ხელნაწერის უფლებით

საქართველოს დავით აღმაშენებლის სახელობის უნივერსიტეტი

ლელა ლურსმანაშვილი

საქართველოში წარმოებული ზოგიერთი ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერების ციტოპროტექტორული ეფექტის შესწავლა ექსპერიმენტულ უჯრედულ მოდელურ სისტემებში

სადისერტაციო ნაშრომი

წარმოდგენილია მედიცინის დოქტორის
აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელები: ბიოლოგიის მეცნ. დოქტ.
თ. სანიკიძე

მედიცინის დოქტ.ასოც. პროფ.
ნ. ლობჟანიძე

თბილისი

2019

სარჩევი

შესავალი....4

თემის აქტუალობა…….....4

კვლევის მიზანი:....8

კვლევის ამოცანები: 8

ნაშრომის სამეცნიერო სიახლე:....9

ნაშრომის ძირითადი დებულებები: 9

ნაშრომის პრაქტიკული ღირებულება:....10

თავი I ლიტერატურის მიმოხილვა……..……12

1.1 მცენარეული პოლიფენოლური ნაერთები 12

1.2. მწვანე ჩაის კატეხინები....20

ცხრილი 1...…….…….…….…22

1.3. ლიპოსომები 34

თავი 2. კვლევის მასალა და მეთოდები....55

მწვანე ჩაის ექსტრაქტი 55

პექტინის გამოყოფა....56

მიკრო ანალიზი შაქრის გამოყოფისათვის....57

უჯრედული კულტურა....58

ოქსიდაციური სტრესით ინდუცირებული აპოპტოზის მოდელირება:....58

DPPC და DPPA ლიპოსომების პრეპარირება....59

უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის შეფასების (სიცოცხლისუნა-რიანობის) MTT ტესტი:....59

აპოპტოზის ინტენსივობის განსაზღვრა:....60

ანტიოქსიდანტური ფერმენტების – კატალაზას და სუპეროქსიდ-დისმუტაზას აქტიურობა: 62

Jurkat უჯრედებში NO-ს შემცველობის განსაზღვრა:....63

Jurkat უჯრედების მოტოქონდრიული მემბრანული პოტენციალის (Δψ) განსაზღვრა:....63

მწვანე ჩაის ექსტრაქტიდან გამზადებული პრეპარატის „კამელფინის“ ეფექტურობა სხეულის მასის კორექციისატვის მდედრობითი სქესის პაციენტებში: 64

შედეგების სტატისტიკური ანალიზი : 65

თავი III. კვლევის შედეგები 66

3.1 მწვანე ჩაის ექსტრაქტის შემაგენლობის შესწავლა....66

3.2 Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობა სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბაციის დროს....67

3.3 C, E ვიტამინების, C+E ვიტამინური კომპლექსის და მწვანე ჩაის ექსტრაქტების ზემოქ-მედება ინტაქტური Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობაზე....69

3.4 C, E ვიტამინების, C+E ვიტამინური კომპლექსის ზემოქმედება ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობაზე…….....71

3.5 მწვანე ჩაის ექსტრაქტების ზემოქმედება ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობაზე.....73
3.6 მწვანე ჩაის კატექინების პრო- და ანტიაპოპტოზური აქტივობა.....75
3.7 მწვანე ჩაი, ექსტრაქტის ზემოქმედება ჟურკატ უჯრედების მიტოქონდრიულ-მემბრანული პოტენციალის (Δψ) მნიშვნელობაზე.....78
3.8 ვიტამინების და მწვანე ჩაის ექსტრაქტების ინდივიდუალური და კომპლექსური ანტიოქსიდანტური აქტივობა.....80
3.9 მწვანე ჩაის კატეხინების შემცველი ლიპოსომების ანტიოქსიდანტური აქტივობა Jurkat უჯრედების ექსპერიმენტულ მოდელებზე.....86
3.10 მწვანე ჩაის ექსტრაქტების გავლენა Jurkat უჯრედებში NO შემცველობაზე.....90
შედეგების განხილვა.....97
დასკვნები.....122
რეკომენდაციები.....124
გამოყენებული ლიტერატურა.....125

შესავალი

თემის აქტუალობა

მსოფლიო ჯანდაცვის ორგანიზაცია ჯანმრთელობას მოიაზრებს, როგორც ფიზიკური, სულიერი და სოციალური კეთილდღეობის ერთობლიობას, თუმცა ჯანმრთელობა ხშირად გაგებულია, როგორც დაავადების არ არსებობა. უკანასკნელ წლებში თანამედროვე ტექნოლოგიების, პროტეომიქსისა და გენომიქსის ჩათვლით, გამოყენების მიუხედავად მრავალი კომპლექსური დაავადების პათოგენეზი ამოუცნობი რჩება და მათი კვლევა აქტუალური და მნიშვნელოვანია. აქტიურად მიმდინარეობს კომპლექსური დაავადებების შესწავლა რომელიც მოიცავს ქრონიკულ დაავადებებს (სიმსივნე, გულსისხლძარღვთა დაავადებები, ვირუსულ ინფექციები), ასაკთან ასოცირებულ, რეპროდუქციულ, გენეტიკურ პრობლემებს. კვლევები ინტეგრირებულია და პრობლემის უჯრედულ და მოლეკულურ დონეზე შესასწავლად ფართოდ გამოიყენება თანამედროვე იმუნოლოგიური, ბიოქიმიური, ბიოფიზიკური და გენეტიკური კვლევები.

