -11). კასპაზები, რომლებიც აპოპტოზში მონაწილეობენ, შემდგომ ორ ქვეჯგუფად იყოფა აპოპტოზთან ასოცირებულ კასპაზურ კასკადში პოზიციის მიხედვით. ზედა ანუ ინიციატორი კასპაზები (კასპაზა-2, -8, -9 და -10) ზოგადად აპოპტოზის დროს კასპაზების აქტივაციის კასკადის ინიციატორებად არიან მიჩნეული. მათ ჩვეულებრივ გრძელი პროდომენები გააჩნიათ, რომლებიც შეიცავენ პროტეინ-პროტეინული კავშირების მქონე მონაკვეთებს, ე.წ. “კასპაზების მოზიდვის დომენებს” ან “სიკვდილის ეფექტორ დომენებს”. ეს მონაკვეთები გვხვდება აგრეთვე კასპაზების ადაპტორ მოლეკულებში, როგორცაა FADD, Apaf-1, რომლებიც აპოპტოზის დაწყებისას კასპაზების აგრეგაციისა და აქტივაციის ამოცანებს ასრულებენ. მეორე ჯგუფს, ქვედა ანუ ეფექტორ კასპაზებს (კასპაზა-3, -6 და -7), რომლებიც აპოპტოზის დროს უჯრედის დანგრევაზე არიან უშუალოდ პასუხისმგებელი, პროდომენები იმდენად არ გააჩნიათ. მრავალ სისტემაში კასპაზა-3 მთავარი აღმასრულებელი კასპაზაა, კასპაზა-6 და კასპაზა-7 კი შედარებით მცირე როლს თამაშობენ აპოპტოზის აღსრულების ფაზაში (Slee et al., 1999). აქტიური კასპაზები

უჯრედის დაშლას რამდენიმე გზით აწარმოებენ: გარკვეული პროტეინების, მაგალითად, Bid-ის საშუალებით ციტოქრომ c-ს გამოთავისუფლებით, სხვა დამანგრეველი ფერმენტების, მათ შორის, დნაზების გააქტიურებით, უჯრედში სტრუქტურულ და რეგულატორულ პროტეინებზე პირდაპირი დეგრადაციული ზემოქმედებით. დღეისათვის დადგენილია კასპაზის შუამავლობით სუბსტრატის გახლეჩვის რამდენიმე მნიშვნელოვანი მოვლენა, რომლებსაც თავისი წვლილი შეაქვთ აპოპტოზის ფენოტიპში. მაგალითად, “კასპაზით აქტივირებადი დეოქსირიბონუკლეაზა” აპოპტოზის დროს ინტერნუკლეოსომალური დნმ-ის ფრაგმენტაციაზე პასუხისმგებლობისათვის ყველაზე დამაჯერებელი კანდიდატია (Enari et al., 1997). იგი ჩვეულებრივ ინჰიბირდება თავის სპეციფიურ ინჰიბიტორთან ასოციაციით. თუმცა, ეს ინჰიბიტორი კასპაზა-3-ის სუბსტრატია და ამ უკანასკნელით მისი პროტეოლიზური გახლეჩვა “კასპაზით აქტივირებადი დეოქსირიბონუკლეაზას” გამოთავისუფლებას ხდის შესაძლებელს. გამოთავისუფლებული დეოქსირიბონუკლეაზა შედის ბირთვში და ქრომოსული დნმ-ის დეგრადაციას იწყებს (Enari et al., 1997). შემოთავაზებულია, რომ კასპაზა-3-ის სუბსტრატია კიდევ ერთი პროტეინი - “Rho-სთან ასოცირებული კინაზა 1” - აპოპტოზური უჯრედის შეკუმშვასა და მემბრანის ბლებინგს წარმართავს (Coleman et al., 2001; Sebbagh et al., 2001). როგორც ჩანს, კასპაზები საკუთარი აქტიურობის გაძლიერებასაც ახდენენ ინჰიბიტორი მოლეკულების, მაგალითად, “აპოპტოზის ინჰიბიტორი პროტეინის” გახლეჩვისა და ინაქტივაციის გზით (Martin et al., 1995). მართალია, დღეისათვის კასპაზების მრავალი სხვა სუბსტრატია გამოვლენილი, აპოპტოზის კონტექსტში მათი გახლეჩვის მნიშვნელობა ჯერ-ჯერობით გაურკვეველი რჩება. ახლახანს ნაჩვენები იქნა უჯრედის სიკვდილის მექანიზმის კიდევ ერთი ახალი კომპონენტი, რომლის სახელწოდებაცაა “კასპაზის მიტოქონდრიდან წარმოშობილი მეორე აქტივატორი” (Du et al., 2000). ეს აქტივატორი მიტოქონდრიაშია ლოკალიზებული. ციტოზოლში მისი გამოთავისუფლება აპოპტოზის გამოწვევის შემდეგ ხდება. ამ დროს ის უკავშირდება “აპოპტოზის

ინჰიბიტორ პროტეინებს”, რითაც იხსნება კასპაზების აქტიურობის ინჰიბირება (Du et al., 2000).

რაც შეეხება FADD-ს, ის რეცეპტორს ცისტეინურ პროტეაზებს – კასპაზა 8-სა და კასპაზა-10-ს - უკავშირებს და განაპირობებს ამ უკანასკნელთა თვითგახლეჩვასა და გააქტიურებას, რაც, თავის მხრივ, განაპირობებს პროტეაზული კასკადის გაშვებასა და, საბოლოო ჯამში, აპოპტოზს (Rath et al., 1999). ერთი მხრივ, კასპაზა-8 უშუალოდ ააქტიურებს ეფექტორ პროტეაზებს - კასპაზა-3, -6 და -7-ს - რომლებიც, თავის მხრივ, უჯრედის მრავალ პროტეინს ხლეჩენ და უჯრედის სიკვდილს იწვევენ. მეორე მხრივ, ეფექტორი კასპაზების აქტივაცია ძლიერდება მიტოქონდრიული გზით. კასპაზა-8-ის მცირე აქტიურობაც კი საკმარისია, რომ Bid გაიხლიჩოს. წარმოქმნილი ე.წ. “შემოკლებული Bid“ (tBid) გადაადგილდება მიტოქონდრიებისკენ და ჯერ-ჯერობით არასრულად გარკვეული მექანიზმის წყალობით მიტოქონდრიული მემბრანის პოტენციალს ცვლის, რითაც ხელი ეწყობა “მიტოქონდრიული გამტარობის გადასვლის ფორების” ჩამოყალიბებასა და მიტოქონდრიული ფუნქციის მოშლას (მიმოხილულვა იხ. Hengartner, 2000). ამის შემდეგ მიტოქონდრიებიდან ციტოზოლში გადადის ციტოქრომი c, უკავშირდება Apaf-1-სა და პრო-კასპაზა-9-ს, აყალიბებს პროტეინულ კომპლექსს, ე.წ. აპოპტოსომას, რომლის შემადგენელი ნაწილია dATP. რაც შეეხება კასპაზა-9-ს, ის დამუშავებას განიცდის და ააქტიურებს ქვედა კასპაზა-3-სა და კასპაზა-7-ს (Hengartner, 2000; Li et al., 1999). კასპაზების გააქტიურების აღნიშნული მიტოქონდრიული ამპლიფიკაციური მარყუჟი რეგულირდება Bcl-2 ოჯახის ანტი-აპოპტოზური პროტეინებით.

დაბოლოს, TNF სიგნალირების ქსელის საინტერესო დამახასიათებელი ნიშანია აპოპტოზურ, NF-κB-ისა და “c-Jun ამინოტერმინალური კინაზის” სიგნალირების გზებს შორის ექსტენსიური ჯვარედინი ურთიერთობები. NF-κB-ის მოქმედების არარსებობის შემთხვევაში, TNF-ის მიერ გამოწვეული აპოპტოზის მიმართ უჯრედული მგრძობელობა იზრდება. NF-κB-ის გამიზნული აქტივაცია აპოპტოზისგან

დაცვას უზრუნველყოფს, მაგალითად, “აპოპტოზის მაინჯიბირებელი უჯრედული პროტეინების” სინთეზირებით, რომლებსაც კასპაზების აქტიურობის პირდაპირი ინჰიბირება შეუძლიათ (Deveraux et al., 1999). ეს მაინჯიბირებელი პროტეინები შეიცავენ სამ ღომენს, –რომელთაგან პირველი ორი ეფექტორი კასპაზა-3, -6 და -7-ის მოქმედების ბლოკირებას ახდენენ, მესამე კი შერჩევითად აინჰიბირებს კასპაზა-9-ის მოქმედებას (Deveraux et al., 1999). საერთო ჯამში, არსებობს რამდენიმე გამშვები პუნქტი, რომლებიც სიკვდილის რეცეპტორების მედიატორობით წარმოებულ უჯრედულ სიკვდილს აკონტროლებენ.

1.4 აპოპტოზის მოდულაცია თერაპიული საშუალებებით

უჯრედის აპოპტოზური სიკვდილის მკაცრი რეგულაცია და გადარჩენის გზები თერაპიული ინტერვენციების სტრატეგიების შემუშავების შესაძლებლობას იძლევა. ღვიძლის სხვადასხვა დაავადების დროს (ვირუსული, აუტოიმუნური ჰეპატიტი, იშემიურ-რეპერფუზიულ დაზიანება, ტოქსიკური დაზიანება და სხვა.) აპოპტოზის ჭარბი გააქტიურება აღინიშნება, მაშინ როცა შემცირებული აპოპტოზი გეხვდება ღვიძლის რეგენერაციული ზრდის ან ღვიძლის სიმსივნების შემთხვევაში. დღეისათვის უკვე მრავალი შრომა მიექძენა ღვიძლის სხვადასხვა დაზიანების დროს აპოპტოზზე მოქმედი ახალი თერაპიული საშუალებების გამოყენებას. მიუხედავად ამისა, წარმატებული მოდულატორების პოვნა ძალიან ძნელია და ამ მიმართულებით კვლევები ინტენსიურად გრძელდება.

გარდა ამისა, მკურნალობის სამიზნეებად მნიშვნელოვანია აგრეთვე დრო, თუ როდის უნდა მოხდეს აპოპტოზის მოდულაცია, რადგან ღვიძლის დაავადებები შეიძლება განხილულ იქნეს როგორც მრავალსაფეხურიანი პროცესები. სხვადასხვა საფეხურია: უჯრედის სიკვდილთან ასოცირებული ღვიძლის ქრონიკული დაზიანება, ციროზი და რეგენერაცია, აპოპტოზის ინჰიბირებასთან დაკავშირებული სიმსივნის ფორმირება და ღვიძლის უკმარისობა. ამრიგად, ერთიდაიმავე დაავადების

სხვადასხვა ეტაპზე აპოპტოზის ინჰიბირებას ან გააქტიურებას გასხვავებული შედეგები მოჰყვება.

1.4.1 ჰეპატოციტებზე მიმართული თერაპია

მწვავე დაზიანების დროს ჰეპატოციტის აპოპტოზის ინჰიბირება შეიძლება სასარგებლო იყოს. ანტიაპოპტოზური ინტერვენციების სამიზნეებს შორისაა კასპაზები (კასპაზების ენდოგენური ან ეგზოგენური ინჰიბიტორების გამოყენება) და მიტოქონდრიის ერთიანობის შენარჩუნება (Bcl-2 ოჯახის ანტიაპოპტოზური წევრების გამოყენება). მიჩნეულია, რომ ხშირად ანთებისსაწინააღმდეგო აგენტები ღვიძლის მწვავე დაზიანების დროს ამ დაზიანებას ამცირებენ. მაგრამ გაურკვეველია, თუ რამდენად შეესაბამება მოცემული სტრატეგია ყველა პათოლოგიურ მდგომარეობას. მაგალითად, ბაქტერიული ინფექციით გამოწვეულ ღვიძლის მწვავე დაავადებაში ანტი-TNF თერაპია ღვიძლის დაზიანების თავიდან აცილებას უზრუნველყოფს, მაგრამ სამაგიეროდ მცირდება ბაქტერიის განადგურება და გადარჩენა (Moore et al., 2003). ზოგიერთმა ანთებისსაწინააღმდეგო სტრატეგიამ შეიძლება შეასუსტოს ციტოკინების წარმოება და NF-κB-ის აქტივაცია და ამით აპოპტოზის მიმართ ჰეპატოციტების მგრძობელობის შემცირება მოახდინოს (Schoemaker et al., 2004). ღვიძლის ქოლესტატიკური დაზიანების მქონე პაციენტებს ხშირად მკურნალობენ ურსოდეოქსიქოლის მჟავით, რომელიც ერთ-ერთი ნაღვლის მჟავაა და ადამიანის ნაღვლის მჟავების 3%-ს შეადგენს. ეს ნივთიერება თავდაპირველად შავი დათვის ღვიძლიდან იქნა მიღებული და უხსოვარი დროიდან გამოიყენება ჩინეთის ტრადიციულ მედიცინაში ღვიძლის დაავადებების სამკურნალოდ (Paumgartner et al., 2002). ახლახანს ნაჩვენები იქნა, რომ ურსოდეოქსიქოლის მჟავის ტაურინის წარმოებული ნაღვლის მჟავის მიერ გამოწვეული აპოპტოზისგან იცავს ორგანიზმს, რასაც ახორციელებს მიტოქონდრიულ მემბრანაზე პირდაპირი ზემოქმედებითა და “მიტოგენ-გააქტივებული პროტეინ კინაზების” გააქტიურებით (Schoemaker et al, 2004).

1.4.2 კასპაზები და მათი ინჰიბიტორები

Bcl-2 ოჯახის გარდა, კასპაზების ინჰიბიტორები, როგორცაა “აპოპტოზის მაინჰიბირებელი პროტეინების” ოჯახის წევრები, უჯრედს აპოპტოზური სიკვდილისაგან კასპაზების კასკადის დარღვევის გზით იცავს. *in vitro* პირობებში “აპოპტოზის მაინჰიბირებელი უჯრედული პროტეინის” ადამიანის ჰომოლოგის ჭარბი ექსპრესია ჰეპატოციტებს აპოპტოზისგან იცავს (Schoemaker, Ros et al., 2002). აღნიშნული ოჯახის წევრები შერჩევით აინჰიბირებენ კასპაზა 3-სა და კასპაზა 9-ს. მათი აქტიურობის დაბლოკვა შეიძლება “კასპაზის მიტოქონდრიიდან წარმოშობილი მეორე აქტივატორითა” და Omi/HtrA2-ით. ამრიგად, უჯრედის ბედს “აპოპტოზის მაინჰიბირებელი პროტეინების” ოჯახის წევრებთან კასპაზა 3-ის, კასპაზა 8-ის, კასპაზა 9-ის, “კასპაზის მიტოქონდრიიდან წარმოშობილი მეორე აქტივატორისა” და Omi/HtrA2-ის ფარდობითი ციტოზოლური კონცენტრაციების ბალანსი წყვეტს.

იმისდა მიხედვით, თუ რა ტიპის დაზიანებასთან გვაქვს საქმე, გარკვეული კასპაზების ინჰიბირება სათანადო სტრატეგიად უნდა იქნეს მიჩნეული. ბაიტმა და მისმა კოლეგებმა (Bajt et al., 2001) აჩვენეს, რომ მართალია პეპტიდების ინჰიბიტორის მიერ კასპაზა 3-ის ინჰიბირება აფერხებდა LPS/GalN-ით (d-galactosamine) გამოწვეულ აპოპტოზს, კასპაზა 8-ის ინჰიბირება უფრო გადამწყვეტია ამ დროს. უფრო მეტიც, დომინანტ-ნეგატიური FADD-ის მაკოდირებელი ადენოვირუსი TNF/GalN-ინდუცირებული აპოპტოზის პრევენციას ახდენდა (Streetz et al., 2000). ეს კვლევები მიგვანიშნებენ იმ საინტერესო მომენტზე, რომ TNF-ინდუცირებულ აპოპტოზში აპოპტოზურ კასკადში თერაპიული ინტერვენცია კასპაზა 8-ის დონეზე უნდა ხდებოდეს. ამასთან დაკავშირებით, კასპაზა 8-ის ენდოგენური ინჰიბიტორის - “უჯრედული FADD-ის მსგავსი IL-1 β -მაკონვერტირებელი ფერმენტის მაინჰიბირებელი პროტეინის” - ექსპრესიის გაზრდაზე ორიენტირებული თერაპია შემდგომ ყურადღებას იმსახურებს.

Fas-ის მიერ გამოწვეული აპოპტოზის შეჩერება შესაძლებელია

ხსნადი Fas-ით გენური თერაპიის საშუალებით, რაც პოტენციურ თერაპიულ გზას შეიძლება წარმოადგენდეს. ახლახანს აღწერილ იქნა სიკვდილის რეცეპტორის მიერ გამოწვეული აპოპტოზის ორი ახალი ინჰიბიტორი. სურამინს ან ნეიროკინინის რეცეპტორის ანტაგონისტებს შეუძლიათ თავის მოდელებში ღვიძლის ტოქსიკური დაზიანების *in vivo* ინჰიბირება. სურამინი შარდოვანას პოლისულფონირებულ წარმოებულს წარმოადგენს. ის ახდენს TNF-ის, FasL-ისა და ქემოთერაპიის შედეგად გამოწვეული აპოპტოზის ინჰიბირებას *in vitro*; *in vivo* ნაჩვენები იქნა, რომ მას შეუძლია LPS-ისა და D-გალაქტოზამინის ერთობლივი ან Fas-ის აგონისტური ანტისხეულის ზემოქმედებით გამოწვეული მასიური აპოპტოზის თავიდან აცილება. ნეიროკინინი-1 რეცეპტორის ანტაგონისტები თავიდან აცილებს Fas-ისა და TNF-ის მიერ გამოწვეული ღვიძლის დაზიანებისგან იცავენ. ეს შესაძლებელი ხდება ანტაგონისტების მიერ უჯრედის სიკვდილის ხელშემწყობი P ნაერთის მოქმედების ანტაგონიზირებით.

1.4.3 მცენარეული წარმოშობის ნივთიერებები

მცენარეები სასარგებლო წამლებისთვის კვლევის მასალის უზარმაზარ წყაროს წარმოადგენენ. ბოლო წლებში აპოპტოზურ პროცესზე ზემოქმედების უნარის მქონე მრავალი სხვადასხვა მცენარის ექსტრაქტი იქნა გამოკვლეული. სიმსივნურ უჯრედებში აღნიშნული დაავადების შესაჩერებლად პროგრამირებული სიკვდილის მექანიზმებზე ზემოქმედების უნარი, რომელიც სხვადასხვა მცენარეულ ექსტრაქტს გააჩნია, ინტენსიური და ფართო კვლევების საგანია. შესწავლილია სხვადასხვა უჯრედული ხაზი, როგორცაა HL60, ადამიანის ჰეპატოცელულარული კარცინომის უჯრედული ხაზი, ქოლანგიოკარცინომის უჯრედული ხაზი, B-უჯრედის ჰიბრიდომები, U937 მონოციტური უჯრედული ხაზი, HeLa უჯრედები და სხვა. იმ აგენტებს შორის, რომლებიც უჯრედის პროგრამირებულ სიკვდილს იწვევენ (რაც იზომებოდა მორფოლოგიურად, ან გამჭოლი ციტოფლურომეტრის საშუალებით), აღმოჩნდნენ ისეთი მცენარეების ექსტრაქტები, როგორცაა ფითრი და *Semicarpus anacardium*. დადგინდა ასევე, რომ უჯრედის პროგრამირებულ სიკვდილს და შესაბამისად

გამრავლების შეწყვეტას იწვევდნენ ისეთი იზოლირებული ნაერთები, როგორებიცაა ბრიონოლური მუავა (*Trichosanthes kirilowii* var. *Japonica*-დან), კროცინი (ზაფრანადან) და ალიცინი (ნივრიდან). ჩინური მცენარეული წამალი “შო-საიკო-ტო” სიმსივნის გარკვეულ უჯრედულ ხაზებში იწვევდა აპოპტოზს. მეტად საინტერესოა ის ფაქტი, რომ ჟენშენი აფერხებს თმის ფოლიკულებში უჯრედის დასხივებით გამოწვეულ პროგრამირებულ სიკვდილს, რაც მის მნიშვნელოვან თერაპიულ შესაძლებლობებზე მიუთითებს. ნუტრიცევტული საშუალებები (დიეტური მცენარეები), როგორიცაა სოიო, ნიორი, კოჭა, მწვანე ჩაი და სხვ., ეპიდემიოლოგიურ კვლევებში მიჩნეულია სიმსივნის შემთხვევების შემამცირებელ ფაქტორად. მათი მოქმედება უკავშირდება უჯრედის პროგრამირებული სიკვდილის გამოწვევის უნარს.

დადასტურებული იქნა, რომ სხვადასხვა საკვები და მცენარეული წარმოშობის წამლები ტოქსიურ ეფექტებს იწვევს უჯრედის პროგრამირებული სიკვდილის ინდუცირების გზით. მაგალითად, ვირთხის იზოლირებულ ჰეპატოციტებში უჯრედის პროგრამირებული სიკვდილი კავშირში იყო დიტერპინოიდების შემცველი მცენარეული წამლის მიერ გამოწვეულ ჰეპატიტთან. სხვა გამოკვლევების მიხედვით, სავარაუდოა, რომ betel-სა და თამბაქოსთან დაკავშირებული პირის “ქერცლოვანი” კარცინომები შესაძლოა ასოცირდებიან p53-ისა და c-myc-ის ერთობლივად მოქმედებასთან, რაც უჯრედის პროგრამირებული სიკვდილის ინჰიბირებას განაპირობებს. გამოვლენილია მცენარეების მიერ უჯრედის პროგრამირებული სიკვდილის მოდულაციის რამდენიმე მექანიზმი, მათ შორის, ენდონუკლეაზების, p53-ისა და კასპაზა 3-ის აქტივაცია (Bcl-2-დამოუკიდებელი გზით), თავისუფალი რადიკალების ფორმირების გაძლიერება და სფინგანინის აკუმულაცია. უჯრედის პროგრამირებული სიკვდილი თავდაცვის მეტად კონსერვირებული მექანიზმია, რომელიც მცენარეებსაც გააჩნიათ.