განვითარებულ ქვეყნებში არაგადამდები დაავადებები (აგდ) სიკვდილიანობისა და ინვალიდობის ძირითადი მიზეზია და დაახლოებით მის 63%-ს შეადგენს. აშშ-ში 10-დან 7 ლეტალური შემთხვევა არაგადამდები დაავადებით არის გამოწვეული. უფრო მეტიც, ყოველწლიურად 36 მილიონი ადამიანი იღუპება არაგადამდები დაავადებებით, მათ შორის 9 მილიონი 60 წლამდე ასაკში, რაც დიდ სოციალურ-ეკონომიკურ ზიანს აყენებს თითოეულ ქვეყანას, განსაკუთრებით კი განვითარებად ქვეყნებს. საქართველოში სიკვდილობის 96% განპირობებულია არაგადამდები დაავადებებით და ტრავმებით, ხოლო სიკვდილობის მიზეზთა შორის 75% გულ–სისხლძარღვთა დაავადებებია.

ჯანმრთელობის მსოფლიო ორგანიზაციის შეფასებით უახლოესი 10 წლის განმავლობაში არაგადამდები დაავადებებით გარდაიცვლება 388 მილიონი ადამიანი. 2020 წლისთვის აგდ-ების შედეგად გამოწვეული სიკვდილობის წილი კიდევ უფრო გაიზრდება და შეადგენს მსოფლიოში 60% -ს და ევროპაში კი - 80%-ს.

ქრონიკულ არაგადამდებ დაავადებები ვითარდება ქრონიკული ანთების შედეგად. მე–20 საუკუნის 80-იანი წლებიდან ცხოვრების სტილის ნახტომისებური ცვლილება, რაც კვების წესის ცვლილებით, ანტიბიოტიკებისადმი და კორტიკოსტეროიდებისადმი გაიოლებული წვდომით, მუდმივ სტრესითა და შეცვლილი საარსებო გარემოთი გამოიხატება, განაპირობებს ორგანიზმის ჰომეოსტაზის დარღვევას, რაც შეიძლება მწვავე ანთების ქრონიკულ ფორმაში გადასვლის საფუძველი გახდეს. ანთების ალაგება ანტი-ანთებითი პრეპარატების უკონტროლო გამოყენებით ვერ ხერხდება და ამით კიდევ უფრო მეტად მძიმდება მდგომარეობა. პირიქით, ეს უკანასკნელნი მნიშვნელოვან საფრთხეს წარმოადგენს ორგანიზმისთვის, რადგან მოქმედებს როგორც სტრესის ქრონიკული, დროში ხანგრძლივად მოქმედი აქტივატორი.

იმუნური სისტემას შეუძლია წარმატებით გაუმკლავდეს სწრაფ, ინტენსიურ საფრთხეს და არა ხანგრძლივ, ქრონიკულ სტიმულაციას. იმუნური სისტემა წარმატებით ვერ რეაგირებს ანტიგენურ, ქიმიურ, ფიზიკურ და კვებით აქტივატორებზე, რასაც თან სდევს პროანთებითი მარკერების პროგრესული ზრდა. თანამედროვე ცხოვრების სტილის მუდმივი სტრესის ფაქტორები იმუნურ სისტემასა და ცენტრალურ ნერვულ სისტემას აქტიურობის მუდმივ მდგომარეობაში ამყოფებს, რაც ქრონიკული დაავადებისადმი ორგანიზმის მოწყვლადობას ზრდის.

ბოლო 15 წლის განმავლობაში მეცნიერების ყურადღებას იპყრობს ანტიოქსიდანტური თვისებების მქონე ნატურალური ნაერთები (პროპოლისის ექსტრაქტი, სხვადასხვა მცენარეული პროდუქტები – ციტრუსების ჰესპერიდინი, ჩაის პოლიფენოლური ნაერთები, წითელი ყურძნის ექსტრაქტი და ა.შ. (Hosseinimehr SJ, 2009, Guo S, 2010)), რომლებსაც შესწევთ იმუნური უჯრედების აქტივობის რეგულაციის უნარი. მცენარეული ნაერთების პროტექტორული აქტივობა განპირობებულია მათში ბიოაქტიური ანტიოქსიდანტური, იმუნომოდულატორული აქტოვობის მქონე ნივთიერებების მაღალი შემცველობით. ნატურალური პრეპარატების შედარების საფუძველზე შესაძლებელია ახალი მაღალეფექტური კომპლექსების შერჩევა, რომლებიც უზრუნველყოფენ ჯანმრთელი ქსოვილების დაზიანებისაგან დაცვას.

ჩვენი ყურადღება მიიპრყო ქართული წარმოშობის ჩაის ნატურალურმა ექსტრაქტებმა. ამ ექსტრაქტებიდან გამოყოფილი ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებები ხასიათდებიან ანტიოქსიდანტური, იმუნომოდულატორული, ანტიბაქტერიული, ანტივირუსული, ანტიკანცეროგენული თვისებებით, გამოიყენება სხვადასხვა ქრონიკული დაავადებების სამკურნალოდ (Hosseinimehr SJ, et al., 2009, Yang M, 1997, Tanaka T, 2000 Tanaka T, 1997, Tirkey N, 2005). მანდარინის ექსტრაქტი, მაგალითად, ავლებს ნახშირწყლოვანი, ლიპიდური და ოქსიდაციური მეტაბოლიზმის კორექციის, აბდომინალური ცხიმის და სხეულის მასისის შემცირების უნარი (ექსპერიმენტული და კლინიკური კვლევები) (Сихарулидзе М, და სხვ, 2005. Сихарулидзе М.Д, და სხვ., 2006, T. Chanadiri, 2005, Dabrundashvili N. G., et al.,.2010). ბუნებრივი პოლიფენოლები ფენოლური სტრუქტურების შემცველი ფართოდ გავრცელებული მცენარეული წარმოშობის ნაერთებია. ფლავონოიდები წარმოადგენს პოლიფენოლების ყველაზე მნიშვნელოვან ოჯახს, ფართოდ გამოიყენება ტრადიციულ მედიცინაში, ანებითი, კარდიოვასკულური, კიბოს და სხვა დაავადებებისაგან პროტექციის დროს [Di Carlo, et al., 1999; Peterson, J., et al., 2003; Gates, M.A., et al., 2007; Arts, I.C., 2008; Asensi, M., et al., 2011].