ამრიგად, უჯრედის პროგრამირებული სიკვდილის ბუნებრივ ფენომენზე ზემოქმედება მისი მოდიფიცირების გზით შესაძლოა პოტენციურად სასარგებლო წამლებს წარმოადგენდნენ.

II თავი - საკვლევი მასალა და მეთოდები

ექსპერიმენტი ჩატარდა 20-25 გრ მასის მქონე 50 ზრდასრულ თაგვზე. საექსპერიმენტო ცხოველები ერთნაირ პირობებში იმყოფებოდნენ.

2.1 ღვიძლის იმუნური დაზიანების ექსპერიმენტული მოდელი

ჰეპატიტის ექსპერიმენტული მოდელის შესაქმნელად 50 თაგვში ინტრაპერიტონეალურად შეყვანილი იქნა ბუნებრივი მიტოგენი კონკანავალინ-A (Con-A) 2მგ/კგ წონაზე გადაანგარიშებით. ექსპერიმენტული ცხოველები დაეყავით 3 ჯგუფად. Con-A-ს შეყვანიდან 1 სთ-ის შემდეგ ცხოველებს ერთხელ კუნთში უკეთდებოდა: 1. 0.2 მლ ფიზიოლოგიური ხსნარი (საკონტროლო I ჯგუფი), 2. პლაფერონი ლბ (0.25მგ/კგ-ზე) (II ჯგუფი); 3. დექსამეტაზონი – 4 მგ/კგ-ზე (III ჯგუფი). ექსპერიმენტის დაწყებიდან 8, 24 და 48 საათის შემდეგ ეთერით გაბრუებულ თაგვებს ვკლავდით ცერვიკალური დისლოკაციის მეთოდით. გამოსაკვლევად ვიღებდით ღვიძლს და სისხლს. ღვიძლს მორფოლოგიური კვლევისა და ჰეპატოციტების ფუნქციური მდგომარეობის შესასწავლად, სისხლს კი - ბიოქიმიური გამოკვლევისთვის.

2.2 ჰისტომორფოლოგიური მეთოდი

სინათლის მიკროსკოპული კვლევისათვის ექსპერიმენტულ მასალას (ღვიძლი) ფიქსაციისათვის ვათავსებდით ფორმალინის 10%-იან ხსნარში, ვაუწყლოებდით აღმავალი კონცენტრაციის სპირტებში და ვაყალიბებდით პარაფინში. როტაციულ მიკროტომზე დამზადებულ 2-5 მკმ სისქის ანათლებს ვღებავდით ჰემატოქსილინ-ეოზინით.

2.3 ღვიძლში აპოპტოზის შეფასება იმუნოჰისტოქიმიური (TUNEL) მეთოდით

ჰეპატოციტების აპოპტოზი ფასდებოდა დნმ-ის ფრაგმენტაციით ტერმინალური დეოქსინუკლეოტიდილ ტრანსფერაზაზე-დამოკიდებული

(ტდტ) dUTP-ბიოტინის (TUNEL) მონიშვნის მეთოდის გამოყენებით. ყველა საფეხური ხორციელდებოდა თანდართული პროტოკოლის მიხედვით.

ამოკვეთილი ღვიძლი ფიქსირდებოდა 10%-იან ფორმალინში და ყალიბდებოდა პარაფინში. ტარდებოდა პარაფინში ჩაყალიბებული, როტაციულ მიკროტომზე დაჭრილი 5-მიკრონიანი ანათლების დეპარაფინიზაცია და რეჰიდრატაცია, შემდეგ ინკუბაცია პროტეინაზა K-თი (20მგ/მლ 100mM და 50 mM ედტა) 15 წუთი 25°C-ზე. შემდეგ ყველა ანათალი ირეცხებოდა დისტილირებული წყლით, ანათლები ინკუბირდებოდა ბუფერში 5წთ. შემდეგ ემატებოდა ტდტ და ბიოტინმონიშნული დეოქსინუკლეოტიდების თანაობისას ტენიან ყუთში მიდინარეობდა ინკუბაცია 1 საათით 37C-ზე. რეაქციის შეწყვეტა ხდებოდა გამრეცხი ბუფერის საშუალებით. მონიშნული სლაიდების დათვალიერება ხდებოდა სინათლის მიკროსკოპში. ქსოვილები იღებებოდა ჰემატოქსილინ-ეოზინში.

2.4 აზოტის ოქსიდისა და გლუტათიონ რედუქტაზას აქტიურობის განსაზღვრა

სისხლის შრატში აზოტის ოქსიდის რაოდენობა ფასდებოდა არაპირდაპირი მეთოდით გრისის რეაქციის გამოყენებით, რომელიც წარმოქმნის ქრომოფორს ნიტრიტთან რეაქციის შედეგად. შრატის 100მლ-ს ვაინკუბირებდით 100მლ გრისის რეაქტივთან 96-ფოსოიან პლატაში. ინკუბაცია მიმდინარეობდა 10წთ-ის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე. ნიტრიტის კონცენტრაცია ფასდებოდა სპექტროფოტომეტრულად მულტისკანზე (Multiscan, Lab Systems, ფინეთი). აბსორბცია ისაზღვრებოდა 540ნმ ტალღის სიგრძეზე. ყველა ნიმუში კეთდებოდა ტრიპლეტებში.

გლუტათიონრედუქტაზას აქტიურობის განსაზღვრა ხდებოდა გლუტათიონ რედუქტაზას ნაკრების საშუალებით (Sigma-Aldrich, USA). აქტიურობა იზომებოდა აბსორბციის ზრდის ცვლილებით DTNB [5,5'-

dithiobis(2-nitrobenzoic acid)] სუბსტრატის დამატებისას 4126მ ტალღის სიგრძეზე.

2.5 ჰეპატოციტების გამოყოფა და მათი მიტოქონდრიული აქტიურობის შესწავლა ტეტრაზოლიუმზე დაფუძნებული კოლორიმეტრიული MTT ტესტით

ღვიძლის ჰომოგენიზაციისა და გარეცხვის შემდეგ გამზადებლით ჰეპატოციტების კულტურას უჯრედების კონცენტრაციით – 1 მლნ/მლ. უჯრედთა სუსპენზიას თითო მლ-ის რაოდენობით ვათავსებდით სინჯარებში. შემდეგ ჰეპატოციტების სუსპენზიას 150 მკლ რაოდენობით ვასხამდით 96-ფოსოიან ბრტყელძირიან მიკროპლანშეტის ფოსოებში (Libro Plastics).

ექსპერიმენტის ყოველ ვარიანტში ცდა და კონტროლი სრულდებოდა 3 ფოსოში. შემდეგ მიკროპლანშეტის ინკუბირებას ვახდენდით თერმოსტატში 100% ტენიანობის, ჰაერში ნახშირორჟანგის 5%-იანი შემცველობისა და 37°C ტემპერატურის პირობებში 4 საათის განმავლობაში.

გამზადებთ დიმეთილთიაზოლილ დიფენილ ტეტრაზოლიუმ ბრომიდის (MTT Sigma) ხსნარს - 5 მგ რეაქტივი 1მლ ფოსფატური ბუფერის მარილხსნარზე.

თითოეულ ფოსოს ვუმატებდით 10-10მკლ MTT-ის მომზადებულ ხსნარს.

შემდეგ პლანშეტს საინკუბაციოდ ვდგამდით 1სთ-ით 37°C ტემპერატურაზე CO₂ ინკუბატორში. ინკუბაციის დამთავრებისას პლანშეტს გამოწმებდით მიკროსკოპის ქვეშ. ფორმაზანის კრისტალების წარმოქმნის შემდეგ, სუპერნატანტს ფრთხილად ავიწოდით და თითოეულ ფოსოში ვუმატებდით 100-100მკლ 10%-იან ნატრიუმდოდეცილსულფატს. ვაიკუბირებდით 2სთ-ით 37°C ტემპერატურაზე, CO₂ ინკუბატორში.

შედგების წაკითხვას ვახდენდით მულტისკანის საშუალებით 540-570მმ ტალღის სიგრძეზე.

2.6 ჰეპატოციტებში კასპაზების აქტიურობის განსაზღვრა

კასპაზა 3 და კასპაზა 8-ს აქტიურობის განსაზღვრა ხდებოდა კოლორიმეტრული ნაკრების საშუალებით. მწარმოებლის ინსტრუქციის მიხედვით, ჰეპატოციტების სუსპენზიას ვუმატებდით ლიზის ბუფერს. შემდეგ ემატებოდა კასპაზა-3-ის (Ac-DEVD) ან 8-ს (Ac-IETD) სუბსტრატს, რომელიც დაკავშირებული იყო *p*-ნიტროანილინთან და ვაინკუბირებდით 37°C-ზე 90 წუთით. სპექტროფოტომეტრზე (Multiscan, Labsystems, Finland) ვსაზღვრავდით ოპტიკურ სიმკვრივეს 405ნმ ტალღის სიგრძეზე. გამოყოფილი ნიტროანილინის რაოდენობა ჰომოგენატში კასპაზების აქტიურობის პირდაპირპროპორციულია. ოპტიკური სიმკვრივის გაზომვა ხდებოდა ყოველ 5 წუთში და გამოთვლილი იქნა შესაბამისად საშუალო და სტანდარტული გადახრა.

2.7 ALT-ს განსაზღვრის სპექტრომეტრიული მეთოდი

სისხლში ალანინამინოტრანსფერაზას (ALT) აქტივობას ვსწავლობდით სპექტროფოტომეტრიული მეთოდით. ამისათვის თავიდან ვიღებდით სისხლს, ვაცენტრიფუგირებდით 3000 გ-ზე 15 წთ-ის განმავლობაში, რის შემდეგაც მიღებულ სისხლის შრატს (რაოდენობით 0.05 მლ) ვუმატებდით 0.25 მლ ALT-ს სტანდარტულ სუბსტრატს (ფოსფატური ბუფერი 0.1 მოლი/ლ, შემდეგ 0.2 მოლი/ლ DL- α -ალანინს და 2 მმოლი/ლ 2-ოქსიგლუტარატს). ამის შემდეგ ვახდენდით სინჯის ინკუბირებას 37°C ტემპერატურაზე 60 წთ-ის განმავლობაში, ვუმატებდით 0.25 მლ 2-4-დინიტროფენილჰიდრაზინის ხსნარს (1 მმოლი/ლ, HCl 1 მმოლი/ლ). მიღებულ სინჯს ვურევდით და ვტოვებდით 20 წთ-ის განმავლობაში 22°C ტემპერატურაზე. ამის შემდეგ ვუმატებდით 2.5 მლ NaOH-ის ხსნარს, ვტოვებდით 10 წთ-ის განმავლობაში და ოპტიკურ სიმკვრივეს ვზომავდით 530 ნმ ტალღის სიგრძეზე საკონტროლო ხსნარის მიმართ, სადაც სისხლის შრატის ნაცვლად დამატებული იყო 0.25 მლ ფიზიოლოგიური ხსნარი.

ALT-ს კონცენტრაციას ვსაზღვრავდით სტანდარტული გრაფიკის საშუალებით.

2.8 მასალის სტატისტიკური დამუშავება

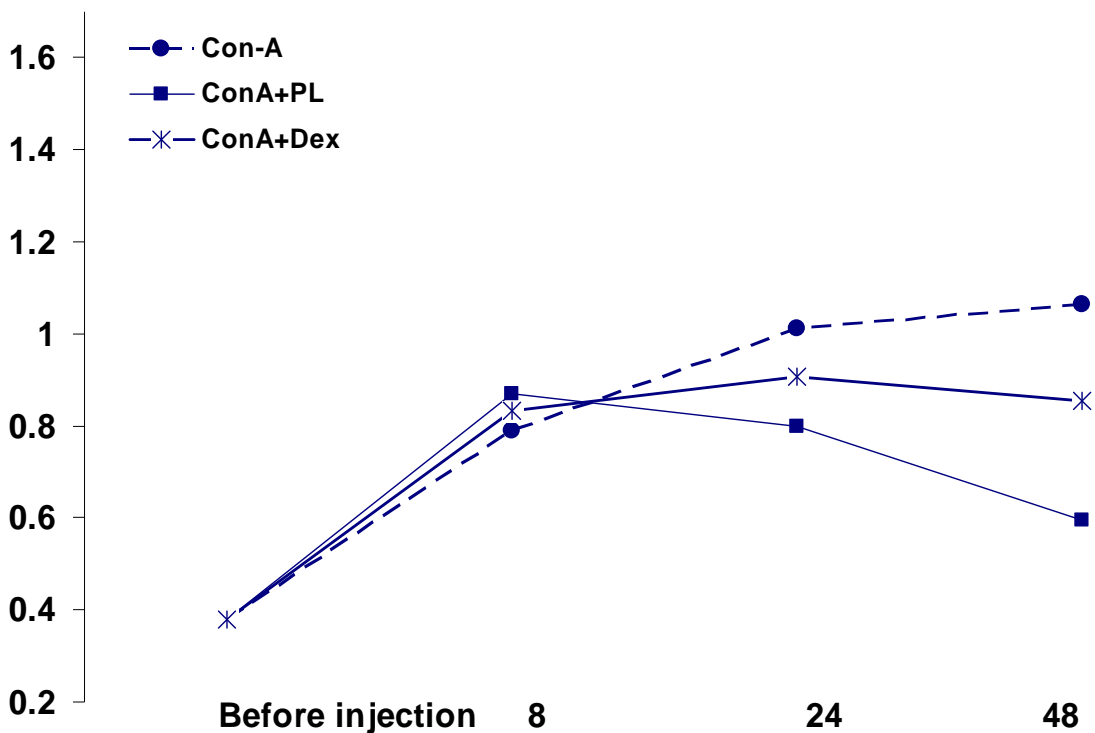
მასალა დამუშავდა სტატისტიკური პროგრამის Statistica 6.0 (Statsoft, Mineapolis, USA) გამოყენებით.

III თავი - საკუთარი გამოკვლევის შედეგები

3.1 პლაფერონი ღბ-ს ზეგავლენა Con-A ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს სისხლში ალანინამინოტრანსფერაზას შემცველობასა და ღვიძლში განვითარებულ მორფოლოგიურ ცვლილებებზე

დიაგრამა 1-ზე მოცემულია Con-A ინდუცირებული ჰეპატიტის დროს თაგვების სისხლში ALT-ს ცვლილებები დაკვირვების სხვადასხვა ვადაზე (ნორმაში აღნიშნული მაჩვენებელი უდრის 0.5-ს).

დიაგრამა №1



დაკვირვების I ვადაზე (8 სთ) ALT-ს დონე საკონტროლო თაგვების სისხლში თითქმის 3-ჯერ აღემატება ნორმას. რაც შეეხება დექსამეტაზონით და პლაფერონით ნამკურნალებ თაგვებს, მათ სისხლში

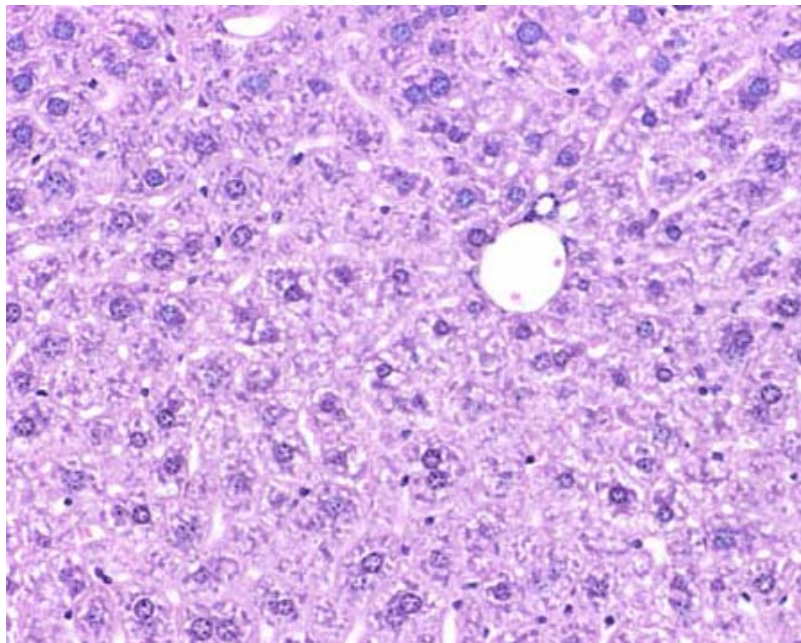
ALT-ს დონე ორივე შემთხვევაში ერთნაირია და თითქმის 2-ჯერ აღემატება ნორმას.

დაკვირვების II ვადაზე (24 სთ) საკონტროლო და ნამკურნალები თაგვების სისხლში ALT-ს დონე თითქმის ერთნაირია და 2-ჯერ აღემატება ნორმას.

დაკვირვების III ვადაზე (48 სთ) საკონტროლო თაგვების სისხლში ALT-ს დონე კვლავ 2-ჯერ აღემატება ნორმას, დექსამეტაზონით ნამკურნალები თაგვების სისხლში კი ALT-ს დონე დაკვირვების ამ დროისათვის კვლავ სტატისტიკურად სარწმუნოდ მაღალია ნორმასთან შედარებით, პლაფერონი ლბ-ს ზემოქმედებით კი აღნიშნული მაჩვენებელი ნორმას უბრუნდება.

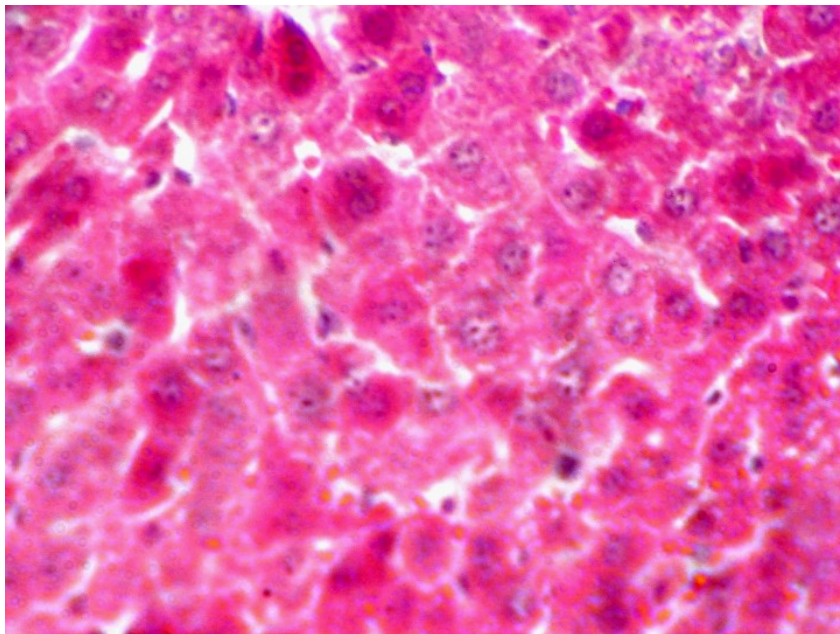
აღნიშნულიდან გამომდინარე, დექსამეტაზონი დაკვირვების I ვადაზე ამცირებს ALT-ს დონეს, ხოლო, შემდგომ ვადებზე იგი სტატისტიკურად სარწმუნოდ აღარ განსხვავდება საკონტროლო თაგვების ანალოგიური მაჩვენებლისაგან. პლაფერონი ლბ-ს ზეგავლენით დაკვირვების III ვადაზე ALT დონე ნორმას უბრუნდება.

სურ. 1 ჯანმრთელი თაგვის ღვიძლი მორფოლოგიური პრეპარატი



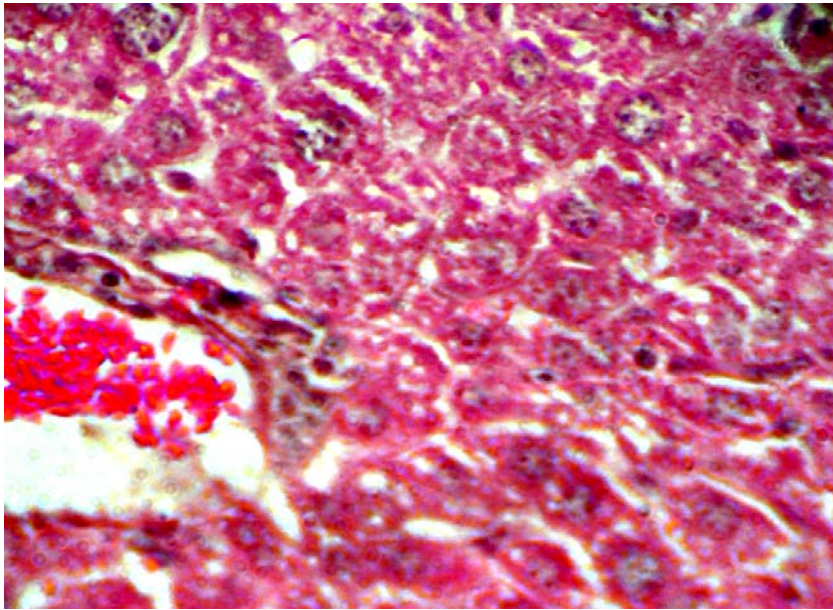
Con-A-ს ინექციიდან 8 სთ-ის შემდეგ თაგვების ღვიძლში მწვავე ანთებისათვის დამახასიათებელი მორფოლოგიური ცვლილებები აღინიშნება. ჰეპატოციტების დიდი ნაწილი ვაკუოლურ დისტროფიას განიცდის. ამასთან ერთად, ფოკალური ნეკროზის კერებიც გვხვდება. ნეკროზული ჰეპატოციტების ციტოპლაზმა მკვეთრად ეოზინოფილურია, რაც ნეკროზის უბნებში ეოზინოფილური (ე.წ. კაუნსილმანის) სხეულაკების სახით ვლინდება. ალაგ-ალაგ ორბირთვიანი ჰეპატოციტების არსებობა აღინიშნება (სურ. 2).

სურ. 2 საკონტროლო ჯგუფი ConA-ს ინექციიდან 8 სთ-ის შემდეგ



ღვიძლის პარენქიმაში ლიმფოციტური რივის უჯრედების ინფილტრატები გვხვდება. ინფილტრაცია განსაკუთრებით ინტენსიურია პორტულ სივრცეებში. დამახასიათებელია ცენტრალური ვენებისა და ღვიძლის სინუსოიდების გაგანიერება. გამოსატულია “სლაჯ-ფენომენი”.

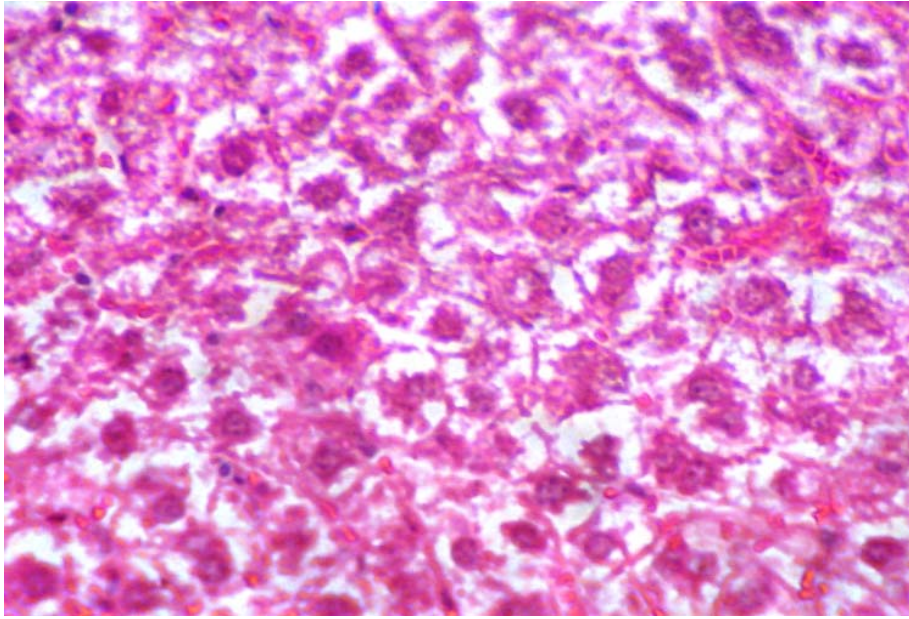
სურ. 3 ConA-ს ინექციიდან 24 სთ-ის შემდეგ



Con-A-ს შეყვანიდან 24 სთ-ის შემდეგ აღნიშნული ცვლილებები კვლავ ინტენსიურადაა გამოხატული. ჰეპატოციტების უმეტესობა ვაკუოლურ დისტროფიასა და ნეკროზულ ცვლილებებს განიცდის. უჯრედების უმრავლესობა ჰგავს ერთ დიდ ვაკუოლს (სურ. 3)

მსგავსი სურათია ექსპერიმენტის დაწყებიდან 48 სთ-ის შემდეგაც. წინა ვადებთან შედარებით აღინიშნება ორბირთვიანი ჰეპატოციტების რაოდენობის მატება, რაც რეგენერაციული პროცესების გააქტივებაზე მიუთითებს. ზოგიერთ არეში ღვიძლის ნორმალური ტრაბეკულური სტრუქტურა ვლინდება. იმავე ვადაზე ზოგიერთი ნორმალური ჰეპატოციტიც ჩნდება (სურ. 4).

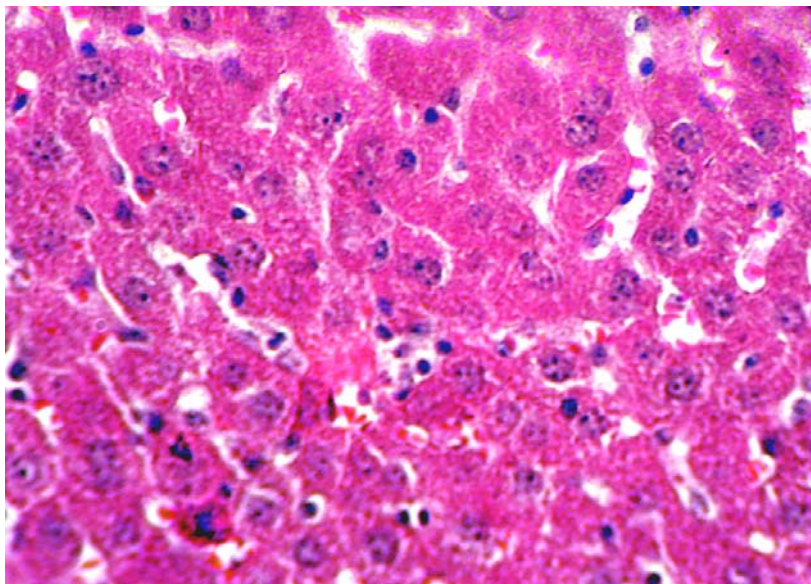
სურ. 4 ConA-ს ინექციიდან 48 სთ-ის შემდეგ



Con-A-სთან ერთად დექსამეტაზონის შეყვანის ფონზე ზემოთ აღნიშნული ცვლილებები შედარებით ნაკლები ინტენსივობით ხასიათდება.

ექსპერიმენტის დაწყებიდან 8 სთ-ის შემდეგ თაგვების ღვიძლში ჰეპატოციტების დიდი ნაწილი ვაკუოლურ დისტროფიას განიცდის, თუმცა წილაკების ძირითადი ტრაბეკულური სტრუქტურა შენარჩუნებულია. დისტროფიული ცვლილებების ფონზე აღინიშნება მცირე ზომის ნეკროზული უბნების არსებობა. კაუნსილმანის სხეულაკები უპირატესად პერიპორტულ ზონებში გვხვდება (სურ. 5).

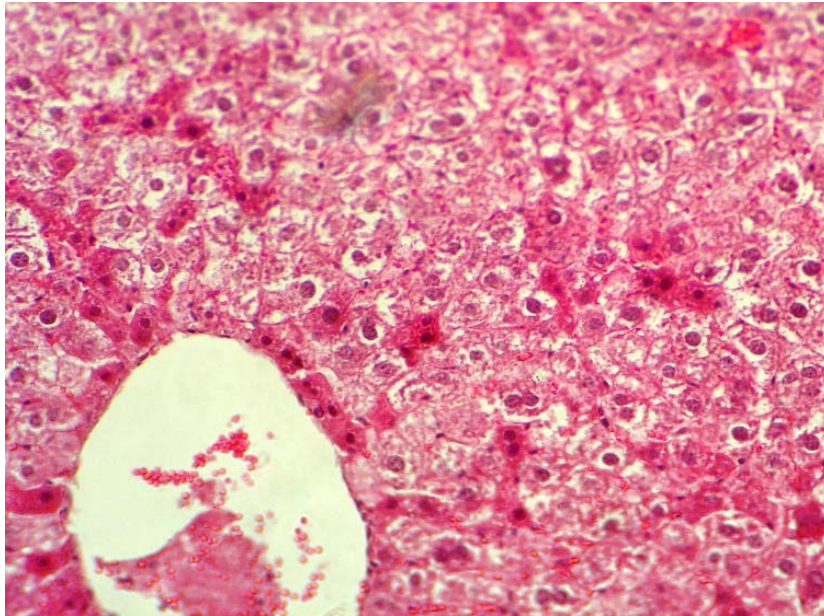
სურ. 5 ConA-ს ინექციიდან 8 სთ-ის შემდეგ, დექსამეტაზონით ნამკურნალევი



პორტული სივრცეების ლიმფოიდური ინფილტრაცია უმნიშვნელოა. “სლაჯ-ფენომენი” სუსტად არის გამოხატული. უმეტეს შემთხვევაში ერთროციტების კონტურები შენახულია. აქა-იქ გვხვდება მცირე რაოდენობით ორბირთვიანი ჰეპატოციტები.

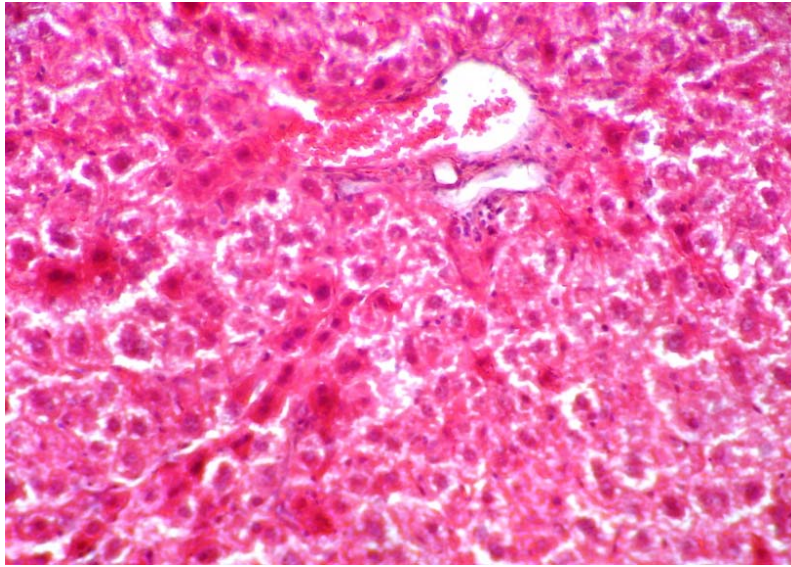
24 სთ-ის შემდეგ ღვიძლში მნიშვნელოვნად მატულობს ორბირთვიანი ჰეპატოციტების რაოდენობა. ამავე დროს აღინიშნება დესტრუქციული ცვლილებების გაღრმავება .

**სურ. 6 ConA-ს ინექციიდან 24 სთ-ის შემდეგ, დექსამეტაზონით
ნამკურნალები**



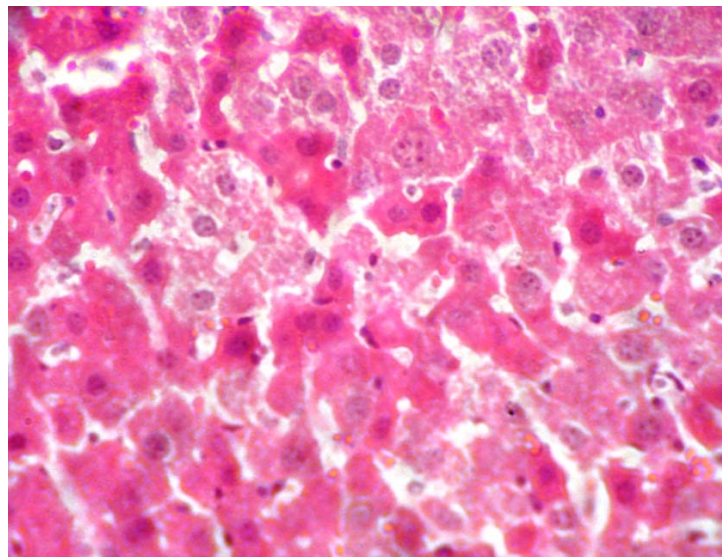
ლიმფოიდური ინფილტრაციის არსებობა დამახასიათებელი არ არის. 48 სთ-ის შემდეგ დესტრუქციული ცვლილებები ნაკლებად არის გამოხატული, თუმცა, ჰეპატოციტების ნაწილში კვლავ ვაკუოლური დისტროფიისათვის დამახასიათებელი ცვლილებები აღინიშნება. ნეკროზული უბნების არსებობა იშვიათია და მნიშვნელოვნად არის მომატებული ორბირთვიანი ჰეპატოციტების რაოდენობა. ლიმფოიდური ინფილტრატების არსებობა დამახასიათებელი არ არის (სურ. 7).

**სურ. 7 ConA-ს ინექციიდან 48 სთ-ის შემდეგ, დექსამეტაზონით
ნამკურნალები**



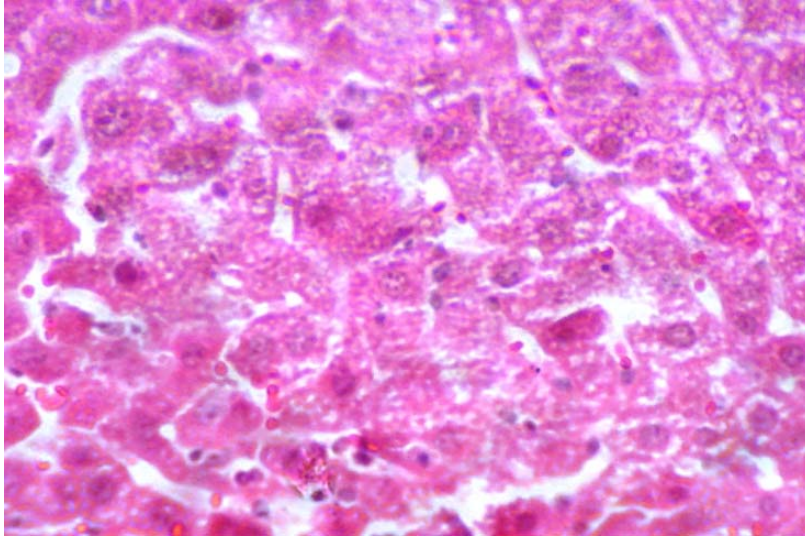
Con-A-სთან ერთად პლაფერონი ლბ-ს შეყვანის შემთხვევაშიც ექსპერიმენტის დაწყებიდან 8 სთ-ის შემდეგ ღვიძლში მწვავე ანთებისათვის დამახასიათებელი მორფოლოგიული სურათია. ჰეპატოციტების დიდი უმრავლესობა ვაკუოლურ დისტროფიას განიცდის. ამასთანავე, აღსანიშნავია, რომ კაუნსილმანის სხეულაკების რაოდენობა უმნიშვნელოა, ხოლო წილაკის ტრაბეკულური შენება შენარჩუნებულია (სურ. 8). ასევე იშვიათი და უმნიშვნელოა ლიმფოციტური ინფილტრაციის უბნები.

სურ. 8 ConA-ს ინექციიდან 8 სთ-ის შემდეგ, პლაფერონით ნამკურნალები



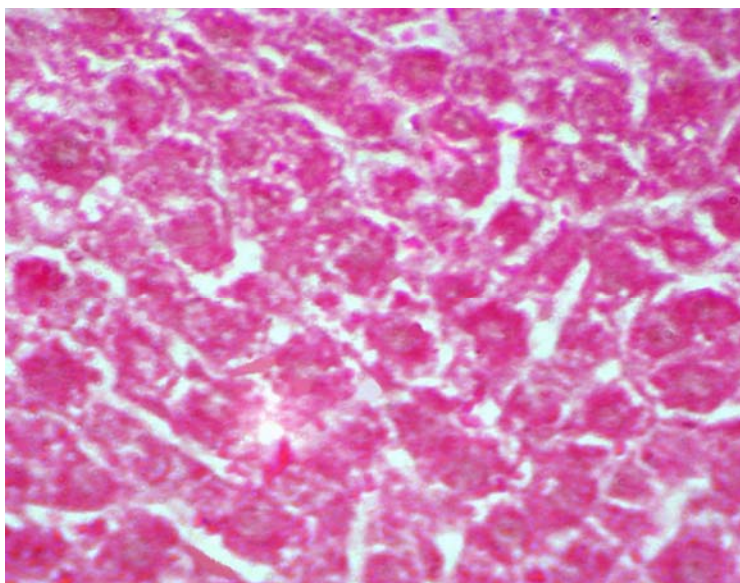
24 სთ-თვის ჰეპატოციტების უმრავლესობა კვლავ დისტროფიულ ცვლილებებს განიცდის, მაგრამ ნეკროზული უბნების არსებობა დამახასიათებელი არ არის (სურ. 9).

სურ. 9 ConA-ს ინექციიდან 24 სთ-ის შემდეგ, პლაფერონით ნამკურნალევი



48 სთ-ისათვის წილაკის ნორმული შენება ძირითადად აღდგენილია, თუმცა, ჰეპატოციტების ნაწილში კვლავ ვაკუოლური დისტროფიის ნიშნები აღინიშნება. ნეკროზული უბნებისა და ლიმფოციტური ინფილტრატების არსებობა არ აღინიშნება (სურ. 10).

სურ. 10 ConA-ს ინექციიდან 48 სთ-ის შემდეგ, პლაფერონით ნამკურნალევი



ამგვარად, Con-A ინდუცირებული ჰეპატიტის დროს პლაფერონი ლბ, დექსამეტაზონის მსგავსად, ღვიძლის ქსოვილს ღრმა დესტრუქციული ცვლილებების განვითარებისაგან იცავს და ღვიძლის წიდაკის ნორმული შენების აღდგენას აჩქარებს.

3.2 Con-A ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს ღვიძლსა და სისხლში მიმდინარე ოქსიდაციური პროცესების მაჩვენებლების მოდულაცია იმუნომოდულატორებით

რეაქტიული უანგბადური სახეობების (ROS) უჯრედშიდა კონცენტრაცია მკაცრად კონტროლირდება დაცვის მრავალრიცხოვანი მექანიზმებით, მათ შორის, ROS-ის სკავენჯერი ფერმენტებისა და პატარა ანტიოქსიდანტი მოლეკულების მიერ. ამ ანტიოქსიდანტი სისტემებიდან აღსანიშნავია გლუტათიონი და მასზე დამოკიდებული ფერმენტები, რომლებიც ოქსიდაციური დაზიანებისაგან დამცავ მექანიზმს წარმოადგენენ როგორც ცირკულაციაში, ისე სხვადასხვა ქსოვილში, მათ შორის, ღვიძლში (Gate et al, 1999). გლუტათიონის რედოქს სტრატუსის შეცვლა მრავალგვარ მეანგავი მოლეკულას შეუძლია. ეს სტრატუსი, ჩვეულებრივ, უზრუნველყოფილია გლუტათიონის დამშლელი და აღმდგენი ფერმენტების მიერ (Halliwell et al, 1996; Hayes et al., 1999). წინამდებარე კვლევაში ჩვენ განვსაზღვრეთ აზოტის ოქსიდის კონცენტრაციები და გლუტათიონ რედუქტაზას აქტიურობა შრატში მსუბუქი ჰეპატიტის ექსპერიმენტულ მოდელში. გარდა ამისა, ჩვენ შევაფასეთ იზოლირებული ჰეპატოციტების მიტოქონდრიული აქტიურობა.

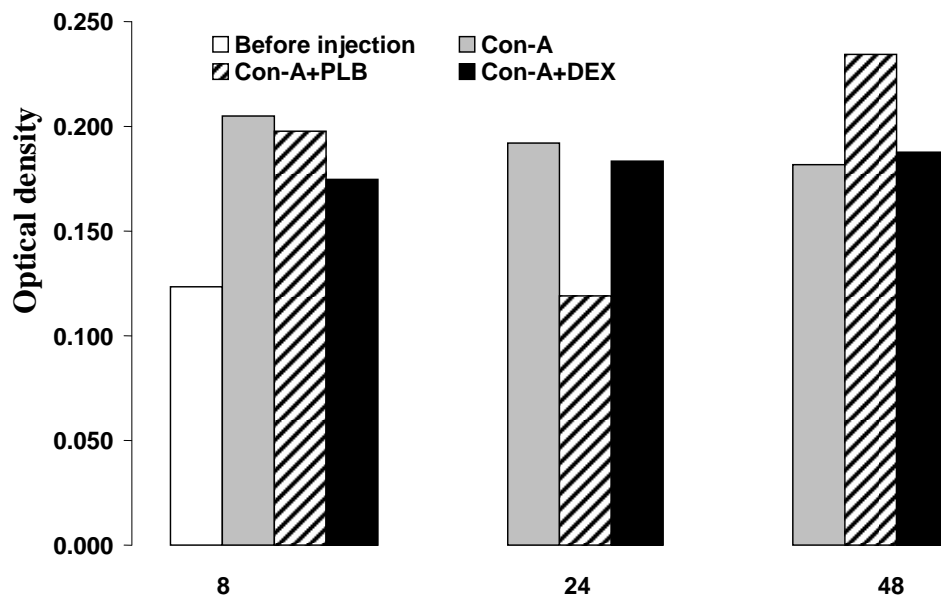
Con-A ინდუცირებიდან 8სთ-ის შემდეგ თავისუფალი აზოტის ოქსიდის რაოდენობა პლაზმაში მატულობს ჯგუფის საკვლევი ცხოველებში დაახლოებით 2-ჯერ იზრდება. II და III ჯგუფებშიც მისი საგრძნობლად ზრდა შეინიშნება, რაც თითქმის 2-ჯერ აღემატება ჯანმრთელი თავის მონაცემს. Con-A ინდუცირებიდან 24სთ-ის შემდეგ თავისუფალი აზოტის ოქსიდის ეპრ სიგნალის ინტენსივობა I ჯგუფის ცხოველებში ნორმასთან შედარებით კვლავ მაღალია. II ჯგუფის ცხოველებში NO-ს ეპრ სიგნალის ინტენსივობა წინა ვადასთან შედარებით სტატისტიკურად მნიშვნელოვნად არ იცვლება და კვლავ მომატებულია. III ჯგუფის ცხოველებში NO-ს ეპრ სიგნალის ინტენსივობა ნორმასთან შედარებით კვლავ მაღალია, მაგრამ წინა

ვადის მონაცემთან შედარებით მცირდება ($p<0,01$) და საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით 43%-ით ნაკლებია. Con-A ინდუცირებიდან 48სთ-ის შემდეგ თავისუფალი აზოტის ოქსიდის (NO) ეპრ სიგნალის ინტენსივობა I ჯგუფის ცხოველებში ნორმასთან შედარებით კვლავ მაღალი რჩება და წინა ვადის მონაცემთან შედარებით უმნიშვნელოდ მცირდება. აღნიშნული მაჩვენებელი II და III ჯგუფის ცხოველებშიც ისევ საგრძნობლად მაღალია და წინა ვადის მონაცემების შესაბამისად 72%-ს და 140%-ს ($p<0,01$) შეადგენს.