ბოლო 15 წლის განმავლობაში ნატურალური ნაერთები (პროპოლისის ექსტრაქტი, ციტრუსების ჰესპერიდინი, ჩაის პოლიფენოლური ნაერთები, წითელი ყურძნის ექსტრაქტი და ა.შ.) იპყრობს მეცნიერების ყურადღებას [Hosseinimehr SJ, et al., 2009]. კვლევები ფოკუსირდება ახალი ეფექტური ფარმაკოლოგიური თვისებების მქონე პოლემენოლების იდენტიფიკაციაზე და მათი მოქმედების მოლეკულური მექანიზმების შესწავლაზე.

თავისი მაღალი გამაჯანსაღებელი თვისებების მიუხედავად, მხოლოდ საკვებ პრუდუქტების სახით ფენოლური ნაერთების მიღება არ უზრუნველყოფს ორგანიზმში მათი საკმარის კონცენტრაციას, აუცილებელი სისტემური თერაპიული ეფექტების გამოვლინებისათვის. წყალში დაბალი ხსნადობა, ცუდი შთანთქმის და ფართო და სწრაფი მეტაბოლიზმის უნარი განაპირობებს ორალურად მიღებული პოლიფენოლების დაბალ სიცოცხლისუნარიანობას და თერაპიულ ეფექტურობას [Chen, J., et al., 2003]. ამ პრობლემების მოგვარება და ფენოლური ნაერთებისაგან სხვადასხვა ფარმაცევტული პრეპარატების შექმნა შესაძლებელია სხვადასხვა

მიდგომების (მაგალითად, ციკლოდექსტრინთან კომოლექსების [Mulholland, P.J., et al., 2001; Pralhad, T., Rajendrakumar, K., 2004,], მარტივი ემულსიების, გელების, ლიპიდური ნანონაწილაკების [Barras, A, et al., 2009, Ragelle, H., et al., 2012] ან ლიპოსომების [Yuan, Z.P., et al. 2006, Seguin, J., et al., 2013] დანერგვით, რომლებიც უზრუნველყოფენ პოლიფენოლების სტაბილიზაციას და გაზრდიან ბიოშეღწევადობას. რიგი კვლევები მიძღვნილია ნანოტექნოლოგიების გამოყენებას პოლიფენოლების ეფექტურობის გაზრდის მიზნით [Khushnud, T., Mousa, S.A., 2013].

სადისერტაციო ნაშრომში შესწავლილია აღნიშნული ნაერთების პროტექტორული აქტივობა, შეჩეულია მათი ოპტიმალური დოზები მაღალეფექტური კომპლექსის შექმნის მიზნით.

Jurkat ტიპის ადამიანის ლიმფობლასტოიდური T უჯრედები ფართოდ დამკვიდრებულ მოდელს წარმოადგენს აპოპტოზური მექანიზმების შესასწავლად და აპოპტოზზე პრეპარატების მაინდუცირებელი ან დამათრგუნველი ზემოქმედების საანალიზოდ.

აპოპტოზის მაინდუცირებელი სიგნალები ორ ძირითად ჯგუფად შეიძლება დაიყოს: პირველნი იწვევენ სიკვდილის მაინდუცირებელი სასიგნალო კომპლექსის ფორმირებას სიკვდილის რეცეპტორების ციტოპლაზმურ ნაწილში, რასაც უჯრედის სიკვდილზე პასუხისმგებელი პროტეოლიზური კასპაზების კასკადის პირდაპირი აქტივაცია მოჰყვება, მეორენი დასაწყისში მიტოქონდრიებიდან აპოპტოგენური ცილების (ციტოქრომი C) გამოთავისუფლებას ახდენენ, თუმცა გამონაკლისის სახით არსებობს უჯრედები, რომლებშიც სიკვდილის რეცეპტორებით ინიცირებული აპოპტოზური სიგნალებიც კი მიტოქონდრია-დამოკიდებული გზით აინდუცირებს უჯრედის სიკვდილს. Jurkat უჯრედები სწორედ ამ უნიკალურ კატეგორიას მიეკუთვნება (Song R. et al., 2004). ოქსიდაციური სტრესით ინდუცირებული აპოტოზის მექნიზმები კი, როგორც გამოკვლევებმა აჩვენა, პირდაპირ კავშირშია მიტოქონდრია-ინდუცირებული აპოპტოზის მექანიზმებთან.