პლაფერონი ლბ და დექსამეტაზონი ხელს უწყობენ NO-ს მაღალი დონის შენარჩუნებას, ამასთან, პლაფერონი ლბ მის ცვლილებას ახდენს.

Con-A-თი ზემოქმედებიდან 8სთ-ის შემდეგ NO-ის კონცენტრაციები მომატებულია და არ ხასიათდება მნიშვნელოვანი ცვლილებებით ექსპერიმენტის ბოლომდე. I და III ჯგუფებთან შედარებით პლაფერონი ლბ-თი ზემოქმედება მნიშვნელოვნად ამცირებს NO-ის კონცენტრაციებს 24-ე საათზე. თუმცა, პლაფერონი ლბ-ის ზეგავლენით აზოტის ოქსიდის სინთეზი მნიშვნელოვნად გაძლიერდა 48სთ-ის შემდეგ Con-A-ის ინექციის გამო (დიაგრამა 2).

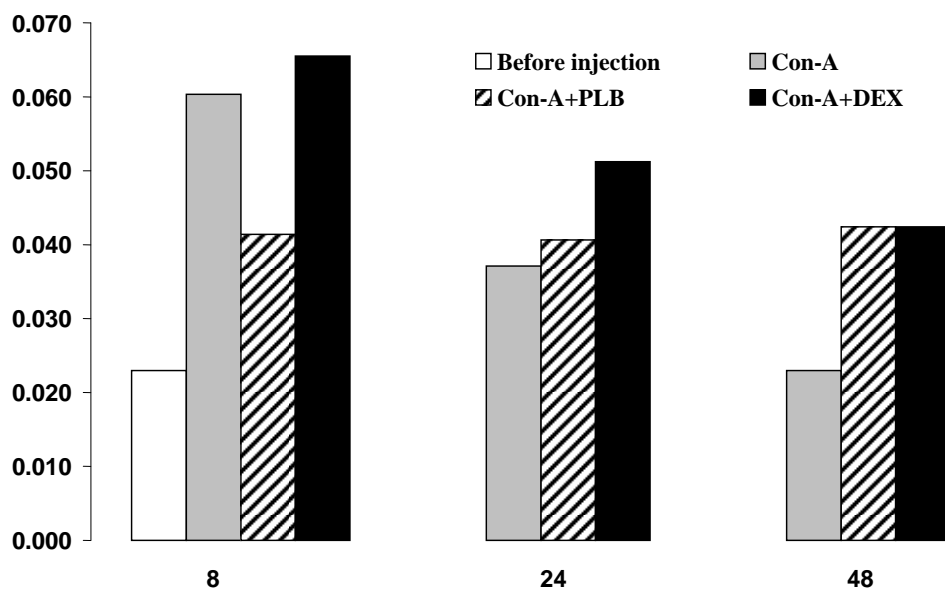
დიაგრამა 2 შრატში ნიტრიტ/ნიტრატის დონეების ცვლილებები Con-A-ინდუცირებულ ექსპ. მსუბუქ ჰეპატიტში



გარდა ამისა, Con-A-თი დამუშავებულ თაგვებში ღვიძლის დაზიანება ინტრავენული ინექციიდან 8სთ-ის შემდეგ პლაზმური ტრანსამინაზების მომატებული კონცენტრაციებით ხასიათდება, რაც პიკს 24-ე სთ-ზე აღწევს.

ჩვენ შევისწავლეთ ანტიოქსიდანტური ინდიკატორი, კერძოდ, გლუტათიონ რედუქტაზა. გამოკვლევის შედეგებმა გვიჩვენა, რომ მე-8 სთ-ზე გლუტათიონ რედუქტაზას აქტიურობა I ჯგუფში ნორმალურ ცხოველებთან შედარებით გაზრდილი იყო ($p < 0,01$) (დიაგრამა 3).

დიაგრამა 3 შრატში გლუტათიონ რედუქტაზას აქტიურობა ექსპ. მსუბუქი ჰეპატიტის დროს



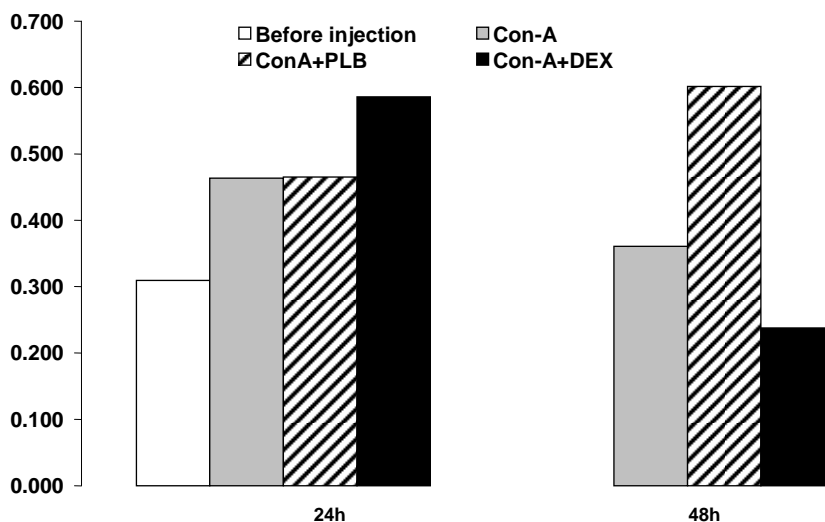
დექსამეტაზონით ზემოქმედებით, გლუტათიონ რედუქტაზას დონე I ვადაზე საგრძნობად იზრდება, შემდეგ ვადებზე კი მცირდება, მაგრამ ნორმას არ უბრუნდება. პლაფერონი ლბ-ით ზემოქმედებას I ჯგუფთან შედარებით გლუტათიონ რედუქტაზას აქტიურობის მნიშვნელოვანი შემცირება მოსდევდა ისე, რომ შემცირებული დონე აღარ იცვლებოდა შემდგომი 48სთ-ის განმავლობაში.

ჩვენ მიერ გამოვლენილი მონაცემები შეესაბამება სხვა კვლევის შედეგებს, რომლის მიხედვითაც, ციროზსა და ჰეპატოციტულარულ კარცინომაში საკონტროლო ქსოვილთან შედარებით გლუტათიონ

რედუქტაზას აქტიურობა გაზრდილია (Czeczot et al., 2006). უჯრედის ღონეზე გლუტათიონის კომეოსტაზი უზრუნველყოფილია ბიოსინთეზს, მოხმარებას, ოქსიდაციასა და ექსპორტს შორის ბალანსით. კომეოსტაზის დარღვევამ კი შეიძლება იმოქმედოს ღვიძლის უნარზე უზრუნველყოს ოქსიდაციური დაზიანებისგან დაცვა (Fernandez-Checa et al., 1997).

უფრო მეტიც, MTT მეთოდის საშუალებით შევაფასეთ ჰეპატოციტების მიტოქონდრიული ფუნქცია და იმუნომამოდულირებელი წამლების ეფექტი. ჰეპატოციტების მიტოქონდრიული ფუნქციონირება საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით გაძლიერდა I ჯგუფში. პლაფერონი ლბ მნიშვნელოვნად ზრდის მიტოქონდრიულ აქტიურობას Con-A-თი ზემოქმედებიდან 48სთ-ის შემდეგ. დექსამეტაზონს იგივე ეფექტი მოაქვს 24-ე საათზე. ეს შედეგები ადასტურებენ ჩვენ მიერ მანამდე მიღებულ მონაცემებს და მიუთითებენ იმაზე, რომ პლაფერონი აძლიერებს მიტოქონდრიულ ფუნქციას და ხელს უწყობს რეგენერაციულ პროცესს ღვიძლში.

დიაგრამა 4 ჰეპატოციტების სპონტანური სტიმულაციის ინდექსი MTT ტესტის საშუალებით



საბოლოო ჯამში ჩვენ მოვახდინეთ იმის დემონსტრირება, რომ ოქსიდანტი/ანტიოქსიდანტის სისტემა ექსპერიმენტული მსუბუქი

ჰეპატიტის დროს ბალანს კარგავს. ეს ფაქტი ეთანხმენა ჰიპოთეზას, რომლის მიხედვითაც, ოქსიდაციური სტრესი ღვიძლის ზემოთაღნიშნული დაავადებების განვითარებაში მნიშვნელოვან როლს თამაშობს. ისმის მთავარი კითხვა: ეს დარღვევა ღვიძლის მოცემული დაავადებების ერთ-ერთი გამომწვევი მიზეზია თუ მათი განვითარების მხოლოდ ერთ-ერთი შედეგი? საჭიროა შემდგომი კვლევა აღნიშნულ კითხვაზე პასუხის გასაცემად. ქსოვილებიდან რეაქტიული ჟანგბადური სახეობებისა და თავისუფალი რადიკალების მოცილების დაქვეითებული უნარი ერთ-ერთი ფაქტორია, რომელმაც შეიძლება ნეოპლაზიის განვითარება განაპირობოს.

3.3 Con-A ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს ღვიძლში კასპაზების აქტიურობა და მათი მოდულაცია იმუნომოდულატორებით

კასპაზების გააქტიურება აპოპტოზური პროცესის დამახასიათებელი ნიშანია. აპიკალური კასპაზების რეგულაცია შეიძლება გადამწყვეტი ფაქტორი იყოს ამ პროცესში. კასპაზა 8-ის თვითგააქტიურება იწვევს კასპაზა 3-ის პირდაპირ გააქტიურებასა და Bid-ის გახლეჩვას (Li et al., 1998).

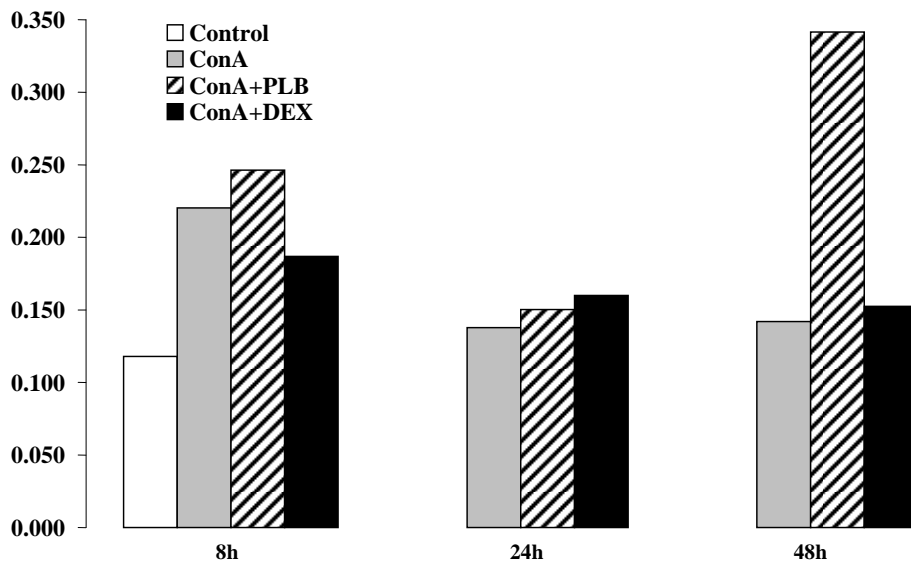
წინამდებარე კვლევის მთავარი მიზნები იყო: 1. იმის დადგენა, თუ რომელი კასპაზების გააქტიურება ხდებოდა *in vivo* Con-A-ს ადმინისტრირების შედეგად; 2. იმის დადგენა, თუ როგორი ეფექტები ჰქონდა შესაბამისად პლაფერონი ლბ-სა და დექსამეტაზონს ამ გააქტიურებაზე. კერძოდ, კოლორიმეტრული მეთოდით შევისწავლეთ ზედა კასპაზა-8 და ქვედა კასპაზა-3. გამოვიკვლიეთ, აგრეთვე, შრატში ALT-ის კონცენტრაციები.

მწვავე ექსპერიმენტული ჰეპატიტისგან განსხვავებით (შარაშენიძე, 2003), ჩვენი კვლევის შედეგებმა აჩვენეს, რომ ALT-ის კონცენტრაციები Con-A-ს ადმინისტრირებიდან 8სთ-ის შემდეგ მომატებული იყო და მაქსიმუმს 48-ე სთ-ზე აღწევდა. Con-A ჯგუფთან შედარებით, დექსამეტაზონის გამოყენება არ ცვლიდა ALT-ის კონცენტრაციებს. პლაფერონი ლბ-თი ზემოქმედების შემთხვევაში კი ALT-ის კონცენტრაციებმა I ჯგუფზე უფრო მეტად მოიმატეს (დიაგრამა 1).

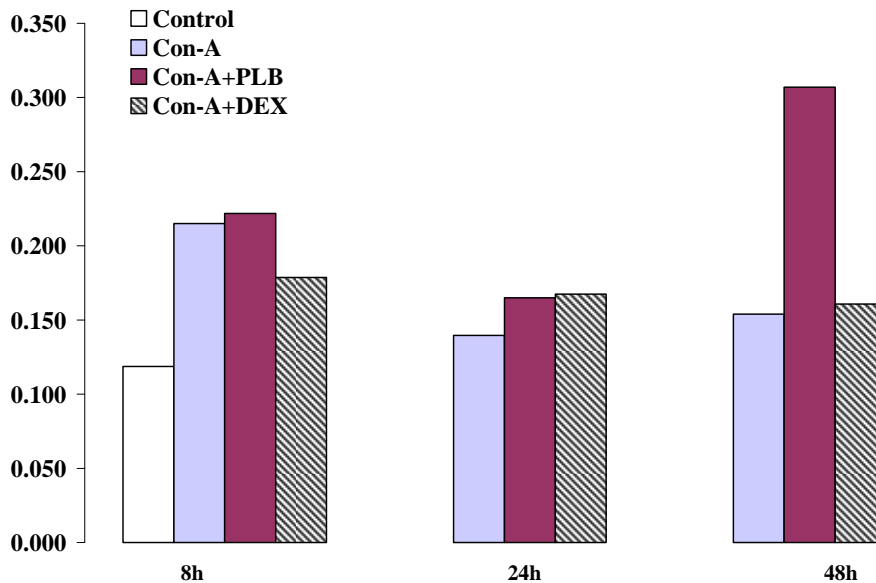
არსებული კვლევების შედეგები, რომლებმაც Con-A-ს ადმინისტრირების შედეგად პროკასპაზა-8-ისა და პროკასპაზა-3-ის პროცესინგის დემონსტრირება მოახდინეს, მკაფიოდ შეესაბამება ჩვენს მიერ მიღებულ მონაცემებს. კერძოდ, ვაჩვენეთ, რომ Con-A-თი ზემოქმედებიდან მე-8, 24-ე და 48-ე სთ-ზე კასპაზა-8-ისა და კასპაზა-3-ის აქტიურობა აშკარად სახეზე იყო. ამ კასპაზების აქტიურობების მაქსიმუმი მოდიოდა მე-8 სთ-ზე, 24-48 სთ-ებში კი გამუდმებით მცირდებოდა, თუმცა, 48-ე სთ-ზე ნორმაში მაინც არ იყო.

ამის შემდეგ ჩვენ დავადგინეთ, რომ პლაფერონი ლბ-ს მე-8 და 24-ე სთ-ებზე კასპაზა-3-ისა და კასპაზა-8-ის აქტიურობის გაძლიერების ტენდენცია გააჩნია. თუმცა, ეს ცვლილებები მნიშვნელოვანი არ არის. პლაფერონი ლბ ორივე კასპაზის აქტიურობას არსებითად მხოლოდ 48სთ-ისთვის ზრდიდა ($p<0,01$). ჩვენ მიერ ჩატარებული ანალიზის შედეგების მიხედვით, დექსამეტაზონი ჩვენ მიერ შესწავლილ ნებისმიერ ეტაპზე ახდენდა ორივე კასპაზის ინჰიბირებას (დიაგრამები 5, 6).

დიაგრამა 5 კასპაზა-3-ის აქტიურობა Con-A-ინდუცირებული ჰეპატიტის დროს



დიაგრამა 6 კასპაზა-8-ის აქტიურობა Con-A-ინდუცირებული ჰეპატიტის დროს



აღსანიშნავია, რომ წინა კვლევების მიერ ნაჩვენები იქნა პლაფერონი ლბ-ს ანტიაპოპტოზური ეფექტი მწვავე ჰეპატიტის მოდელეებში და კლინიკურ გამოცდებში (გონგაძე, 2004). ჩვენ კი დაავადებინეთ, რომ პლაფერონი ლბ პროაპოპტოზურ თვისებასაც ავლენს, რაც გამოიხატება მსუბუქი ჰეპატიტის დროს კასპაზა-3-ისა და კასპაზა-8-ის აქტიურობის გაზრდაში.

ნაჩვენებია, რომ ჭარბ აპოპტოზს ადგილი აქვს მწვავე და ქრონიკული ვირუსული ჰეპატიტის, ალკოჰოლური და არაალკოჰოლური ჰეპატიტის, ღვიძლის ქოლესტატური დაავადების, ვილსონის დაავადებისა და “იმპლანტანტი მასპინძლის წინააღმდეგ დაავადებაში” (GVHD). მუდმივი აპოპტოზი უკავშირდება ღვიძლის ფიბროზის განვითარებას. მეორე მხრივ, არასაკმარისი აპოპტოზი ასოცირებულია ღვიძლში და სანადვლე სისტემაში სიმსივნის განვითარებასა და პროგრესიასთან. უფრო მეტიც, ინტერფერონის ანტივირუსული ეფექტი მედიირდება აპოპტოზის გამოწვევის გზით (Castelli et al, 1997).

ამრიგად, ჩვენი კვლევა – ჩვენ წინა კვლევებთან ერთად – გვაგარაუდებინებს, რომ პლაფერონი ლბ-ს ღვიძლის სხვადასხვა დაზიანების, მათ შორის, ჰეპატიტისა და სიმსივნების თერაპიული პოტენციალი გააჩნია. ცხადია, საჭიროა შემდგომი კლინიკური გამოკვლევები ამ როლში პლაფერონი ლბ-ს ეფექტურობის სრულად შესასწავლად.

3.4 ექსპერიმენტული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს ჰეპატოციტების აპოპტოზური ცვლილების შესწავლა იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით

TUNEL-ის მეთოდის გამოყენებით შევისწავლეთ ექსპერიმენტული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს ღვიძლში მიმდინარე აპოპტოზური ცვლილებები. ექსპერიმენტული კვლევის შედეგად მიღებული მონაცემები წარმოდგენილია ცხრილი №1-ში.

ცხრილი №1 აპოპტოზური ბირთვების რაოდენობრივი მაჩვენებლები თავგების ჰეპატოციტებში Con-A-თი გამოწვეული ექსპერიმენტული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს

ვადა / საკვლევი ჯგუფები	ჯანმრთელი	კონკანავალინ-A	კონკანავალინ-A + პლბ	კონკანავალინ-A + დექსამეტაზონი
8 საათი	54,23 ± 9,09	154,39±15,22	180,39±17,2	164,39±15,02
24 საათი	“ – “	76,41±12,12	82,34±11,15	86,14±9,11
48 საათი	“ – “	75,41±10,11	280,23± 15,21	84,12±9,10

როგორც ცხრილიდან ჩანს, ჯანმრთელი თავგების ჰეპატოციტებში ყოველ 10000 უჯრედზე საშუალოდ 54,23±9,09 აპოპტოზური ბირთვი აღინიშნებოდა. დამახასიათებელი იყო მცირე ზომის, ბაცი ყავისფერი აპოპტოზური ბირთვების თანაბარი განაწილება.

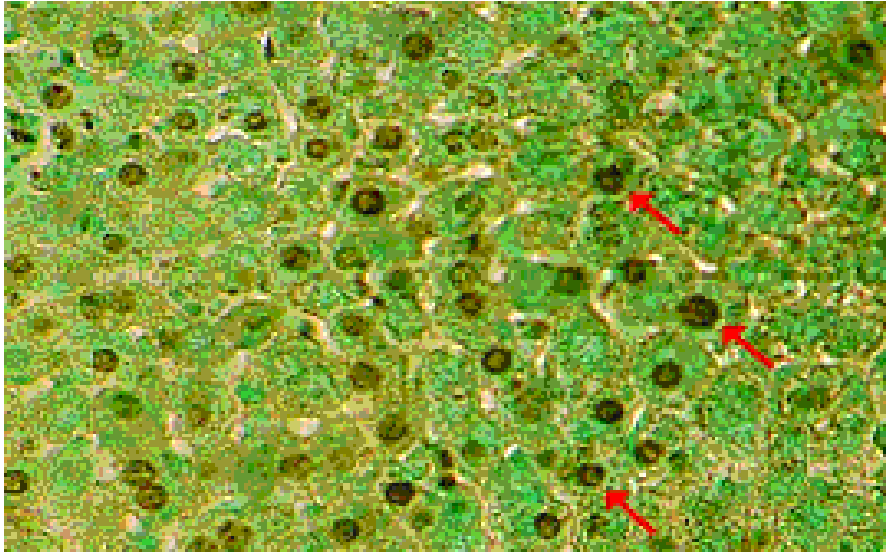
ჯანმრთელ თავგებთან შედარებით, ექსპერიმენტის I ვადაზე (8 სთ) აპოპტოზური ბირთვების რაოდენობა მნიშვნელოვნად მატულობს ($p < 0,01$) და ყოველ 10 000 უჯრედზე საშუალოდ 154,39±15,22 აპოპტოზური ბირთვი აღინიშნება (ცხრილი №1). პლაფერონი ლბ-თი და დექსამეტაზონით მკურნალობა აპოპტოზზე გავლენას არ ახდენს, რაზეც აპოპტოზური ბირთვების უმნიშვნელო ცვლილება მიუთითებს ($P > 0,05$).

24 სთ-ზე ყველა ჯგუფში აპოპტოზური ბირთვების რაოდენობა I ვადასთან შედარებით სტატისტიკურად სარწმუნოდ მცირდება ($P < 0,05$) და ჯგუფებს შორის სხვაობა არ აღინიშნება ($P > 0,05$).

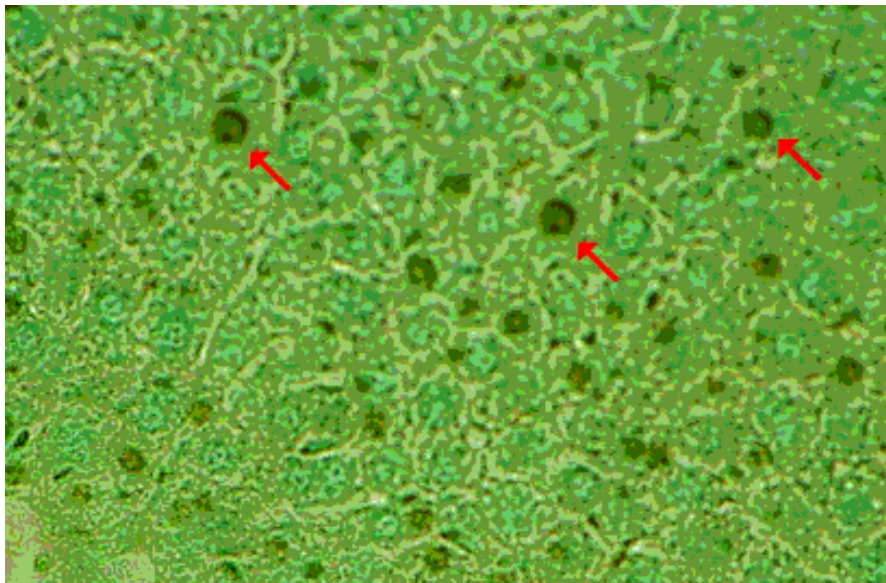
ექსპერიმენტის ბოლო ვადაზე (48 სთ) საკონტროლო და დექსამეტაზონით ნამკურნალები ჯგუფების ცხოველების ღვიძლში

აპოპტოზური ბირთვების რაოდენობა თითქმის იგივეა, რაც 24 სთ-ზე იყო (სურათი №11 და სურათი №12). პლაფერონი ლბ-თი ნამკურნალებ თაგვებში კი ამ ვადაზე აპოპტოზური ბირთვების რაოდენობა დაახლოებით 2-ჯერ მატულობს (სურ. №13).

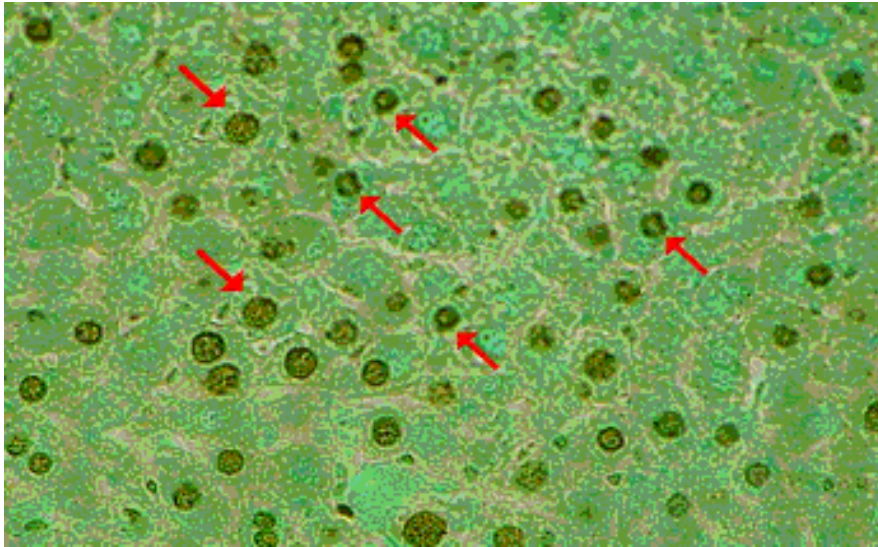
სურათი №11 საკონტროლო ჯგუფის თაგვის ღვიძლი შეღებილი TUNEL-ის მეთოდით, 48 საათი



სურათი №12 დექსამეტაზონით ნამკურნალები თაგვის ღვიძლი შეღებილი TUNEL-ის მეთოდით, 48 საათი (აპოპტოზური ბირთვები მითითებულია ისრებით).



სურათი №13 პლაფერონი ღბ-თი ნამკურნალები თაგვის ღვიძლი შეღებილი TUNEL-ის მეთოდით, 48 საათი (აპოპტოზური ბირთვები მითითებულია ისრებით).



ამრიგად, ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევის შედეგად გამოვლინდა, რომ ექსპერიმენტული მსუბუქი ჰეპატიტის მოდელში პლაფერონი ღბ-ს გამოყენება 48 სთ-ზე ღვიძლში სარწმუნოდ ზრდის აპოპტოზური ჰეპატოციტების რაოდენობას, რაც მეტყველებს ამ პრეპარატის პროაპოპტოზურ ეფექტზე. მაშინ, როცა დექსამეტაზონი ასეთ ეფექტს არ ავლენს.

IV თავი – საკუთარი შედეგების განხილვა

ვირუსული ჰეპატიტები ჰეპატოლოგიის უმნიშვნელოვანეს პრობლემას წარმოადგენს. ფართო გავრცელების, მძიმედ გართულებების, მაღალი ლეტალობისა და ქრონიზაციის გამო B (HBV) და C (HCV) ჰეპატიტებს განსაკუთრებული მნიშვნელობა ენიჭებათ. ყოველწლიურად B ჰეპატიტისგან 2 მლნ ადამიანი იღუპება. ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის მონაცემებით, 10-20 წელიწადში ქრონიკული C ჰეპატიტით გამოწვეული ღვიძლის ციროზითა და ჰეპატოციტულარული კიბოთი დაავადებულთა რიცხვი დაახლოებით 60-68%-ით მოიმატებს. მიუხედავად იმისა, რომ ვირუსული ჰეპატიტების პათოგენეზში უჯრედ-დამოკიდებული იმუნური პასუხი მნიშვნელოვან როლს თამაშობს, ფაქტორები რომლებიც ჰეპატიტების ქრონიზაციას განაპირობებს დღემდე უცნობია.

ცნობილია, რომ ორივე – ჰეპატიტი B და C - ვირუსი ჰეპატოტროპულია, თუმცა ისინი პირდაპირი ციტოპათიურობით არ გამოირჩევა (Lok et al., 2001; Liang et al., 2000). ეპიდემიოლოგიური კვლევების მიხედვით, HCV ვირუსით ინფიცირებულების 80-85%-ში ვერ ხერხდება ვირუსის სრული ელიმინაცია, რაც შემდგომში ქრონიკული ჰეპატიტის განვითარებას უწყობს ხელს (Liang et al., 2000; Lauer et al., 2001). ჰეპატოციტების ლიზის ორგანიზმის იმუნური პასუხის სიძლიერეზეა დამოკიდებული (Dudley et al., 1972). სავარაუდოა, რომ ამ მხრივ წამყვანი როლი ჰეპატოციტების აპოპტოზს ენიჭება. ღვიძლის მწვავე დაზიანებისას ჰეპატოციტების აპოპტოზის სიჭარბე ღვიძლის ფუნქციური უკმარისობისა და კომის საფუძველი ხდება (Gremion et al., 2004; Kountouras et al., 2003), მისი დეფიციტი კი ავთვისებიანი ტრანსფორმაციის, ვირუსული ლატენტური მიმდინარეობისა და აუტოიმუნური დაავადებების განვითარებას განაპირობებს (Solary et al., 1996). ინფიცირებული ჰეპატოციტების აპოპტოზის საშუალებით ორგანიზმი ვირუსული ინფექციის ბლოკირებასა და მისგან თავდაცვას ახერხებს. ვირუსული გენომი აკოდირებს ცილებს, რომლებიც აპოპტოზური პროცესის დათრგუნვას იწვევს და ამით თავს აღწევს იმუნური პასუხისგან. ასე მაგალითად HCV ვირუსის core პროტეინი აპოპტოზური პროცესის რეგულაციას ახდენს მისი გაძლიერების ან ინჰიბირების გზით.

ისეთი ფარმაკოლოგიური ნივთიერებების გამოვლენა, რომლებიც აპოპტოზის დათრგუნვას ან სტიმულაციას, აგრეთვე I ტიპის ციტოკინების პროდუქცია/აქტივობას არეგულირებენ და/ან II ტიპის ციტოკინების მოქმედებას ასტიმულირებენ, ღვიძლის იმუნური დაზიანების პროფილაქტიკისა და მკურნალობისათვის პოტენციურ კანდიდატებს წარმოადგენენ (Okamoto et al., 1998; Hershkoviz et al., 1999; Okamoto, Kanda 1999; Okamoto et al., 2000).

პლაფერონი ლბ ადამიანის პლაცენტიდან მიღებული პეპტიდების ნარეგია. მისი ეფექტი HBV ინფექციის მქონე პაციენტების HBs ანტიგენით სტიმულირებელი ლიმფოციტების პროლიფერაციულ აქტივობაზე დაავადების ფაზაზეა დამოკიდებული. დაავადების მწვავე ფაზაში იგი აღნიშნულ მახვენებელს თრგუნავს, ხოლო ქრონიკულ ფაზაში კი ზრდის. პლაფერონი ლბ გავლენას ახდენს ციტოკინების: ინტერლეიკინ-1-ის, ინტერფერონ გამას, სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორი-ალფასა და ინტერლეიკინ-4-ის სინთეზზე (Chikovani et al., 1999). ყოველივე ზემოთთქმულმა გვაფიქრებინა, რომ პლაფერონი ლბ ღვიძლის მსუბუქი იმუნური დაზიანების შემთხვევაში ეფექტური უნდა ყოფილიყო.

კონკანავალინ A-თი (Con A) გამოწვეული ღვიძლის დაზიანება აუტოიმუნური ჰეპატიტის ფართოდ გავრცელებულ ექსპერიმენტულ მოდელს წარმოადგენს (Tiegs et al., 1992; Louis et al., 1997; Kato et al., 2001). კონკანავალინ A-ს ზემოქმედებით ღვიძლში CD4⁺ T ლიმფოციტები გროვდება და FasL-ის ექსპრესია იზრდება, რომელიც, თავის მხრივ, ციტოტოქსიურობის განვითარებას განაპირობებს. გარდა ამისა, Con A-ინდუცირებული ჰეპატიტის განვითარებაში გადამწყვეტ როლს ასრულებენ TH1/TH2 ტიპის ციტოკინები, როგორებიცაა: ინტერლეიკინ 1 (IL-1), IL-12, IL-4, IL-10, (Ksontini et al., 1998; Tiegs et al, 1997; Gantner et al, 1995; Trautwein et al., 1998; Kimura et al., 1999). ღვიძლის მსუბუქი დაზიანების დროს აპოპტოზის როლის შესასწავლად Con A-ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის ექსპერიმენტული მოდელი გამოვიყენეთ. ამავე მოდელზე შევისწავლეთ აპოპტოზის მიმდინარეობაზე პრეპარატების – პლაფერონი ლბ-ს და დექსამეტაზონის – გავლენა.

Con-A-ს შეყვანიდან 1 სთ-ის შემდეგ თაგვების კუნთში შეგვეყვავდა პლაფერონი ლბ, ფიზიოლოგიური ხსნარი ან დექსამეტაზონი. დაკვირვებას ვახდენდით ექსპერიმენტის 3 ვადაზე: ჰეპატიტის ინდუცირებიდან 8, 24 და 48 საათის შემდეგ. აღნიშნულ ვადებზე აღებულ მასალას (ღვიძლი, სისხლი) ბიოქიმიური, იმუნოჰისტოქიმიური და იმუნოლოგიური მეთოდებით ვიკვლევდით.

როგორც გამოკვლევის შედეგების ანალიზმა ცხადყო, დაკვირვების I ვადაზე (8 სთ) ALT-ს დონე საკონტროლო თაგვების სისხლში მატულობს (დიაგრამა 1), რაც შეეხება დექსამეტაზონით და პლაფერონით ნამკურნალებ თაგვებს, მათ სისხლში ALT-ს დონე ორივე შემთხვევაში ერთნაირია და იგი საკონტროლო ჯგუფის ცხოველების ანალოგიურ მონაცემთან შედარებით სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ განსხვავდება.

დაკვირვების II ვადაზე (24 სთ) საკონტროლო და ნამკურნალები თაგვების სისხლში ALT-ს დონე მატულობს I ვადის შესაბამის მონაცემებთან შედარებით და ამასთან ერთმანეთისგან სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ განსხვავდება. დაკვირვების III ვადაზე (48 სთ) საკონტროლო თაგვების სისხლში ALT-ს დონის მატების ტენდენცია შენარჩუნებულია, დექსამეტაზონით ნამკურნალებ თაგვებში აღინიშნება კლების ტენდენცია, ხოლო პლაფერონი ლბ-ს ზემოქმედებით აღნიშნული მაჩვენებელი სტატისტიკურად სარწმუნოდ კლებულობს ($p < 0,01$).

აღნიშნულიდან გამომდინარე, პლაფერონი ლბ-ს სამკურნალო ეფექტი დექსამეტაზონთან შედარებით უფრო ძლიერადაა გამოხატული. აღნიშნული მონაცემები იმის სასარგებლოდ მეტყველებს, რომ დაკვირვების ბოლო ვადისათვის პლაფერონი ლბ ღვიძლის სტრუქტურის აღდგენით პროცესებს უნდა აჩქარებდეს.

ბიოქიმიური კვლევის შედეგები ღვიძლის მორფოლოგიურმა გამოკვლევამაც დაადასტურა. Con-A-ს ინექციიდან 8 სთ-ის შემდეგ თაგვების ღვიძლში მწვავე ანთებისათვის დამახასიათებელი მორფოლოგიური ცვლილებები აღინიშნება. ჰეპატოციტების დიდი ნაწილი ვაკუოლურ დისტროფიას განიცდის. ამასთან ერთად, ფოკალური ნეკროზის კერებიც გვხვდება. ნეკროზული ჰეპატოციტების ციტოპლაზმა მკვეთრად ეოზინოფილურია. ღვიძლის პარენქიმაში ლიმფოციტური რიგის უჯრედების

ინფილტრატები გვხვდება. ინფილტრაცია განსაკუთრებით ინტენსიურია პორტულ სივრცეებში.

დექსამეტაზონის ზემოქმედების შედეგად ექსპერიმენტის დაწყებიდან მერვე საათზე ჰეპატოციტების დიდი ნაწილი ვაკუოლურ დისტროფიას განიცდის, თუმცა წილაკების ძირითადი ტრაბეკულური სტრუქტურა შენარჩუნებულია. პორტული სივრცეების ლიმფოიდური ინფილტრაცია უმნიშვნელოა. “სლაჯ-ფენომენი” სუსტად არის გამოხატული. უმეტეს შემთხვევაში ერთროციტების კონტურები შენახულია. ექსპერიმენტის ამ ვადაზე Con-A-სთან ერთად პლაფერონი ლბ-ს შეყვანის შემთხვევაშიც ჰეპატოციტების დიდი უმრავლესობა ვაკუოლურ დისტროფიას განიცდის. ამასთანავე, აღსანიშნავია, რომ წილაკის ტრაბეკულური შენება შენარჩუნებულია. ასევე იშვიათი და უმნიშვნელოა ლიმფოიდური ინფილტრაციის უბნები.

Con-A-ს შეყვანიდან 24 სთ-ის შემდეგ საკონტროლო ჯგუფის ცხოველთა ღვიძლში ცვლილებები კვლავ ინტენსიურადაა გამოხატული. ჰეპატოციტების უმეტესობა ვაკუოლურ დისტროფიასა და ნეკროზულ ცვლილებებს განიცდის. დექსამეტაზონის ფონზე მნიშვნელოვნად მატულობს ორბირთვიანი ჰეპატოციტების რაოდენობა. ამავე დროს, აღინიშნება დესტრუქციული ცვლილებების გაღრმავება. პლაფერონი ლბ-ს გავლენით ჰეპატოციტების უმრავლესობა კვლავ დისტროფიულ ცვლილებებს განიცდის, მაგრამ ნეკროზული უბნები არ არის.

ექსპერიმენტის დაწყებიდან 48 სთ-ის შემდეგ საკონტროლო ჯგუფში ზოგიერთ არეში ღვიძლის ნორმალური ტრაბეკულური სტრუქტურა ვლინდება, რაც რეგენერაციული პროცესების გააქტიურებაზე მიუთითებს. ამავე ვადაზე ზოგიერთი ნორმალური ჰეპატოციტიც ჩნდება. დექსამეტაზონით მკურნალობის შემთხვევაში აღნიშნული სურათიდან მნიშვნელოვანი განსხვავება არ აღინიშნება. პლაფერონის გავლენით კი წილაკის ნორმული შენება ძირითადად აღდგენილია. ნეკროზული უბნები და ლიმფოიდური ინფილტრატები საერთოდ აღარ შეინიშნება.

ამგვარად, Con-A ინდუცირებული ჰეპატიტის დროს პლაფერონი ლბ და დექსამეტაზონი ღვიძლის ქსოვილს დრმა დესტრუქციული ცვლილებების განვითარებისაგან იცავს. აღსანიშნავია ასევე, რომ პლაფერონი ლბ

ქსოვილის სტრუქტურის აღდგენას აჩქარებს, რაც დექსამეტაზონის გამოყენების შემთხვევაში არ შეინიშნება..

როგორც უკვე აღვნიშნეთ, ორივე მედიკამენტი - პლაფერონი ლბ და დექსამეტაზონი - ღვიძლის ქსოვილს იმუნური დაზიანებისაგან იცავს. ცნობილია, რომ კორტიკოსტეროიდები აღნიშნულ ეფექტს ციტოკინების – ილ-1, ილ-2, ილ-6, გამა ინტერფერონისა და სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორი ალფას - გენების ექსპრესიის დათრგუნვის გზით ახორციელებენ. სავარაუდოა, რომ პლაფერონი ლბ-ს ეფექტიც მის მიერ ციტოკინების ბალანსის შეცვლით უნდა იყოს გამოწვეული (ჩიქოვანი, 1997), აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ იმუნომამოღულირებელი მოქმედების გარდა, პლაფერონი ლბ-ს გამოსატული ანტიოქსიდაციური და ანტიაპოპტოზური თვისებებიც აქვს (ს. ჭოჭუა, 2006; მ. გონგაძე, 2004). წინა კვლევებში ნაჩვენები იქნა პლაფერონი ლბ-ს ძლიერი ანტიაპოპტოზური თვისება მწვავე მძიმე ფორმის ჰეპატიტის მოდელებში და კლინიკურ გამოცდებში. კერძოდ, პლაფერონი ლბ აინჰიბირებს ჰეპატოციტების აპოპტოზს LPS-ით ინდუცირებულ მძიმე ჰეპატიტის ექსპერიმენტულ მოდელში. მეტრეველის მიერ ნაჩვენები იქნა, რომ მსუბუქი და საშუალო სიმძიმის მქონე პაციენტებში პლაფერონი ლბ-ს გამოყენება სრულ გამოჯანმრთელებას ახდენდა 96,9%-ში. უფრო მეტიც იგი მნიშვნელოვნად ამცირებდა დაავადების ქრონიზაციის შესაძლებლობას და ხელს უწყობდა პროტექტორული იმუნიტეტის ჩამოყალიბებას (მეტრეველი, 1999). ამ და სხვა კვლევების საფუძველზე ჩვენს მიერ შემოთავაზებული იქნა ჰიპოთეზა, რომ მსუბუქი ჰეპატიტების დროს პლაფერონის დამცველობითი თვისება მის პროაპოპტოზურ უნართან არის დაკავშირებული.

ცნობილია, რომ კასპაზების გააქტიურება აპოპტოზური პროცესის დამახასიათებელი ნიშანია. აპიკალური კასპაზების რეგულაცია შეიძლება გადამწყვეტი ფაქტორი იყოს ამ პროცესში. კასპაზა 8-ს თვითგააქტიურება იწვევს კასპაზა 3-ს პირდაპირ გააქტიურებასა და Bid-ს გახლეჩვას (Li et al., 1998).

ლიტერატურული მონაცემების მიხედვით, ღვიძლის იმუნოპათოლოგიის დროს ტრანსკრიფციული მექანიზმის ფუნქციური მდგომარეობა განსაზღვრავს იმას, თუ რომელი – კასპაზა-3-ს თუ ალტერნატიული – გზით წარიმართება აპოპტოზური პროცესები. Con-A-ინდუცირებული ჰეპატიტის დროს კასპაზა-3-ს

აქტიურობის შესახებ მონაცემები წინააღმდეგობრივია. კერძოდ, ერთ-ერთი კვლევის მიხედვით, კასპაზა-3-ს აქტიურობა მნიშვნელოვნად იზრდება (Ding et al, 2004). ხოლო სხვა გამოკვლევის მიხედვით, ის არ ვლინდება (Kunstle et al, 1999).

აქედან გამომდინარე, კვლევის შემდეგ ეტაპზე ჩვენს მიერ შესწავლილი იქნა კასპაზა-3-ს აქტიურობა *in vivo* Con-A-ს შეყვანის შემდეგ და მასზე იმუნომოდულატორების, კერძოდ, პლაფერონი ლბ-სა და დექსამეტაზონის გავლენა. მიღებული შედეგების თანახმად, ექსპერიმენტის I ვადაზე საკონტროლო ჯგუფის თაგვებში Con-A-ს შეყვანა კასპაზა-3-ს აქტიურობის მკვეთრ მატებას განაპირობებს და ფაქტიურად ექსპერიმენტის მაქსიმუმს აღწევს. ამის შემდეგ იგი თანდათან კლებულობს, თუმცა 48 სთ-ისთვის ნორმას მაინც ვერ უბრუნდება (დიაგ. 5).