ამგვარად, Jurkat უჯრედების მოდელი საშუალებას გვაძლებს ვაწარმოოთ პოტენციურად პროტექტურული მოქმედების მქონე ნაერთების ერთდროული გაფართოებული სკრინინგი და პირველადი შერჩევა. საშუალება იქმნება დავადგინოთ ამ ნაერთების ეფექტის დამოკიდებულება მათ კონცენტრაციაზე, რაც

ძალზე მნიშვნელოვანია, რადგან აპოპტოზის ინტენსივობის მარეგულირებელი ნაერთების კონცენტრაციის გაზრდასთან ერთად, როგორც წესი, უჯრედთა კულტურაში იცვლება აპოპტოზური უჯრედთა ხვედრითი წილი, მაგრამ გარკვეული კრიტიკული ზღვარის ზემოთ დოზის ზრდა ნეკროზული უჯრედების სიჭარბეს განაპირობებს. ასევე უნდა აღინიშნოს, რომ, როგორც Jurkat უჯრედულ კულტურაში დოზა-დამოკიდებული პასუხის ანალიზმა აჩვენა, აქტიური ნაერთების ის კონცენტრაციები, რომლებიც in vitro აპოპტოზის ინდუცირებისათვისაა საკმარისი, in vivo აპოპტოზის ინდუცირებისათვის ოპტიმალურ კონცნენტრაციებს შეესაბამება (Meyn RE, 1995).

კვლევის მიზანი: ნატურალური წარმოშობის პროტექტორების (მწვანე ჩაის ექსტრაქტების) ეფექტურობის შეფასება და ოპტიმალური პროტექტორული აქტივობის მქონე ნაერთთა კომპლექსის შექმნა და შესწავლა ექსპერიმენტულ უჯრედულ მოდელურ სისტემებში.

კვლევის ამოცანები:

მწვანე ჩაის ექსტრაქტების პროტექტორული აქტივობის შესწავლის მიზნით ოქსიდაციური სტრესის ექსპერიმენტულ მოდელებზე Jurkat უჯრედების კულტურაზე დაგეგმილია შემდეგი კვლევები:

1 Jurkat უჯრედების კულტურაზე სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის მოდელირება და Jurkat უჯრედების სიცოცხლიუნარიანობის შეფასება MTT ტესტის მიხედვით.

2 Jurkat უჯრედების კულტურაზე ოქსიდაციური სტრესის მოდელებზე აპოპტოზის მაჩვენებლის გამოთვლა.

3 Jurkat უჯრედების კულტურაზე ოქსიდაციური სტრესის მოდელებზე ანტიოქსიდანტური პოტენციალის განსაზრვრა (კატალაზას და სოდ-ის აქტივობის მიხედვით).

4 Jurkat უჯრედების კულტურაზე ოქსიდაციური სტრესის მოდელებზე თვისუფალი აზოტის ჟანგის შემცველობის განსაზღვრა.

5. Jurkat უჯრედების კულტურაზე ოქსიდაციური სტრესის მოდელებზე მწვანე ჩაის ექსტრაქტების ციტოპროტექტორული აქტივობის შეფასება (უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის, ანტიოქსიდანტური პოტენციალის, თვისუფალი აზოტისჟანგის შემცველობის და აპოპტოზის მაჩვენებლის მხედვით).

6 შესწავლილი მწვანე ჩაის ექსტრაქტის კომპონენტებიდან ოპტიმალური აქტივობის მქონე ანტიოქსიდანტური აქტივობის მქონე კომპლექსის შექმნა.

7. მასალის სტატისტიკური დამუშავება. რეკომენდაციების შემუშავება შექმნილი პროტექტორული კომპლექსის გამოყენების შესახებ..

ნაშრომის სამეცნიერო სიახლე:

1. პირველად კომპლექსურად შესწავლილია და შეფასებულია მწვანე ჩაის სხვადასხვა ექსტრაქტების ციტოპროტექტორული აქტივობა MTT ტესტის, აპოპტოზის მაჩვენებლების და გამდინარე ციტომეტრიის შედეგების მიხედვით, ნაჩევენებია მწვანე ჩაის სხვადასხვა კომპონენტების განსხვავებული პროლიფერაცია-მასტიმულირებელი და ანტიაპოპტოზური აქტივობა.
2. გამოვლენილია კორელაცია მწვანე ჩაის ექსტრაქტების პროლიფერაცია-მასტიმულირებელი და ანტიაპოპტოზური აქტივობასა და მათი ანტიოქსიდანტური აქტივობას შორის.
3. პირველად გამოყენებულია DPPC და DPPA ლიპოსომები მწვანე ჩაის კატეხინების კომპლექსში; შესწავლილია ლიპოსომების სელექციური ეფექტურობა.

ნაშრომის ძირითადი დებულებები:

მწვანე ჩაის ექსტრაქტები (მწვანე ჩაის საერთო ექსტრაქტი, მწვანე ჩაის კატეხინები, მწვანე ჩაის პექტინი) გამოავლინეს განსხვავებული ეფექტი ინტაქტურ და ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე:

2. შესწავლილ მწვანე ჩაის ექსტრაქტებს შორის კატეხინები ხასიათდებიან ყველაზე მაღალი ციტოპროტექტორული ანტიაპოპტოზური აქტივობით.

3. მწვანე ჩაიდან გამოყოფილი პექტინი არ ავლენს პროლიფერაცია-მასტიმულირებელ აქტივობას, მაგრამ ხასიათდება სუსტი ანტიაპოპტოზური აქტივობით.

4. მწვანე ჩაის ექსტრაქტების ციტოპროტექტორული, პროლიფერაცია-მასტიმულირებელი აქტივობა ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედებზე განპირობებულია ამ ექსტრაქტების ანტირადიკალური, უჯრედების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივაციის უნარით.

5. ლიპოსომები სელექციურად ზრდიან წვანე ჩაის კატეხინების პროტექციულ ეფექტს ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე: DPPC ლიპოსომები მწვანე ჩაის კატეხინების კომპლექსში აძლიერედნენ კატეხინების ციტოპროტექტორულ ეფექტს; DPPA ლიპოსომები მწვანე ჩაის კატეხინებტან კომპლექსში არ ცვლიან ამ ექსტრაქტის ეფექტს საშუალო და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე.