პლაფერონი ლბ-ს შეყვანა ექსპერიმენტის I და II ვადაზე კასპაზა 3-ს აქტიურობაზე არ მოქმედებს და აღნიშნული მაჩვენებელი სარწმუნოდ არ განსხვავდება საკონტროლო ჯგუფისგან. საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით 48 სთ-ზე კასპაზა 3-ს აქტიურობა მნიშვნელოვნად მატულობს ($p<0,01$). მაშინ როცა, დექსამეტაზონის გამოყენება ექსპერიმენტის I ვადაზე თრგუნავს კასპაზა-3-ის აქტიურობას საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით, ხოლო ექსპერიმენტის შემდეგ ვადაზე აღნიშნული მაჩვენებელი საკონტროლო ჯგუფის ანალოგიური მაჩვენებლებისაგან აღარ განსხვავდება.

კასპაზა 3-ს გარდა, შესწავლილი იქნა კასპაზა 8-ს აქტიურობაც. კასპაზა 8-ს აქტიურობის ცვლილებები კასპაზა 3-ს მსგავსი აღმოჩნდა. კერძოდ, Con-A-ს შეყვანიდან 8 საათის შემდეგ მისი აქტიურობის მკვეთრი მატება შეიმჩნევა. 24 და 48 სთ-ისთვის კი კასპაზა 8-ს მაჩვენებელი კლებულობს, თუმცა ნორმას მაინც ვერ უბრუნდება (დიაგ. 6).

პლაფერონი ლბ-ს გამოყენების შემთხვევაში ექსპერიმენტის I და II ვადაზე კასპაზა 8-ს აქტიურობა კიდევ უფრო იზრდება, თუმცა იგი სარწმუნოდ არ განსხვავდება საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებლისგან. 48 სთ-ზე კი საკვლევე ჯგუფთან შედარებით კასპაზა 8-ის აქტიურობა სტატისტიკურად სარწმუნოდ მატულობს ($p<0,01$). ჩვენს მიერ მიღებული შედეგების ანალიზი ცხადყოფს, რომ იმუნოსუპრესანტი დექსამეტაზონი კასპაზა 8-ს აქტიურობაზე გავლენას არ ახდენს. დექსამეტაზონის გავლენით

კასპაზების ინჰიბირების ტენდენცია ვლინდება ექსპერიმენტის პირველ ვადაზე, თუმცა ის სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ განსხვავდება ჯანმრთელი თაგვების ანალოგიური მაჩვენებლებისაგან (დიაგ. 6).

პლაფერონი ლბ კი პროაპოპტოზურ თვისებას ავლენს, რაც მსუბუქი ჰეპატიტის რეგენერაციის ფაზაში კასპაზა 3-სა და კასპაზა 8-ს აქტიურობის მნიშვნელოვან მატებაში გამოიხატება.

ღვიძლში მიმდინარე აპოპტოზური პროცესების შესასწავლად დამატებით გამოყენებულ იქნა TUNEL-ის მეთოდი. მიღებული შედეგების საფუძველზე დადგინდა, რომ ექსპერიმენტული მსუბუქი ჰეპატიტის მოდელში პლაფერონი ლბ-ს გამოყენება 48 სთ-ზე სარწმუნოდ ზრდის აპოპტოზური ჰეპატოციტების რაოდენობას, თუმცა იგი არ მოქმედებს ექსპერიმენტის სხვა ვადებზე. აღსანიშნავია ის ფაქტი, რომ იმუნომოდულატორი დექსამეტაზონი ასეთ ეფექტს არ ავლენს (ცხრილი 1).

უახლესი მონაცემებით Con-A-ს მცირე დოზების გამოყენებისას 48 საათზე ხდება ბუნებრივი T კილელების რაოდენობის აღდგენა, რომელიც აუცილებელია ღვიძლის ნორმალური რეგენერაციისთვის. შესაძლებელია ვივარაუდოთ, რომ პლაფერონი ლბ ხელს უწყობს დაზიანებული უჯრედების აპოპტოზური გზით მოცილებას და რთავს ისეთ მექანიზმებს, რომლებიც იმავდროულად ჰეპატოციტების პროლიფერაციას აძლიერებენ.

ცნობილია, რომ ჭარბ აპოპტოზს ადგილი აქვს მწვავე და ქრონიკული ვირუსული ჰეპატიტის, ალკოჰოლური და არაალკოჰოლური ჰეპატიტის, ღვიძლის ქოლესტატური დაავადების, ვილსონის დაავადებისა და “ტრანსპლანტანტი მასპინძლის წინააღმდეგ დაავადების” (GVHD) დროს. მეორე მხრივ, აპოპტოზის დეფიციტი ასოცირებულია ღვიძლში და სანადგლე სისტემაში სიმსივნის განვითარებასა და პროგრესირებასთან. უფრო მეტიც, ინტერფერონის ანტივირუსული ეფექტი განპირობებულია აპოპტოზის გამოწვევით (Castelli et al, 1997).

ჩვენი კვლევის შედეგები გვაფიქრებინებს, რომ პლაფერონი ლბ-ს გამოყენება შესაძლებელია ღვიძლის სხვადასხვა ურთიერთსაწინააღმდეგო მექანიზმით მიმდინარე დაზიანების დროს. როგორცაა მწვავე ვირუსული ჰეპატიტი და სიმსივნეები. როგორც ჩანს, პლაფერონი ლბ აპოპტოზური პროცესის მოდულირებას დაავადების ფორმისა და სიმძიმის მიხედვით

ახდენს. ღვიძლის მძიმე დაზიანების პირობებში ის ანტიაპოპტოზურ ეფექტს ავლენს (სტოტუა და თანაავტ., 2006), ხოლო სუსტი იმუნური პასუხით განპირობებული ღვიძლის დაზიანების შემთხვევაში კი – პროაპოპტოზურს.

ამდენად, შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ პლაფერონი ღბ აპოპტოზის პროცესის მოდულატორია.

ვინაიდან იმუნური სისტემის ფუნქციონირება უჯრედთაშორისი კომუნიკაციებით განისაზღვრება, იგი ოქსიდაციური სტრესისადმი განსაკუთრებით მგრძობიარეა. უჯრედული კომპონენტების, უპირატესად, ცილების, ლიპიდებისა და დნმ-ის ენდოგენური ოქსიდაციური დაზიანება მრავალი ქრონიკული დაავადების პათოგენეზში მონაწილეობს. ზოგიერთი პათოლოგიური პროცესის, მათ შორის, ჰეპატიტების დროს, კავშირი დაქვეითებულ ანტიოქსიდაციურ სტატუსს, ოქსიდაციურ სტრესსა და ავადმყოფთა კლინიკურ მდგომარეობას შორის დადასტურებულია. თუმცა, რა როლს ასრულებს ოქსიდაციური სტრესი დაავადების განვითარებასა და მის პროგრესში, დღემდე უცნობია.

ცნობილია, რომ ოქსიდაციური სტრესის მიმართ განსაკუთრებით მგრძობიარეა აპოპტოზის გამშვები ფერმენტები კასპაზები. ზოგადად მიღებულია, რომ მრავალ უჯრედში რეაქტიული ჟანგბადის სახეობების (ROS) მცირე კონცენტრაციები აპოპტოზის ინიციირებას იწვევს, მათი ზეჭარბი რაოდენობა კი - ნეკროზულ ცვლილებებს განაპირობებს. კრიტიკული ცისტეინები სხვადასხვა რედოქს პოტენციალით ხასიათდებიან, ამიტომ ოქსიდანტების მცირე დოზა ზოგიერთ ცილაში თიოლის დაჟანგვას იწვევს, სხვა ცილებზე კი არ მოქმედებს.

ამრიგად, ოქსიდანტების მცირე კონცენტრაცია აპოპტოზის განვითარებას იმ რედოქს სტატუსის ცვლილებებით განაპირობებს, რომლებიც ხორციელდება ისეთი პროაპოპტოზური ფაქტორების გააქტივებით, როგორცაა “c-Jun ამინოტერმინალური კინაზის”. იმავდროულად ხდება NF-kB-ის ინჰიბირება, ისე რომ არ იცვლება პროაპოპტოზური კასპაზების რედოქს სტატუსი. ოქსიდანტების მაღალი დონე უფრო მეტად ნეკროზის განვითარებას განაპირობებს. ისინი აინჰიბირებენ კასპაზებს, რომლებიც საჭიროა აპოპტოზის განსახორციელებლად, და განაპირობებენ უჯრედების ნეკროზულ დაღუპვას (Halliwell et al., 1990; Dypbukt et al., 1994). რედოქს სტატუსის ძლიერი

ცვლილებები, რაც განპირობებულია წყალბადის პეროქსიდის რაოდენობის მატებით და გლუტათიონის შემცირებით პირველად კულტურაში ჰეპატოციტების ნეკროზს იწვევს. მაშინ, როცა ზომიერი რედოქს ცვლილებები არ ახდენს გავლენას აპოპტოზზე. მიუხედავად ამისა, ოქსიდანტებისა და გლუტათიონის ცვლილებები არეგულირებს TNF-ისა და Fas-ით განპირობებულ აპოპტოზს. უფრო მეტიც, ნაჩვენებია, რომ ხანგრძლივი ან ჭარბი ოქსიდაციური სტრესი კასპაზების აქტიურობის დათრგუნვასა და შესაბამისად აპოპტოზის ბლოკირებას ახდენს (Hampton et al., 1998).

იმის გასარკვევად, თუ რა კავშირია მსუბუქი ჰეპატიტის დროს ჰეპატოციტების აპოპტოზისა და რედოქს-პოტენციალის ცვლილებებს შორის, ამასთანავე, იმის დასადგენად, თუ რამდენადაა განპირობებული პლაფერონი ლბ-ს პროკასპაზური აქტიურობა მისი ანტიოქსიდაციური უნარით, ექსპერიმენტულ ცხოველთა სისხლში შევისწავლეთ აზოტის ოქსიდისა და გლუტათიონ რედუქტაზას დონეების ცვლილება, აგრეთვე ჰეპატოციტების მიტოქონდრიული აქტიურობა.

სხვადასხვა ორგანოში მიმდინარე მეტაბოლური დარღვევები საბოლოო ჯამში სისხლში განვითარებული ცვლილებებით აისახება, რის გამოც ცოცხალ ორგანიზმში მიმდინარე მეტაბოლური პროცესების შესასწავლად სისხლი ყველაზე ხელსაყრელ ობიექტს წარმოადგენს.

ჩვენს მიერ მიღებული მონაცემების ანალიზმა ცხადყო, რომ Con-A-ს ინექციიდან 8 საათის შემდეგ ცხოველთა შრატში აზოტის ოქსიდის შემცველობა სტატისტიკურად სარწმუნოდ იმატებს და ექსპერიმენტის ბოლომდე ამავე დონეზე რჩება.

Con-A ინდუცირებული ჰეპატიტის დროს დექსამეტაზონის გამოყენება სისხლში აზოტის ოქსიდის რაოდენობაზე არ მოქმედებს. აქედან გამომდინარე, იგი ანტიოქსიდაციური უნარის შენარჩუნებას და ლიპიდების ზეუპნგური ჟანგვის პროცესების შესუსტებას ვერ უზრუნველყოფს.

აღსანიშნავია, რომ პლაფერონი ლბ ექსპერიმენტის II ვადაზე აზოტის ოქსიდის კონცენტრაციას სტატისტიკურად სარწმუნოდ თრგუნავს ($p < 0,01$). ექსპერიმენტის მესამე ვადაზე კი პლაფერონი ლბ საპირისპირო ეფექტს ავლენს - სარწმუნოდ ზრდის აზოტის ოქსიდის რაოდენობას (დიაგრამა 2). ექსპერიმენტის ეს ვადა ღვიძლის ქსოვილის რეგენერაციის ფაზას ემთხვევა.

ცნობილია, რომ აზოტის ოქსიდი აპოპტოზური პროცესის რეგულაციაში მონაწილეობს. იგი ავლენს როგორც ანტი-, ისე პროაპოპტოზურ მოქმედებას. მისი ანტიაპოპტოზური მოქმედება ხორციელდება ორი ძირითადი მექანიზმით: ციკლურ გუანოზინმონოფოსფატზე დამოკიდებული და დამოუკიდებელი. ციკლური გუანოზინმონოფოსფატის პროდუცირების სტიმულირებით NO იწვევს ხსნადი გუანილილციკლაზას აქტივაციას, რაც უჯრედებს შემდგომი აპოპტოზისაგან იცავს (Kim et al., 1997). ეს მექანიზმი ნაკლებადაა შესწავლილი. მეორე, ციკლურ გუანოზინმონოფოსფატზე დამოუკიდებელი მექანიზმი, მოიცავს ლიპიდების ზეჟანგვის ინჰიბირებას, პეროქსიდ რადიკალის ჩაჭერას, Bcl-2-ის გახლეჩვისა და ციტოქრომ C-ს გამოთავისუფლების შემცირებას (Kim et al., 1998) და ისეთი ცილების ინდუქციას, როგორებიცაა Hsp70 და Bcl-2 (Mosser et al., 1997; Genaro et al., 1995). გარდა ამისა, დამცველობით ეფექტს ავლენს ცილების S-ნიტროზილირებით. p50-ისა და p65-ის 62-ე ცისტეინის S-ნიტროზილირებით NO-ს ძალუძს NF-κB-ს აქტივაციის ინჰიბირება. NO-ს დონორები აინჰიბირებენ TNFα-ს მიერ NF-κB-ს აქტივაციას, რაც IκB-α-ს სტაბილიზაციითა და მისი გენის ექსპრესიის მატებით არის გამოწვეული. კასპაზები ცისტეინის მაღალი შემცველობის გამო S-ნიტროზილირებისათვის იდეალურ სამიზნეებს წარმოადგენენ.

საინტერესოა NO-ს ზემოქმედება NF-κB-ს რეგულაციასა და ანთეზაზე. მართალია, მისი მოქმედების მექანიზმი ბოლომდე არ არის გარკვეული, თუმცა დადასტურებულია მისი როგორც პოზიტიური, ასევე ნეგატიური გავლენა აღნიშნული ტრანსკრიფციული ფაქტორის რეგულაციაზე. ეს მოქმედება დამოკიდებულია აზოტის ოქსიდის კონცენტრაციაზე, რედოქს სტატუსზე, სტიმულსა და უჯრედის ტიპზე (Kim et al., 1997).

ენდოთელიური NOS-ისა და/ან ნეირონული NOS-ის მიერ მცირე რაოდენობით ენდოგენურად წარმოებულ NO-ს შეუძლია გადამწყვეტი როლი ითამაშოს სხვადასხვა სტიმულის დროს NF-κB-ის აქტივაციის მოდულაციაში.

in vitro და *in vivo* პირობებში ნაჩვენებია იქნა, რომ iNOS აფერხებს TNF ან Fas-ით ინდუცირებულ აპოპტოზს (Bogdan et al., 2001). უფრო მეტიც, *in vivo* iNOS დეფიციტურ თაგვებში ინჰიბირდებოდა ღვიძლის რეგენერაცია. გარდა ამისა,

ნაჩვენები იქნა (Sass et al., 2001), რომ Con-A-ინდუცირებული ღვიძლის დაზიანების დროს ღვიძლის ქსოვილში არ წარმოიქმნება 3-ნიტროთიროზინი, აზოტის ოქსიდის მიერ ქსოვილის დაზიანების მარკერი. სასმა და კოლეგებმა (Sass et al., 2001) დაადგინეს, რომ ჰეპატოციტებში ინდუციბელური აზოტის ოქსიდის ექსპრესია განაპირობებს უჯრედების ნაწილობრივ დაცვას.

ჩვენს მიერ მიღებული შედეგების თანახმად პლაფერონი ლბ ახდენს აზოტის ოქსიდის რაოდენობის მოდულირებას. კერძოდ, 24 საათზე პრეპარატი ამცირებს მის რაოდენობას ($p < 0,01$) და ამით ხელს უშლის მისი დამანგრეველი მოქმედების გავრცელებას. შედგომში კი, 48 საათისთვის იგი ახდენს ინდუციბელური აზოტის ოქსიდის რაოდენობის მატებას ზღვრულ დონემდე ($p < 0,01$), რითაც აჩქარებს პროლიფერაციულ პროცესებს.

რეაქტიული ჟანგბადის სახეობების უჯრედშიდა კონცენტრაცია მკაცრად კონტროლდება დაცვის მრავალრიცხოვანი მექანიზმებით, მათ შორის, ROS-ის სკავენჯერი ფერმენტებისა და პატარა ანტიოქსიდანტი მოლეკულების მიერ. ამ ანტიოქსიდაციური სისტემებიდან აღსანიშნავია გლუტათიონი და ფერმენტები, რომლებიც ოქსიდაციური დაზიანებისაგან დამცავ ფაქტორებს წარმოადგენენ როგორც ცირკულაციაში, ისე სხვადასხვა ქსოვილში, მათ შორის, ღვიძლში (Schwabe et al., 2006).

GSH-ის საერთო უჯრედშიდა კონცენტრაცია მნიშვნელოვნად ცვალებადობს, განსაკუთრებით, ღვიძლში. ღვიძლის GSH შეიძლება დრამატულად შემცირდეს წამლის მეტაბოლიზმის შედეგად, ოქსიდაციური სტრესის შემდეგ ან GSH-ის სინთეზში თანდაყოლილი დეფექტების გამო; GSH-ის დაბალი კონცენტრაციები გამოვლენილია სეფსისის, აცეტამინოფენური ინტოქსიკაციის, ალკოჰოლის ქრონიკული მოხმარებისა და ვილსონის მწვავე დაავადების დროს (Uhlir et al., 1992). უფრო მეტიც, ღვიძლის GSH ცირკადულ ცვალებადობას განიცდის. ღვიძლის GSH-ის რაოდენობის ფარმაკოლოგიური გაზრდა ღვიძლს ნაკლებმგრძობიარეს ხდის და იცავს მრავალი პირდაპირი ჰეპატოტოქსინის ზემოქმედებისგან (Prescott, 1982). კვლევების მზარდი რაოდენობა მიუთითებს იმაზე, რომ GSH-ს უჯრედის დაზიანებაში ორმაგი როლი გააჩნია.

ნაჩვენებია, რომ უჯრედის სიკვდილის ზოგიერთ მოდელში, სადაც აპოპტოზი ძირითად მოვლენას წარმოადგენს, GSH-ის შემცირება დამცავ (ე.ი. ანტი-აპოპტოზურ) - და არა დამამძიმებელ - ეფექტს ქმნის. დღეისათვის ცნობილია, რომ მაკროფაგების NO-ინდუცირებული აპოპტოზი, T უჯრედების Fas-ით განპირობებული აპოპტოზი და ჰეპატოციტების ციტოკინ-გამოწვეული აპოპტოზი *in vivo* დამოკიდებულია შესაბამისი უჯრედების უჯრედშიდა GSH-ის კონცენტრაციების საკმარის კონცენტრაციაზე (Hentze et al., 2000). წამოყენებული იყო ჰიპოთეზა, რომ აპოპტოზის განმახორციელებელი კასპაზების რედოქს მგრძობიარობა პასუხისმგებელია გამოვლენილ დამცველობით ეფექტზე, რადგან GSH-ის კონცენტრაციები შემცირებული იყო. თუმცა, GSH-ის გაზრდილ უჯრედშიდა კონცენტრაციებს სხვადასხვა უჯრედულ ხაზში აპოპტოზის გაძლიერებაც შეუძლიათ (Uhlig et al., 1992). რაც შეეხება *in vivo* კვლევებს, GSH-ის შემცირებით გამოწვეული დამცველობითი ეფექტი ნაჩვენებია დეიდლის აპოპტოზური კასპაზ-დამოკიდებული დაზიანების მოდელებში (Hentze et al., 1999).

კვლევის შემდეგ ეტაპზე მსუბუქი ჰეპატიტის ექსპერიმენტულ მოდელში შევისწავლეთ გლუტათიონ რედუქტაზას ცვლილება ცხოველთა შრატში. როგორც მიღებული შედეგების ანალიზმა ცხადყო, Con-A-ს ინექციიდან 8 სთ-ის შემდეგ გლუტათიონ რედუქტაზას აქტიურობა სტატისტიკურად სარწმუნოდ იმატებს ($p < 0,01$), 24 სთ-სთვის იგი მცირდება, თუმცა საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით ისევ მომატებულია. 48სთ-სთვის გლუტათიონ რედუქტაზას აქტიურობა ნორმას უბრუნდება.

პლაფერონი ლბ-ს შეყვანა სტატისტიკურად სარწმუნოდ ამცირებს საკვლევ ჯგუფთან შედარებით გლუტათიონ რედუქტაზას რაოდენობას ($p < 0,01$). პლაფერონი ლბ მთელი ექსპერიმენტის განმავლობაში გლუტათიონ რედუქტაზას კონცენტრაციას გარკვეულ დონეზე ინარჩუნებს, მაგრამ ნორმულ მაჩვენებელამდე მის დაყვანას არ ახორციელებს (დიაგრამა 3), რაც მომატებული პროლიფერაციის პერიოდში საჭიროა მიტოქონდრიული ფუნქციის შესასრულებლად.

პლაფერონი ლბ-ს მსგავსად, დექსამეტაზონიც გლუტათიონ რედუქტაზას მაღალი აქტიურობის შენარჩუნებას უზრუნველყოფს.

აღსანიშნავია, რომ Con-A-ს ინექციიდან 8 სთ-ის შემდეგ პლაფერონი ლბ-ს გავლენით გლუტათიონ რედუქტაზას აქტიურობა მნიშვნელოვნად მცირე ვიდრე დექსამეტაზონის გამოყენების შემთხვევაში ($p < 0,01$).