6. ქართული წარმოშობის კატეხინების შემცვლელი მწვანე ჩაის ექსტრაქტი ხელს უწყობს სიმსუქნეს მქონე პაციენტების სხეულის მასის დაქვეითებას და ჰიპერტენზიის კორექციას.

ნაშრომის პრაქტიკული ღირებულება:

1. ჩატარებული კვლევების საფუძველზე დადგინდა მწვანე ჩაის ექსტრაქტების ანტიოქსიდანტური, პროლიფერაცია-მარეგულირებელი და ანტიაპოპტო-ზური აქტივობა ინტაქტური და სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkar უჯრედების მოდელებზე.
2. გამოვლინდა სხვადასხვა ლიპოსომების სელექციური ეფექტი მწვანე ჩაის კატეხინების აქტივობაზე ინტაქტური და სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkar უჯრედების მოდელებზე.
3. დადგინდა ქართული წარმოშობის კატეხინების შემცვლელი მწვანე ჩაის ექსტრაქტის „კამელტინის“ ეფექტურობა სიმსუქნის მქონე პაციენტებში სხეულის მასის და ჰიპერტენზიის კორექციის დროს.

პუბლიკაცია: დისერტაციის თემაზე გამოქვეყნებულია 6 სამეცნიერო ნაშრომი.

ნაშრომის მოცულობა და სტრუქტურა: დისერტაცია მოიცავს შემდეგ თავებს: შესავალი, 3 თავი (ლიტერატურის მიმოხილვა, მასალა და კვლევის მეთოდები, საკუთარი გამოკვლევის შედეგები), შედეგების განხილვა, დასკვნები, პრაქტიკული რეკომენდაციები და ლიტერატურის ნუსხა.

დისერტაცია გადმოცემულია ნაბეჭდ 148 გვერდზე. ნაშრომი ილუსტრირებულია 8 ცხრილით, 20 ფიგურით, ციტირებული სამედიცინო ლიტერატურის ნუსხა შეიცავს 203 დასახელების წყაროს.

თავი I ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1 მცენარეული პოლიფენოლური ნაერთები

მრავალი მტკიცებულებები დაგროვდა რეაქტიული ჟანგბადის ნაერთებისა და სხვა ოქსიდანტების საკვანძო როლის შესახებ სხვადასხვა დაავადებების განვითარებაში. ადამიანის ორგანიზმში საკუთარი ანტიოქსიდანტური დაცვის მექანიზმები გააჩნია, რომლებიც უზრუნველყოფენ თავისუფალი რადიკალების სტაბილიზაციას ან ინაქტივაციას [Nunes PX, et al., 2012] და უზრუნველყოფენ ანტიმუტაგენურ, ანტიკარცინოგენურ დაცვას, არეგულირებენ დაბერების პროცესებს [Gulcin I, 2012; Gocer H, Gulcin I., 2011]. მაგრამ ხშირად შინაგანი ანტიოქსიდანტური სისტემა არასაკმარისია პათოლოგიური ძვრების პრევენციისა ან შეწყვეტისათვის, რაც განაპირობებს ეგზოგენური ანტიოქსიდანტების გამოყენების აუცილებლობას. სხვადასხვა ნოზოლოგიის დროს ოქსიდაციური სტრესის ფონზე ფიქსირდება ბუნებრივი ფერმენტული და არაფერმენტული ანტიოქსიდანტური სისტემების "დეფიციტი", რის შესავსებადაც დგება ეგზოგენური არაფერმენტული ანტიოქსიდანტების გამოყენების აუცილებლობა.

ზემოთქმულიდან გამომდინარე მეცნიერების ყურადღებას იპყრობდა ანტიოქსიდანტური ნაერთების გამოყენების შესაძლებლობის საკითხი სხვადასხვა დაავადებების პრევენციისა და მკურნალობისთვის და ადამიანის ჯანმრთელობის შენარჩუნებისათვის [Halliwell B, Gutteridge JMC., 1981].

ანტიოქსიდანტური თერაპიის მრავალწლიანმა გამოცდილებამ აჩვენა მისი ეფექტურობა მრავალი პათოლოგიური პროცესების მკურნალობის დროს, რაც დამ-ტკიცებულ იქნა უჯრედული და ქსოვილოვანი მეტაბოლიზმის პარამეტრების შესწავლით. ნაჩვენებია ანტიოქსიდანტური თერაპიის დადებითი როლი ქრონიკული ანთებითი პროცესის დროს ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის პროცესების კორექციასა და პრევენციისათვის. ანტიოქსიდანტების დეფიციტთან ასოცირებული იმუნოგლო-ბულინების, მოცირკულირე იმუნური კომპლექსების, ლიზოციმის კონცენტრაციის

მკვეთრი დაქვეითება, კომპლემენტის აქტივობის, ლიმფოციტების ბლასტ-ტრანსფორმირებული ფორმების შემცირება და ჰომეოსტაზის სხვა პარამეტრები ნორმალიზდებოდა ანტიოქსიდანტური თერაპიის ფონზე (ფიქსირდებოდა ლიზოციმის კონცენტრაციის მატება, კომპლემენტის კომპონენტების აქტივაცია).

ანტიოქსიდანტური თვისებების მქონე ეგზოგენური ნაერთების ბიოლოგიური აქტივობის გამოვლინება ხორციელდება თავისუფალი რადიკალების უშუალო ინაქ-ტი-ვა-ციისა და/ან სხვა, ენდოგენური, ანტიოქსიდანტების აქტივობის აღდგენის გზით. ეს მექანიზმები ორივე შემთხვევაში განაპირობებს თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნის პროცესის შეჩერებას. ამ დროს სამედიცინო პრაქტიკაში ანტიოქსიდანტური თვისებების მქონე სინთეზური ნაერთის დანერგვა ხშერად წარუმატებლად თავდება მათი არამდგრადობის, გვერდითი ეფექტის გამოვლინების, ან ორგანიზმის მიერ მათი შეთვისების უუნარიბის გამო.

უძველესი დროიდან მცენარეული მედიკამენტები გამოიყენება სხვადასხვა დაავადების მკურნალობისათვის [Maqsood S, Singh P, Samoon MH, Balange AK, 2010]. უკანასკნელი ათწლეულების მანძილზე თანამედროვე მედიცინაში დიდი მიღწევების მიუხედავად, მცენარეებს კვლავ მნიშვნელოვანი წვლილი შეაქვს ჯანდაცვის სფეროში. სამკურნალო მცენარეების მიმართ დიდი ინტერესი განპირობებულია თუნდაც, მათი ხალხურ მედიცინაში ხანგრძლივი გამოყენებით როგორც სამკურნალო, ასევე პროფილაქტიკური მიზნებით (განსაკუთრებით განვითარებად ქვეყნებში), რაც მეტყველებს მათი სასარგებლო თვისებებისა და ტოქსიკური ეფექტების სიმცირის შესახებ.

დღესდღეობით შესწავლილია მრავალი სამკურნალო მცენარე, დადგენილია მათი ანტიოქსიდანტური თვისებები. ბუნებრივი ანტიოქსიდანტები, მცენარეული წარმოშობის ანტიოქსიდანტური ნაერთების შემცველი ექსტრაქტებისა, ან გამოყოფილი და იდენტიფიცირებული სუფთა ქიმიური ნივთიერებების სახით, ძალიან ეფექტურია ჟანგვითი სტრესით გამოწვეული დესტრუქციული პროცესების მკურნალობისა და პრევენციისათვის [Zengin G, et al., 2011]. მიუხედავად იმისა, რომ მრავალი სამკურნალო მცენარეების ტოქსიკური აქტივობა ხშირად დეტალურად არ არის შესწავლილი და შეფასებული, ზოგადად აღიარებულია, რომ მცენარეული პროდუქტებისგან მიღებული ანტიოქსიდნტური თვისებების მატარებელი

მედიკამენტები უფრო უსაფრთხოა, ვიდრე მათი სინთეზური ანალოგები [Vongtau HO, et al., 2005; Oluyemi KA, et al., 2007]. სწორედ ამიტომ, მნიშვნელოვანია იმ საკვები მცენარეების შემადგენელი აქტიური კომ-პონენტების შესწავლა, რომლებიც საუკუნეების მანძილზე შეადგენდნენ ადამიანების კვე-ბითი ქცევის საფუძველს.

ყოველი ერის კვებითი ჩვევები საუკუნეების განმავლობაში ყალიბდებოდა არა მარტო სხვადასხვა გემოს (ორგანოლეპტიკური თვისებების) მქონე საკვები პროდუქ-ტების ჩამონათვალის სახით, არამედ ამ პროდუქტების სასარგებლო თვისებების, მრავალი პათოლოგიური მდგომარეობის პრევენციის/კორექციის უნარის გათვალისწინებით (Chandra Ranjit Kumar, 1996.). კვებითი ქცევის მოდელი მკვეთრად შეიცვალა ბოლო საუკუნის მანძილზე და ამ ცვლილებებს განიხილავენ სიმსუქნის, კარდიოვასკულური დაავადებების, ათეროსკლეროზისა და სხვა დაავადებების განვითრების ერთ-ერთ ეტიოლოგიურ ფაქტორად (Дедова И.И., Мельниченко Г.А., 2004). აქედან გამომდინარე, მიზანშეწონილია სწორედ ტრადიციული საკვები მცენარეების აქტიური ნივთიერებების გამოკვლევა შემდგომში მათი პროფილაქტიკური და, შესაძლოა, თერაპიული ეფექტების გამოყენების მიზნით.

ბოლო წლებში ინტერესი ბუნებრივი ანტიოქსიდანტური ნაერთების კვების, კოსმეტოლოგიისა და ფარმაცევტულ სფეროში გამოყენებისადმი მნიშვნელოვნად გაიზარდა მათი მრავლრიცხოვნობის, მრავალფეროვნების და მრავალმხრივი აქტივობის გამო. ისინი გამოიყენება სხვადასხვა მწვავე და ქრონიკული დაავადების (როგორიცაა დიაბეტი, ათეროსკლეროზი, დაბერება, იმუნოსუპრესია და ნეიროდეგე-ნერაცია) პათოგენეზში მონაწილე თავისუფალ რადიკალური ჟანგვის პროცესების განეიტრალების მიზნით (Harman D,, 1998).

ბუნებრივი ანტიოქსიდანტური ნაერთები ფართოდ გამოიყენება ფარმაცევტულ და კოსმეტიკურ წარმოებაში, რადგან ისინი მრავალმხრივი და მკვეთრად გამოხატული აქტივობით და უზარმაზარი ზემოქმედების სპექტრით ხასიათდებიან [Djeridane A, et al., 2006, Wannes WA, et al., 2010].

ბოლო 20 წლის განმავლობაში ნატურალური ნაერთები (პროპოლისის ექსტრაქტი, ციტრუსების ჰესპერიდინი, ჩაის პოლიფენოლური ნაერთები, წითელი ყურძნის ექსტრაქტი და ა.შ.) იპყრობს მეცნიერების ყურადღებას [Hosseinimehr SJ, et al., 2009; Guo S, et al., 2010; Hu Y, et al., 2011]. კვლევები ფოკუსირდება ახალი

ეფექტური ფარმაკოლოგიური თვისებების მქონე ნაერთების იდენტიფიკაციაზე და მათი მოქმედების მოლეკულური მექანიზმების შესწავლაზე.