ჩვენ მიერ გამოვლენილი მონაცემები შეესაბამება სხვა კვლევის შედეგებს, რომლის მიხედვითაც, ციროზსა და ჰეპატოციტულ კარცინომაში საკონტროლო ქსოვილთან შედარებით გლუტათიონ რედუქტაზას აქტიურობა გაზრდილია (Czeczot et al., 2006). უჯრედის დონეზე GSH-ის ჰომეოსტაზი უზრუნველყოფილია ბიოსინთეზს, მოხმარებას, ოქსიდაციასა და ექსპორტს შორის ბალანსით. ჰომეოსტაზის დარღვევამ კი შეიძლება იმოქმედოს ღვიძლის უნარზე უზრუნველყოს ოქსიდაციური დაზიანებისგან დაცვა (Fernandez-Checa et al., 1997).

კვლევის ბოლო ეტაპზე მსუბუქი ჰეპატიტის ექსპერიმენტულ მოდელში შევისწავლეთ ჰეპატოციტების მიტოქონდრიული აქტიურობა MTT ტესტის საშუალებით. ინტაქტური თაგვების ჰეპატოციტების სპონტანური სტიმულაციის ინდექსი (სი) $1,14 \pm 0,2$ უდრიდა. Con A-თი გამოწვეული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს 24 საათისათვის ეს მაჩვენებელი $1,5 \pm 0,3$ -ის (საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით $p < 0,05$), ხოლო 48 საათისათვის კი – $1,16 \pm 0,11$ -ის ტოლი იყო.

პლაფერონი ლბ-ს გავლენით Con A-ინდუცირებიდან 24 საათის შემდეგ მიღებული სიდიდე არ განსხვავდება საკვლევი ჯგუფის მაჩვენებლისგან, თუმცა 48 საათზე ის მატულობს ($2,06 \pm 0,12$) და სტატისტიკურად სარწმუნოდ აღემატება ინტაქტური თაგვების ანალოგიურ მაჩვენებელს ($p < 0,01$). აღსანიშნავია ის ფაქტი, რომ დექსამეტაზონის შემთხვევაში მიტოქონდრიული სუნთქვა დათრგუნულია 48 საათზე (დიაგრამა 4).

ამრიგად, მიღებული შედეგები იმის სასარგებლოდ მეტყველებს, რომ პლაფერონი ლბ მიტოქონდრიულ ფუნქციას აძლიერებს და ჰეპატოციტების პროლიფერაციას აჩქარებს, რითაც ღვიძლში რეგენერაციული პროცესების სტიმულირებას ახდენს.

დასკვნები

1. სუსტი იმუნური პასუხით განპირობებული ჰეპატიტის დროს კასპაზებით გაშუალებული აპოპტოზის ინტენსივობა იზრდება.
2. Con-A ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს პლაფერონი ლბ-ს გამოყენება ღვიძლის ქსოვილის რეგენერაციის ფაზაში ჰეპატოციტებში კასპაზების (3 და 8) აქტიურობას აძლიერებს.
3. სუსტი იმუნური პასუხით განპირობებული ჰეპატიტის ექსპერიმენტულ მოდელში იმუნომოდულატორი პლაფერონი ლბ აძლიერებს ჰეპატოციტების აპოპტოზს და შესაბამისად იმუნური პასუხის ეფექტს, რითაც მცირდება პროცესის ქრონიზაციის შესაძლებლობა.
4. Con-A ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს პლაფერონი ლბ ღვიძლის ქსოვილის ნორმალური სტრუქტურის აღდგენას აჩქარებს.
5. Con-A ინდუცირებული მსუბუქი ჰეპატიტის დროს პლაფერონი ლბ სისხლში აზოტის ოქსიდის შემცველობას არეგულირებს: ღვიძლის მაქსიმალური დესტრუქციის ფაზაში მას სტატისტიკურად სარწმუნოდ აქვეითებს, ხოლო რეგენერაციის ფაზაში – ზრდის.
6. ღვიძლის მსუბუქი იმუნური დაზიანების ექსპერიმენტულ მოდელში პლაფერონი ლბ ოქსიდაციური სტრესის განვითარებას აფერხებს.
7. პლაფერონი ლბ-ს გავლენით ჰეპატოციტების აპოპტოზის გაძლიერება და ამავედროულად მათი პროლიფერაციული აქტიურობის მატება ღვიძლში რეგენერაციული პროცესების სტიმულაციას განაპირობებს.

პრაქტიკული რეკომენდაციები

1. სუსტი იმუნური პასუხით მიმდინარე ინფექციების დროს (B და C ჰეპატიტის მსუბუქი ფორმები) სამკურნალოდ რეკომენდებულია პლაფერონი ლბ-ს ან პროაპოპტოზური თვისების მქონე სხვა იმუნომოდულატორის გამოყენება.
2. პლაფერონი ლბ-ს მოქმედების მექანიზმის უფრო ღრმად შესასწავლად მიზანშეწონილია პროანთებითი და ანთებისსაწინააღმდეგო ციტოკინების ბალანსზე მისი ზემოქმედების კვლევა Con-A ინდუცირებული ჰეპატიტისა და აუტოიმუნურ დაავადებათა სხვა ექსპერიმენტულ მოდელებში.
3. პლაფერონი ლბ-ში შემავალი იმუნომამოდულირებელი პოტენციალის მქონე ფრაქციის იდენტიფიკაცია მიზანშეწონილია Con-A ინდუცირებული ჰეპატიტის მოდელზე.

ლიტერატურის სია

1. ბარქაია კ. ღვიძლის მწვავე უკმარისობის სამკურნალოდ პლაფერონის გამოყენების ექსპერიმენტული დასაბუთება. ავტორეფერატი, მედ. მეცნ. დოქტ. სამეცნ. ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 2005.
2. გაგუა მ. ეუკარიოტული უჯრედების ბირთვების ტრანსკრიპციულ აქტიურობაზე პლაფერონ-ლბ-ს მოქმედების შესწავლა. ავტორეფერატი, მედ. მეცნ. კანდ. სამეცნ. ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 1999.
3. გონგაძე მ. პლაფერონ ლბ-ს როლი ოქსიდაციური სტრესის რეგულირებასა და ამ სტრესით განპირობებულ აპოპტოზში. დისერტაცია, მედ. მეცნ. კანდ. სამეცნ. ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 2004.
4. მეტრეველი დ. მ. პლაფერონი ლბ-ს გავლენა მსუბუქი და საშუალო სიმძიმის მწვავე B ჰეპატიტის კლინიკურ მიმდინარეობასა და ლაბორატორიულ მაჩვენებლებზე მოზრდილებში. დისერტაცია, მედ. მეცნ. კანდ. სამეცნ. ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 1999.
5. პავლიაშვილი დ. რ. პლაფერონ ლბ-ს პერორალური გამოყენება მწვავე B ჰეპატიტის მკურნალობის პროცესში. დისერტაცია, მედ. მეცნ. კანდ. სამეცნ. ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 1999.
6. რუხაძე რ. გ. ფარისებრი ჯირკვლისა და ზოგიერთი ორგანოს სტრუქტურულ-ფუნქციური თავისებურებანი ჰიპერ-, ეუ და ჰიპოთირეოზის დროს. დისერტაცია, მედ. მეცნ. დოქტ. სამეცნ. ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 1999.
7. ფაშალაშვილი მ. პრეპარატ პლაფერონ ლბ-ს მოქმედება მწვავე ჰეპატიტის დროს ზოგიერთ კლინიკო-ბიოქიმიურ მაჩვენებლებზე, უჯრედულ იმუნიტეტსა და HBV მარკერების ელიმინაციაზე. ავტორეფერატი, მედ. მეცნ. კანდ. სამეცნ. ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 1995.
8. შარაშენიძე თ. პლაფერონ ლბ-ს გავლენა ღვიძლსა და იმუნური სისტემის ორგანოებზე კონკანავალინ A-თი გამოწვეული ჰეპატიტის

- ექსპერიმენტულ მოდელში. ავტორეფერატი, მედ. მეცნ. კანდ. სამეცნ. ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 2003.
9. ჩიქოვანი თ. პლაფერონი ლბ-ს იმუნოფარმაკოლოგია. ავტორეფერატი, მედ. მეცნ. დოქტ. სამეცნ. ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 1997.
 10. ჭავჭავანიძე დ. თირკმლისა და შარდსაწვეთის კენჭების ექსტრაკორპორალური ლითოტრიპსია. ავტორეფერატი, მედ. მეცნ. დოქტ. სამეცნ. ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 1999.
 11. Adams DH, Hubseher SG, Sbow J et al. Intercellular adhesion molecule 1 on liver during rejection. *Lancet* 1989; ii; 1122.
 12. Aggarwal BB. Comparative analysis of the structure and function of TNF-alpha and TNF- beta. *Immunol Ser* 1992; 56:61-78.
 13. Albright CD, Liu R, Mar MH. et al. Diet, Apoptosis, and Carcinogenesis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1997; 422:97-107.
 14. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C in the West. *Semin. Liver Dis.* 1995; 15:5.
 15. Amaro MJ, Bartolome J, Carreno V. Hepatitis B virus X protein transactivates the inducible nitric oxide synthase promotor. *Hepatology* 1999 Mar; 29(3) : 915-23.
 16. Ando K, Hiroishi K, Kaneko T et al. Perforin, Fas/Fas ligand, and TNF-alpha pathways as specific and bystander killing mechanisms of hepatitis C virus-specific human CTL. *J Immunol* 1997; 158: 5283-5291.
 17. Bajt, ML, Vonderfecht SL, Jaeschke H. Differential protection with inhibitors of caspase-8 and caspase-3 in murine models of tumor necrosis factor and Fas receptor-mediated hepatocellular apoptosis. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 2001; 175, 243–252.
 18. Bertoletti A, Ferrari C. Kinetics of the immune response during HBV and HCV infection. *Hepatology* 2003; 38: 4-13.
 19. Blom M, Hans J, De Bont G et al. Interleukin-2-Activated Natural Killer Cells Can Induce Both Apoptosis and Necrosis in Rat Hepatocytes. *Hepatology* 1999 Mar; 29(3): 785-792.

20. Bogdan C. The function of nitric oxide in the immune system. In *Handbook of Experimental Pharmacology: Nitric Oxide*. Edited by Mayer B. Heidelberg: Springer; 2000; 443-493.
21. Bresters D, Cuyper HTM, Reesink HN et al. Comparison of quantitative cDNA-PCR with the branched DNA hybridization assay for monitoring plasma hepatitis C virus RNA levels in haemophilia patients participating in a controlled interferon trial. *J. Med. Virol.* 1994; 43:262.
22. Castelli J, Hassel B, Wood K, Li X, Amemiya K, Dalakas M., Torrence P, Youle R. A study of the interferon antiviral mechanism: apoptosis activation by the 2-5A system. *J Exp Med.* 1997 Sep 15; 186(6):967-72.
23. Chikovani TI, Rukhadze RG, Pantsulaia IJ, Sanikidze TV, Bakhtashvili VI. Antioxidant action of immunomodulatory drug Plaferon-LB in experimental thyroid pathology // *Inter. J. Immunoreh.* 1999; N12S, P. 14-19.
24. Chinnaiyan AM, O'Rourke K, Tewari M, Dixit VM. FADD, a novel death domain-containing protein, interacts with the death domain of Fas and initiates apoptosis. *Cell* 1995; 81:505-512.
25. Cohen GM. Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem J* 1997;326:1-16.
26. Coleman ML, Sahai EA, Yeo M, Bosch M, Dewar A, Olson MF. Membrane blebbing during apoptosis results from caspase-mediated activation of ROCK I. *Nat Cell Biol* 2001; 3:339-345.
27. Czczot H, Scibior S, Skrzycki M, Podsiad M. Glutathione and GSH-dependent enzymes in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Acta Biochim Pol.* 2006; 53(1):237-42. Epub 2006 Jan 9.
28. Deveraux QL, Reed JC. IAP family proteins--suppressors of apoptosis. *Genes Dev* 1999; 13:239-252.
29. Ding JW, Wang K, Brems JJ, Gamelli RL. Protection against concanavalin A-induced hepatocyte apoptosis by molsidomine is time-dependent. *J Am Coll Surg.* 2004 Jan; 198(1):67-77.
30. Dobashi K, Pahan K, Chahal. A, and Singh I. *J. Neurochem* 1997; 68, 1806-1903.

31. Du C, Fang M, Li Y, Li L, Wang X.. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell* 2000; 102:33-42.
32. Duan H, Dixit VM. RAIDD is a new 'death' adaptor molecule. *Nature* 1997; 385:86-89.
33. Dudley FJ, Giustino V, Sherlock S. Cell-mediated immunity in patients positive for hepatitis-associated antigen. *Br Med J.* 1972 Dec 30; 4(843):754-6.
34. Dypbukt JM, Ankarcrona M, Burkitt M, Sjöholm A, Strom K, Orrenius S, Nicotera P. Different prooxidant levels stimulate growth, trigger apoptosis, or produce necrosis of insulin-secreting RINm5F cells – The role of intracellular polyamines; *J. Biol. Chem.* 199; 269:30553–30560.
35. Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH. Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annu Rev Biochem* 1999; 68:383-424.
36. Eichhorst ST, Müller M., Li-Weber M., Schulze-Bergkamen H, Angel P, Krammer PH. A Novel AP-1 Element in the CD95 Ligand Promoter is Required for Induction of Apoptosis in Hepatocellular Carcinoma Cells upon Treatment with Anticancer Drugs. *Mol. Cell. Biol.* 2000; 20:7826-7837.
37. Enari M, Sakahira H, Yokoyama H, Okawa K, Iwamatsu A, Nagata S. A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. *Nature* 1997; 391:43-50.
38. Farinati F, Cardin R, D'Errico A et al. Hepatocyte proliferative activity in chronic liver damage as assessed by the monoclonal antibody MIB1 Ki67 in archival material: the role of etiology, disease activity, iron and lipid peroxidation. *Hepatology* 1996 Jun; 23(6):1468-75.
39. Farinati F, Cardin R, Fiorentino M et al. Imbalance between cytoproliferation and apoptosis in hepatitis C virus related chronic liver disease. *J Viral Hepat* 2001 Jan; 8(1):34-40.
40. Fernandez-Checa JC, Kaplowitz N, Garcia-Ruiz C, Colell A, Mari M, Miranda M, Ardite E, Morales A. GSH transport in mitochondria: defense against TNF-induced

- oxidative stress and alcohol-induced defect. *Am J Physiol.* 1997 Jul; 273(1 Pt 1):G7-17. Review.
41. Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR., Howard M, O'Garra A. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *Journal of Immunology* 1991; 147:3815-3822.
 42. Forman HJ, Boveris A. Superoxide radical and hydrogen peroxide in mitochondria. In: Pryor WA, ed. *Free Radicals in Biology (Volume 5)*. New York: Academic Press; 1982; 65-89.
 43. Gantner F, Leist M, Lönse W et al. Concanavalin A-induced T-cell-mediated hepatic injury in mice: the role of tumor necrosis factor. *Hepatology* 1995; 21:190-198.
 44. Garcia-Buey L, Garcia-Monzon C, Rodriguez S et al. Latent autoimmune hepatitis triggered during interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1995; 108:1770.
 45. Gate L, Paul J, Nguyen BA, Tew KD, Tapiero H. Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. *Biomed Pharmacother* 1999 May; 53(4):169-80. Review.
 46. Geiss HL, Ritter MM, Richter NO et al. Lp(α) serum levels is decreased in acute viral hepatitis. *Hepatology* 1996 Dec; 24(6):1334-7.
 47. Genaro AM, Hortelano S, Alvarez A, Martinez C, Bosca L. Splenic B lymphocyte programmed cell death is prevented by nitric oxide release through mechanisms involving sustained Bcl-2 levels. *J Clin Invest.* 1995; 95:1884-1890.
 48. Green D, Kroemer G. The central executioners of apoptosis: caspases or mitochondria? *Trends Cell Biol* 1998; 8:267-271.
 49. Green DR, Kroemer G.: *The Pathophysiology of Mitochondrial Cell Death.* *Science* 2004; 305:626-629.
 50. Gremion C, Grabscheid B, Wolk B, et al. Cytotoxic T lymphocytes derived from patients with chronic hepatitis C virus infection kill bystander cells via Fas-FasL interaction. *J Virol* 2004; 78:2152-2157.
 51. Grob PJ. Hepatitis B: virus, pathogenesis and treatment. *Vaccine* 1998 Nov; 16 Suppl:S11-6. Review.

52. Guidotti LG, Chisari FV. Noncytolytic control of viral infections by the innate and adaptive immune response. *Annu Rev Immunol* 2001; 19: 65-91.
53. Haber MM, West AB, Haber AD, Reuben A. Relationship of aminotransferases to liver histological status in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol.* 1995 Aug; 90(8):1250-7.
54. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys.* 1990 Jul; 280(1):1-8. Review.
55. Hammermann R, Dreissig MD, Mossner J et al. Nuclear factor-kappa B mediates simultaneous induction of inducible nitric oxide synthase and Up-regulation of the cationic amino acid transporter CAT-2B in rat alveolar macrophages. *Mol Pharmacol* 2000; 58: 1294–302.
56. Hampton MB, Fadeel B, Orrenius S, Redox Regulation of the Caspases during Apoptosis, *Annals of the New York Academy of Sciences* 1998; 854:328-335.
57. Hayes J, McLellan L. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radic Res.* 1999 Oct; 31(4):273-300. Review.
58. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 2000; 407:770-776.
59. Hentze H, Gantner F, Kolb SA, Wendel A. Depletion of Hepatic Glutathione Prevents Death Receptor-Dependent Apoptotic and Necrotic Liver Injury in Mice. *Am J Path* 2000; 156:2045-56.
60. Hentze H, Künstle G, Volbracht C, Ertel W, Wendel A. CD95-mediated murine hepatic apoptosis requires an intact glutathione status. *Hepatology* 1999; 30:177-185.
61. Hershkoviz R, Bruck R, Aeed H et al. Treatment of concanavalin A-induced hepatitis with molecular weight heparin. *J Hepatol* 1999 Nov; 31(5):834-40.
62. Hiramatsu N, Hayashi N, Katayama K et al. Immunohistochemical detection of Fas antigen in liver tissue of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1994; 19:1354-1359.
63. Holler N, Zaru R, Micheau O, Thome M, Attinger A, Valitutti S, Bodmer JL, Schneider P, Seed B, Tschopp J. Fas triggers an alternative, caspase-8-independent cell death pathway using the kinase RIP as effector molecule. *Nat Immunol* 2000; 1:489-495.

64. Hsu H, Shu HB, Pan MG, Goeddel DV. TRADD-TRAF2 and TRADD-FADD interactions define two distinct TNF receptor 1 signal transduction pathways. *Cell* 1996; 84:299-308.
65. Igney FH, Krammer PH. Death and Anti-Death: Tumor Resistance to Apoptosis. *Nat. Rev. Cancer* 2002; 2:277-288.
66. Irmeler M, Thome M, Hahne M, Schneider P, Hofmann K, Steiner V, Bodmer JL, Schroter M, Burns K, Mattmann C, Rimoldi D, French LE, Tschopp J. Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP. *Nature* 1997; 388:190-195.
67. Iwai S, Okazaki M, Kiuchi Y, Oguchi K. Changes in mRNA levels of fibrinogen subunit polypeptides in rats defibrinogenated with batroxobin. *Jap. J of Pharmacol.* 1999 Mar; 58 (2):25-28.
68. J. Kountouras C, Zavos D. Chatzopoulos Apoptosis in Hepatitis C *J Viral Hepat* 2003; 10(5):335-342.
69. Stoop JN, Molen RG, Baan CC, Laan LJW, Kuipers EJ, Kusters JG, Janssen HLA. Regulatory T cells contribute to the impaired immune response in patients with chronic hepatitis B virus infection *Hepatology* 2005; 41 (4): 771-778.
70. Ji W, Wang HF, Feng CQ. Activation-induced cell death in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from patients with chronic hepatitis B may be related to abnormal production of interleukin 12 and 10. *J Viral Hepat* 2001 Jan; 8(1):30-33.
71. Jiang Y, Woronicz JD, Liu W, Goeddel DV. Prevention of constitutive TNF receptor 1 signaling by silencer of death domains. *Science* 1999; 283:543-546.
72. Kagawa T, Morizane T, Saito H, Miyaguchi S, Tsunematsu S, Tada S, Guevara FM, Kumagai N, Tsuchimoto K, Watanabe T et al. A randomized, controlled trial of weekly administration of lymphoblastoid interferon in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 1993 Jan; 17(1):91-6.
73. Kakimi K, Guidotti LG, Koezuka Y, Chisari FV. Natural killer T cell activation inhibits hepatitis B virus replication in vivo. *J Exp Med* 2000; 192:921-930.
74. Kato M, Ikeda N, Matsushita E, Kaneko S, Kobayashi K. Involvement of IL-10, an anti-inflammatory cytokine in murine liver injury induced by Concanavalin. *A. Hepatol Res.* 2001 Jun; 20(2):232-243.

75. Kim YM, Kim TH, Seol DW, Talanian RV, Billiar TR. Nitric oxide suppression of apoptosis occurs in association with an inhibition of Bcl-2 cleavage and cytochrome c release. *J Biol Chem*. 1998; 273:31437–31441.
76. Kim YM, Talanian RV, Billiar TR. Nitric oxide inhibits apoptosis by preventing increases in caspase-3-like activity via two distinct mechanisms. *J Biol Chem*. 1997; 272:31138–31148.
77. Kimura K, Ando K, Ohonishi H et al. Immunopathogenesis of hepatic fibrosis in chronic liver injury induced by repeatedly administered con A. *Int Immunol* 1999 Sep; 11(9):1491-1500.
78. Knolle PA, Uhrig A, Protzer U et al. Interleukin 10 expression is autoregulated of the transcriptional level in human and murine kupffer cells. *Hepatology* 1998; 27:93-9.
79. Koide M, Kawahara Y, Tsuda T et al. Expression of nitric oxide synthase by cytokines in vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 1994 Jan; 23(1 Suppl):145-8.
80. Korda MM. Status of the antioxidant, monooxygenase and humoral immune system of the dody indgalactosamin hepatitis. *Ukrainskii Biokhimicheskii Zhurnal*. 1996 Jan-Feb; 68(1):72-5.
81. Kornmann M, Ishiwata T, Kleeff J, Beger HG, Korc M. Fas and Fas-ligand expression in human pancreatic cancer. *Ann Surg* 2000; 231:368-379.
82. Krammer PH, Dhein J, Walczak H, Behrmann I, Mariani S, Matiba B, Fath M, Daniel PT, Knipping E, Westendorp MO, et al. The role of APO-1-mediated apoptosis in the immune system. *Immunol Rev* 1994; 142:175-191.
83. Krammer PH. CD95's deadly mission in the immune system. *Nature* 2000; 407:789-795.
84. Krueger A, Baumann S, Krammer PH, Kirchhoff S. FLICE-inhibitory proteins: regulators of death receptormediated apoptosis. *Mol Cell Biol* 2001; 21:8247-8254.
85. Ksontini R, Colagiovanni DB, Josephs MD et al. Disparate role for TNF alpha and ligand in con A-induced hepatitis. *J Immunol* 1998 Apr; 160(8):4082-9.
86. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2001; 345:41-52.

87. Leist M, Gantner F, Jilg S, Wendel A. Activation of the 55 kDa TNF receptor is necessary and sufficient for TNF-induced liver failure, hepatocyte apoptosis, and nitrite release. *J Immunol* 1995; 154:1307-1316.
88. Leist M, Single B, Castoldi AF, Kühnle S, Nicotera P. Intracellular adenosine triphosphate (ATP) concentration: a switch in the decision between apoptosis and necrosis. *J Exp Med* 1997; 185:1481-1486.
89. Leong KG, Karsan A. Signaling pathways mediated by tumor necrosis factor alpha. *Histol Histopathol* 2000; 15:1303-1325.
90. Li J, Bombeck CA, Yang S, Kim YM., Billiar TR. NO prevents hepatocytes from TNF- α induced activation of Caspase 3 and Caspase 8 and accordingly Apoptotic death of cell. *J. Biol Chem* 1999; 274:17325-17333.
91. Li H, Zhu H, Xu CJ, Yuan J. Cleavage of BID by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis. *Cell* 1998; 94:491-501.
92. Liang TJ, Rehermann B, Seeff LB, Hoofnagle JH. Pathogenesis, natural history, treatment, and prevention of hepatitis C. *Ann Intern Med* 2000; 132:296-305.
93. Liu ZG, Hsu H, Goeddel DV, Karin M. Dissection of TNF receptor 1 effector functions: JNK activation is not linked to apoptosis while NF-kappaB activation prevents cell death. *Cell* 1996; 87:565-576.
94. Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 2001; 34:1225-1241.
95. Louis H, Le Moine O, Goldman M, Deviere J. Modulation of liver injury by interleukin-10. *Acta Gastroenterol Belg* 2003 Jan-Mar; 66(1):7-14.
96. Louis H, Le Moine O, Penu MO et al. Production and role of interleukin 10 in con A-induced hepatitis in mice. *Hepatology* 1997 Jun; 25(6):1382-1389.
97. Majano PL, Garcia-Monzon C, Lopez-Cabrera M et al. Inducible nitric oxide synthase expression in chronic viral hepatitis. Evidens for a virus-induced gene upregulation. – *J Clin Invest* 1998 Apr; 101(7):1343-52.
98. Makris M, Preston FE, Triger DR, Underwood JC, Choo QL, Kuo G, Houghton M. Hepatitis C antibody and chronic liver disease in haemophilia. *Lancet*. 1990 May 12; 335(8698):1117-9.

99. Mariani SM, Matiba B, Armandola EA, Krammer PH. The APO-1/Fas (CD95) receptor is expressed in homozygous MRL/lpr mice. *Eur J Immunol* 1994; 24:3119-3123.
100. Martin SJ, Green DR. Protease activation during apoptosis: death by a thousand cuts? *Cell* 1995; 82:349-352.
101. Masayoshi Y, Akihito M, Ichiro A et al. *Clin Sci* 2000 ; 99:421-431.
102. Melino G, Bernassola F, Knight RA, Corasaniti MT, Nistico G, Finazzi-Agro A: S-nitrosylation regulates apoptosis. *Nature* 1997; 388:432-433.
103. Mihm S, Fayyazi A, Ramadori G. Hepatic expression of inducible nitric oxide synthase transcripts in chronic hepatitis C virus infection: relation to hepatic viral load and liver injury. *Hepatology* 1997 Aug; 26(2):451-8.
104. Missale G, Ferrari C, Fiaccadori F. Cytokine mediators in acute inflammation and chronic course of viral hepatitis. *Ann Ital Med Int* 1995 Jan-Mar; 10(1):14-8. Review. Italian.
105. Mita E, Hayashi N, Iio S et al. Role of Fas ligand in apoptosis induced by hepatitis C virus infection. *Biochem Biophys Res Commun* 1994 ; 204:468-474.
106. Mitsui T, Iwano K, Masuko K, Yamazaki C, Okamoto H, Tsuda F, Tanaka T, Mishiro S. Hepatitis C virus infection in medical personnel after needlestick accident. *Hepatology*. 1992 Nov; 16(5):1109-14.
107. Mizuhara H, O'Neill E, Seki N et al. T cell activation-associated hepatic injury: mediation by tumor necrosis factors and protection by interleukin 6. *J Exp Med* 1994 May 1; 179(5):1529-37.
108. Moller P, Koretz K, Leithauser F, Bruderlein S, Henne C, Quentmeier A, Krammer PH. Expression of APO-1 (CD95), a member of the NGF/TNF receptor superfamily, in normal and neoplastic colon epithelium. *Int J Cancer* 1994; 57:371-377.
109. Moore TA, Lau HY, Cogen AL et al. Anti-tumor necrosis factor-alpha therapy during murine *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: increased mortality in the absence of liver injury. *Shock*, 2003; 20(4):309-15.
110. Mosser DD, Caron AW, Bourget L, Denis-Larose C, Massie B. Role of the human heat shock protein HSP70 in protection against stress-induced apoptosis. *Mol Cell Biol* 1997; 17:5317-5327.

111. Mucmore SW, Sattler M., Liang H et al. X-Ray NMR Structure of Human Bcl-xL, an Inhibitor of Programmed Cell Death. *Nature* 1996; 381:335-341.
112. Mutlu-Turkoglu U, Ademoglu E, Turkoglu S et al. The effects of interferon-alpha on serum lipid peroxidation and total thiol content in patients with chronic active hepatitis C. *Reserch Communications in Molecular Pahtology, Pharmacology* 1997 Jun; 96(3):357-61.
113. Nagata S. Apoptosis mediated by the Fas system. *Prog Mol Subcell Biol* 1996; 16:87-103.
114. Nishikage T, Seki S, Toyabe S, Abo T, Kagata Y, Iwai T, Hiraide H. Inhibition of concanavalin A-induced hepatic injury of mice by bacterial lipopolysaccharide via the induction of IL-6 and the subsequent reduction of IL-4: the cytokine milieu of concanavalin A hepatitis. *J Hepatol.* 1999 Jul; 31(1):18-26.
115. Nunoshiba T, deRojas-Walker T, Wishnok JS, Tannenbaum SR, Demple B. Activation by nitric oxide of an oxidative-stress response that defends *Escherichia coli* against activated macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 Nov 1; 90(21):9993-7.
116. Nelson DR, Marousis CG, Davis GL et al. The role of hepatitis C virus-specific cytotoxic T lymphocytes in chronic hepatitis C. *J Immunol* 1997; 158:1473-1481.
117. Nikoletti F, Di marko R, Zaccone P et al. Murine concanavalin A-induced hepatitis is ptevented bu interleukin (IL)-12 antibody and exacerbated by exogenous IL-12 through a interferon-dependent mechanism. *Hepatology* 2000; 32:728-733.
118. Ogasawara J, Watanabe-Fukunaga R, Adachi M, Matsuzawa A, Kasugal T, Kitamura Y, Itoh N, Suda Y, Nagata S. Lethal effect of the anti-Fas antibody in mice. *Nature* 1993; 364:806-809.
119. Okamoto T, Kanda T. Glycyrrhizin protects mice from concanavalin A-induced hepatitis without affecting cytokine expression. *Int J Mol Med* 1999 Aug; 4(2):149-52.
120. Okamoto T, Kobayashi T, Jeong SY. NC-1500 prevents concanavalin A-induced hepatitis without effecting cytokin gene expression. *Int J Mol Med* 2001 Aug; 8(2):181-2.
121. Okamoto T, Masuda Y, Kawasaki T et al. Aminoguanidine prevents concanavalin A-induced hepatitis in mice. *Eur J Pharmacol* 2000 May; 396(2-3):125-30.

122. Okamoto T, Nakano Y, Asakura W et al. Expression of cytokin mRNA in extrahepatic organs in a mouse concanavalin A-hepatitis model. *Jpn J Pharmacol* 1998 Jul; 77(3):219-25.
123. Okamoto T. Suppression of cytochrome P-450 gene expression in the liver of mice with concanavalin A-induced hepatitis. *Eur J Pharmacol* 1999 Apr; 394(1):157-61.
124. Paradis V, Mathurin P, Kollinger M et al. In situ detection of lipid peroxidation in chronic hepatitis C: correlation with pathological features. *J Clin Pathol* 1997 May; 50(5):401-6.
125. Paumgartner G, Beuers U. Ursodeoxycholic acid in cholestatic liver disease: mechanisms of action and therapeutic use revisited. *Hepatology* 2002; 36(3):525–31.
126. Prescott LF. Glutathione: a protective mechanism against hepatotoxicity. *Biochem Soc Trans* 1982; 10:84-85.
127. Rai RM, Lee FYJ, Rosen A, Yang SQ, Lin HZ, Koteish A, Liew FY, Zaragoza C, Lowenstein C, Diehl AM. Impaired liver regeneration in inducible nitric oxide synthase-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95:13829-13834.
128. Ratajczak B. Observation of the effect of low oral doses of human leukocytic interferon alpha in children with chronic HBV infection and impaired immune response. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 1993; 41(3-4):237-40.
129. Rath PC, Aggarwal BB. TNF-induced signaling in apoptosis. *J Clin Immunol* 1999; 19:350-364.
130. Ray RB, Meyer K, Steele R, Shrivastava A, Aggarwal BB, Ray R. Inhibition of tumor necrosis factor (TNF-alpha) - mediated apoptosis by hepatitis C virus core protein. *J Biol Chem* 1998; 273:2256-2259.
131. Rehermann B. Immunopathogenesis of viral hepatitis. *Clin Gastroenterol* 1996 Sep; 10(3):483-500.
132. Rensing-Ehl A, Frei K, Flury R, Matiba B, Mariani SM, Weller M, Aebischer P, Krammer PH, Fontana A. Local Fas/APO-1 (CD95) ligand-mediated tumor cell killing in vivo. *Eur J Immunol*. 1995 Aug; 25(8):2253-8.

133. Rukhadze R, Pantsulaia I, Chikovani T et al. Influence of Plaferon LB on changes of metabolic ESR center of liver during experimental hyperthyroidism. *Proc Georgian Acad Sci, Biol Ser.* 1998, 3-6:91-95.
134. Sass G, Koerber K, Bang R, Guehring H, Tiegs G. Inducible nitric oxide synthase is critical for immunemediated liver injury in mice. *J Clin Invest* 2001; 107(4):439–47.
135. Satoh M, Kobayashi K, Ishii M et al. Midzonal necrosis of the liver after concanavalin A-injection. *Tohoku J Exp Med* 1996 Oct; 180(2):139-52.
136. Scaffidi C, Fulda S, Srinivasan A, Friesen C, Li F, Tomaselli KJ, Debatin KM, Krammer PH, Peter ME. Two CD95 (APO-1/Fas) signaling pathways. *Embo J* 1998; 17:1675-1687.
137. Scheuer PJ, Ashafzada P, Sherlock S et al. The pathology of hepatitis C. *Hepatology* 1990; 15:567.
138. Schoemaker MH, Ros JE, Homan M et al. Cytokine regulation of pro- and anti-apoptotic genes in rat hepatocytes: NF- κ B-regulated inhibitor of apoptosis protein 2 (cIAP2) prevents apoptosis. *J. Hepatol.* 2002; 36:742–750.
139. Schoemaker MH, Moshage H. Defying death: the hepatocyte's survival kit. *Clin Sci (Lond)* 2004; 107(1):13–25.
140. Schulte-Hermann R, Bursch W, Grasl-Kraupp B. Active Cell Death (Apoptosis) in Liver Biology and Disease. *Prog. Liver Dis* 1995; 13:1-35.
141. Schulze-Osthoff K, Krammer PH, Droge W. Divergent signalling via APO-1/Fas and the TNF receptor, two homologous molecules involved in physiological cell death. *Embo J* 1994; 13:4587-4596.
142. Schwabe RF, Brenner DA. Mechanisms of Liver Injury. I. TNF-alpha-induced liver injury: role of IKK, JNK, and ROS pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006 Apr; 290(4):G583-9.
143. Schwarz KB. Oxidative stress during viral infection. *Free Radic Biol Med* 1996; 21(5):641-9.
144. Schweyer S, Mihm S, Radzun HS et al. Liver infiltrating T lymphocytes express interferon gamma and inducible nitric oxide synthase in chronic hepatitis C virus infection. *Gut* 2000 Feb; 46(2):255-9.

145. Sebbagh M, Renvoize C, Hamelin J, Riche N, Bertoglio J, Breard J. Caspase-3-mediated cleavage of ROCK I induces MLC phosphorylation and apoptotic membrane blebbing. *Nat Cell Biol* 2001; 3:346-352.
146. Sherlock G. The hepatic flaviviridae: summary. *J Viral Hepat*. 1999 Jul; 6(Suppl 1):1-5. Review.
147. Shindo M, Mullin GE, Braun-Elwert L, Bergasa NV, Jones EA, James SP. Cytokine mRNA expression in the liver of patients with primary biliary cirrhosis (PBC) and chronic hepatitis B (CHB). *Clin Exp Immunol* 1996 Aug; 105(2):254-9.
148. Sidoti-de Fraisse C, Rincheval V, Risler Y, Mignotte B, Vayssiere JL. TNF-alpha activates at least two apoptotic signaling cascades. *Oncogene* 1998; 17:1639-1651.
149. Slee EA, Adrain C, Martin SJ. Serial killers: ordering caspase activation events in apoptosis. *Cell Death Differ* 1999; 6:1067-1074.
150. Solary E, Dubrez L, Eymin B. The role of apoptosis in the pathogenesis and treatment of diseases. *Eur Respir J* 1996 Jun; 9(6):1293-305.
151. Spieker M, Darius H, Kaboth K et al. Differential regulation of endothelial cell adhesion molecule expression by nitric oxide donors and antioxidants. *J Leukoc Biol* 1998; 63:732-739.
152. Stanger BZ, Leder P, Lee TH, Kim E, Seed B. RIP: a novel protein containing a death domain that interacts with Fas/APO-1 (CD95) in yeast and causes cell death. *Cell* 1995; 81:513-523.
153. Strand S, Hofmann WJ, Grambihler A, Hug H, Volkmann M, Otto G, Wesch H, Mariani SM, Hack V, Stremmel W, Krammer PH, Galle PR. Hepatic failure and liver cell damage in acute Wilson's disease involve CD95 (APO-1/Fas) mediated apoptosis. *Nat Med* 1998; 4:588-593.
154. Streetz K, Leifeld L, Grundmann D et al. Tumor necrosis factor α in the pathogenesis of human and murine fulminant hepatic failure. *Gastroenterology* 2000; 119:446-460.
155. Streetz KL, Wustefeld T, Klein C, Manns MP, Trautwein C. Mediators of inflammation and acute phase response in the liver. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2001 Jun; 47(4):661-73.

156. Sur H, Gutierrez P, Jackson MJ et al. Essential role of nitric oxide and interferon-gamma for tumor immunotherapy with interleukin 10. *J Immunother* 2000 May-Apr; 23(2):208-14.
157. Susin SA, Zamzani N, Castedo M et al. Bcl-2 Inhibits the Mitochondrial Release of Apoptogenic Protease. *J Exp Med* 1996; 184:1331-1341.
158. Tagawa Y, Kakuta S, Iwakura Y. Involvement of Fas./Fas ligand system-mediated apoptosis in the development of concanavalin A-induced hepatitis. *Eur J Immunol* 1998; 28:4105-4113.
159. Tagawa Y, Sekikawa K, Iwakura Y. Suppression of con A-induced hepatitis in IFN-gamma (-/-) mice, but not in TNF alpha (-/-) mice: role for IFN-gamma in activating apoptosis of hepatocytes. *J Immunol* 1997 Aug 1; 159(3):1418-28.
160. Takehara T, Hayashi N, Tatsumi T et al. Interleukin 1 beta protects mice from Fas-mediated hepatocyte apoptosis and death. *Gastroenter* 1999 Sep; 117(3):661-8.
161. Tartaglia LA, Ayres TM, Wong GH, Goeddel DV. A novel domain within the 55 kd TNF receptor signals cell death. *Cell* 1993; 74:845-853.
162. Thimme R, Oldach D, Chang KM, Steiger C, Ray SC, Chisari FV. Determinants of viral clearance and persistence during acute hepatitis C virus infection. *J Exp Med* 2001; 194:1395-1406.
163. Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. *Science* 1998; 281:1312-1316.
164. Tiegs G, Hentschel J, Wendel A. A T-cell dependent experimental liver injury in mice inducible by concanavalin A. *J Clin Invest* 1992 Jul; 90(1):196-203.
165. Tiegs G. Experimental hepatitis and role of cytokines. *Acta Gastroenterol Belg* 1997 Apr-Jun; 60(2):176-9.
166. Tirmenstein MA, Nicholls-Grzemeski FA, Schmittgen TD, Zakrajsek BA, Fariss MW. Characterization of nitric oxide production following isolation of rat hepatocyte. *Toxicol Sci* 2000 Jan; 53(1):56-62.
167. Tracey KJ, Cerami A. Tumor necrosis factor, other cytokines and disease. *Annu Rev Cell Biol* 1993; 9:317-343.

168. Trauth BC, Klas C, Peters AM, Matzku S, Moller P, Falk W, Debatin KM, Krammer PH. Monoclonal antibody-mediated tumor regression by induction of apoptosis. *Science* 1989; 245:301-305.
169. Trautwein C, Rakemann T, Malek NP, Plumpe J, Tiegs G, Manns MP. Concanavalin A-induced liver injury triggers hepatocyte proliferation. *J Clin Invest* 1998; 101:1960-9.
170. Tschopp J, Martinon F, Hofmann K. Apoptosis: Silencing the death receptors. *Curr Biol* 1999; 9:R381-384.
171. Tsutsui H, Adachi K, Seki E, Nakanishi K. Cytokine-induced inflammatory liver injuries. *Curr Mol Med* 2003 Sep; 3(6):545-59.
172. Turpaev KT. The role of nitric oxide in transferring a signal between cells. *Molecular biology* 1998; 32(4):581-591.
173. Uhlig S, Wendel A. The physiological consequences of glutathione variations. *Life Sci* 1992; 51:1083-1094.
174. Villunger A, Huang DC, Holler N, Tschopp J, Strasser A. Fas ligand-induced c-Jun kinase activation in lymphoid cells requires extensive receptor aggregation but is independent of DAXX, and fas-mediated cell death does not involve DAXX, RIP, or RAIDD. *J Immunol* 2000; 165:1337-1343.
175. Wang S, Nath N, Minden A, Chellappan S. Regulation of Rb and E2F by signal transduction cascades: divergent effects of JNK1 and p38 kinases. *Embo J* 1999; 18:1559-1570.
176. Watanabe Y, Morita M, Akaike T. Concanavalin A induces perforin-mediated but not Fas-mediated hepatic injury. *Hepatology*. 1996 Sep; 24(3):702-10.
177. Webster GJ, Reignat S, Maini MK, et al. Incubation phase of acute hepatitis B in man: dynamic of cellular immune mechanisms. *Hepatology*. 2000 Nov; 32(5):1117-24.
178. Wegstal R. Immune-mediated liver damage in chronic hepatitis C. *Scand. J. Gastroenterology* 1995; 30:600.
179. Weller M, Frei K, Groscurth P, Krammer PH, Yonekawa Y, Fontana A. Anti-Fas/APO-1 antibody-mediated apoptosis of cultured human glioma cells. Induction and modulation of sensitivity by cytokines. *J Clin Invest* 1994; 94:954-964.

180. Wong DK, Dudley DD, Afdhal NH et al. Liver-derived CTL in hepatitis C virus infection: breadth and specificity of responses in a cohort of persons with chronic infection. *J Immunol* 1998; 160:1479-1488.
181. Yonehara S, Ishii A, Yonehara M. A cell-killing monoclonal antibody (anti-Fas) to a cell surface antigen codownregulated with the receptor of tumor necrosis factor. *J Exp Med* 1989; 169:1747-1756.
182. Yuan J, Shaham S, Ledoux S, Ellis HM, Horvitz HR. The *C. elegans* cell death gene *ced-3* encodes a protein similar to mammalian interleukin-1 beta-converting enzyme. *Cell* 1993; 75:641-652.
183. Zein NN. Interferons in the management of viral hepatitis. *Cytokines Cell Mol Ther* 1998 Dec; 4(4):229-41.
184. Zheng BJ, Zhou J, Qu D, Siu KL, Lam TW, Lo HY, Lee SS, Wen YM. Selective functional deficit in dendritic cell – T cell interaction is a crucial mechanism in chronic hepatitis B virus infection. *J Viral Hepat* 2004; 11:217-224.
185. Kunstle G, Hentze H, Germann PG, Tiegs G, Meergans T, Wendel A. Concanavalin A hepatotoxicity in mice: tumor necrosis factor-mediated organ failure independent of caspase-3-like protease activation. *Hepatology* 1999 Nov; 30(5):1241-51.