ცნობილია, რომ მცენარეებში ფიტოქიმიურ ნივთიერებათა ფართო სპექტრი სინ-თეზირდება, მათ შორის, პოლიფენოლების წარმომადგენლები ფლავონოიდების (კატექინები, ანტოციანები და სხვა) და ფენილპროპანოიდების (ქლოროგენის მჟავა და სხვა) სახით, რომლებსაც გააჩნია უჯრედებს შორის სიგნალების გადაცემის და გენების ექსპრესიაზე ზემოქმედების უნარი (Spencer JP, et al., 2009; Kim MK, et al., 2005; Pollard SE, et al., 2006). ამავე დროს, დადგენილია, რომ ეს ნაერთები სრულიად უვნებელია ნორმალური უჯრედების მეტაბოლიზმისათვის. ფიტოქიმიური ნაერთების დიფერენცირებული ზემოქმედება ნორმალურ და დაავადებულ უჯრედებზე განპირობებულია მათ მაღალი რედოქს-მგრძნობელობით, მათი ოქსიდაციური მეტაბოლიზმის რეგულაციისა და დეტოქსიკაციური სისტემების აქტივობაზე ზემოქმედიბის უნარით (Kahle KA, Foley JP., 2007; Kahle KA, Foley JP., 2006; Tabernero M, et al., 2007; Fini L, et al., 2007; Fini L, et al., 2008; Rudolf E, et al., 2007; Corona G, ry al., 2007; Linsalata M, Russo F., 2008; Spencer JP, et al., 2009; Spencer JP., 2009; Spencer JP., 2010; Spencer JP., 2007). მცენარეულ ექსტრაქტებზე ჩატარებულმა კვლევებმა ცხადყოფს მათ შემადგენლობაში შემავალი ანტიოქსიდანტური ნაერთების, როგორიცაა ფენოლები, ფლავონოიდები, ტანინები და პროანტოციანიდინები, სამკურნალო ეფექტურობას.

ბუნებრივი პოლიფენოლები ფართოდ გავრცელებულია მცენარეულ სამყაროში და განისაზღვრება როგორც ორგანული ქიმიური ნივთიერებები, რომლებიც ხასიათდება ერთი ან მეტი ფენოლური ერთეულის შემცველობით. პოლიფენოლები ჩვეულებრივ იყოფა რამდენიმე კლასად, მათი ძირითადი ქიმიური სტრუქტურების მიხედვით: ფენოლურ მჟავები, სტილბენები, ლიგნანები და ფლავონოიდები. ფლავონოიდები წარმო-ადგენს მცენარეული ანტიოქსიდანტური ნაერთების ყველაზე მნიშვნელოვან ოჯახს. ჯერჯერობით გამოვლენილია დაახლოებით 6000 ფლავონოიდების მოლეკულა. ეს ნაერთები, მცენარეების მეორადი მეტაბოლიტებია, მონაწილეობენ სოცოცხლისათვის მნიშვნელოვან მეტაბოლურ პროცესებში (ზრდა-პროლიფერაცია, ულტრაიისფერი გამოსხივებიდან დაცვა და ა. შ.), ჩართულია ყვავილების გამტვერიანობის პროცესების რეგულაციაში ანთოციანინის პიგმენტების მკვეთრი შეფერილობის გამო.

პოლიფენოლების ინტენსიური შესწავლა ნაწილობრივად განპირობებულია მეცნიერების სამკურნალო მცენარეების მიმართ განსაკუთრებული ინტერესით [Cody, V., et al., 1986; Havsteen, B.H.,.2002; Winkel-Shirley, B., 2002]. ეს ნაერთები ფართოდ გამოიყენება ტრადიციულ მედიცინაში, მათი პოტენციური ეფექტურობის გათვალისწინებით, ასეთი დაავადებების მკურნალობაში, როგორიცაა კანცერი, კარდიოვასკულური და სხვადასხვა ანთების ფონზე მიმდინარე პათოლოგიები [Di Carlo, G.; et al., 1999; Nijveldt, R.J., et al., 2001; Arts, I.C., 2008; Gates, M.A., et al., 2007; Peterson, et al., 2003; Asensi, M., et al., 2011].

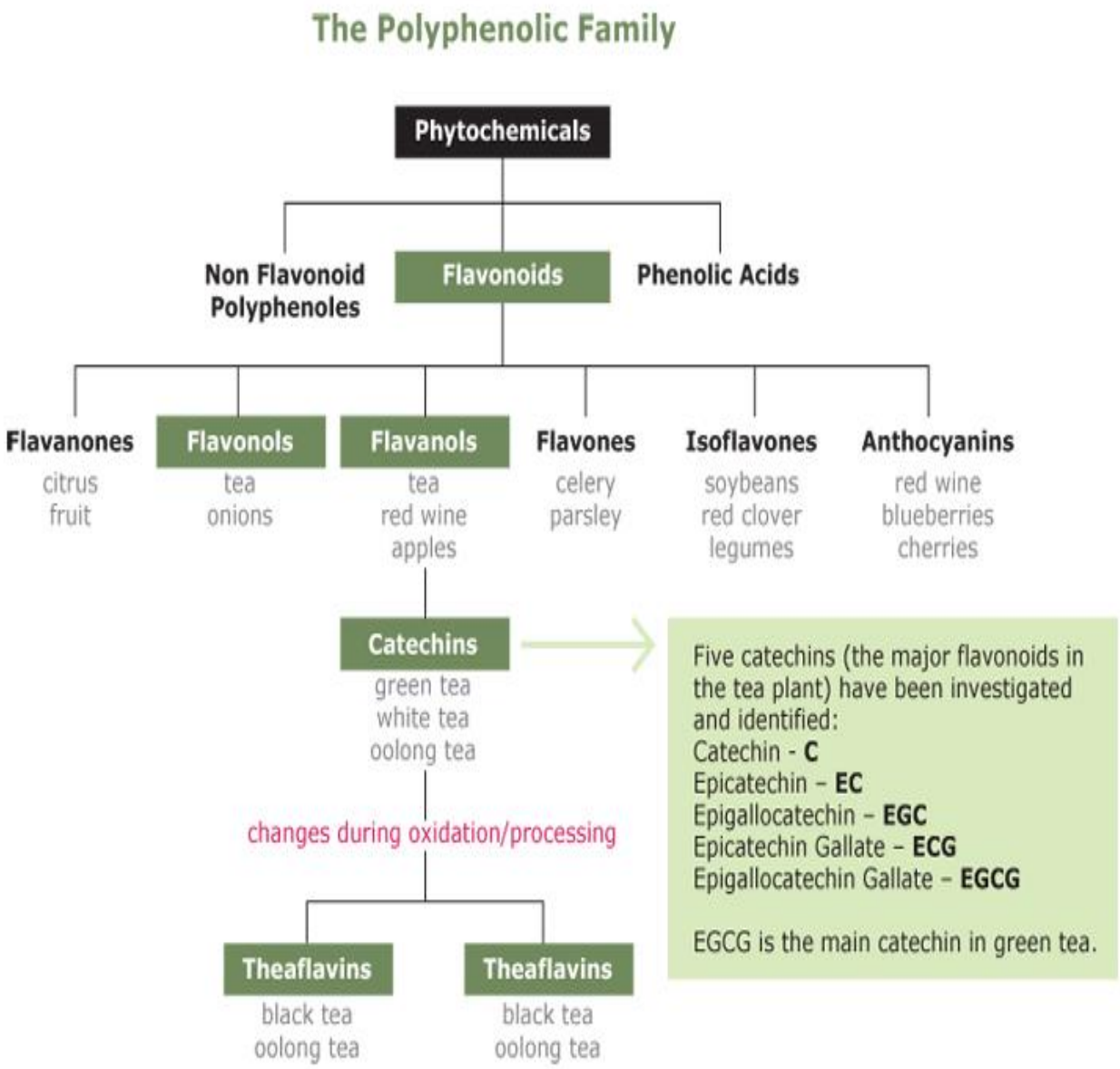
ადამიანები ყოველდღიურად ღებულობენ პოლიფენოლებს მწვანე ბოსტნეულის, ხახვის, ხილის (ვაშლი, ყურძენი, მარწყვი და სხვ.), სოიოს, ლობიოს (იზო-ფ-ლავო-ნოიდები) და სხვა პროდუქტების და სასმელების (ყავა, ჩაი, ლუდი და წითელი ღვინო) სახით. პოლიფენოლების მოხმარება ვარიერებს სხვადასხვა ქვეყნებში [Manach, C., et al., 2004; http://www.ars.usda.gov/nutrientdata]. ადამიანის მიერ ფლავონოიდების საშუალო მოხმარება მერყეობს 3-დან 68-დე მგ/დღეში, რაც საშუალოდ შეადგენ 23 მგ/დღეში [Aherne, S.A.; O'Brien, N.M., 2002]. ხილზე (ძირითადად ვაშლი და მარწყვი) და ბოსტნეულზე (მაგალიღად, კარტოფილი, წვანე ხახვი) მოდის პოლიფენოლების მიღების დაახლოებით 28%-ი. ზოგიერთი ავტორის აზრით, პოლიფენოლების ყოველდღიური მოხმარება მნიშვნელოვნად ვარიერებს სხვადასხვა ქვეყნებში და ზოგიერთ ქვეყანაში გაცილებით უფრო მაღალია, კერძოდ, შეადგენს 150-დან 1000-მდე მგ/დღეში [Scalbert, A., Williamson, G., 2000]. მაგალითად, საფრანგეთში პოლიფენოლების მთლიანი მოხმარება შედარებით მაღალია და დღეში შეადგენს 300 მგ-ს დრეში [Brat, P., et al., 2006].

ვინაიდან ხილი, ბოსტნეული, ჩაი, ყავა და წითელი ღვინო მდიდარია პო-ლიფენოლებით, ეს პროდუქტები წარმოადგენენ მეცნიერების ინტენსიური კვლევების ობიექტს. კვლევები ფოკუსირდება ახალი ეფექტური ფარმაკოლოგიური თვისებების მქონე პოლიფენოლების იდენტიფიკაციაზე და მათი მოქმედების მოლეკულური მექანიზმების შესწავლაზე [Scalbert, A., Williamson, G., 2000; Brat, P., et al., 2006; Tsao, R., 2010; D'Archivio, Met al., 2010; Haslam, E.; Cai, Y., 1994, Chen, J., et al., 2003].

პოლიფენოლის ქიმიური თვისებების დახასიათება ძნელია, რადგან ისინი დამოკიდებულია მოლეკულაში ფენოლური რგოლების და არომატულ რგოლებში

ჰიდროქსილური ჯგუფების რაოდენობაზე [Tsao, R., 2010]. ქიმიური სტრუქტურის გარდა, საკვებ პროდუქტებში შემავალი ფენოლების ბიოშეღწევადობა და ბიოაქტივობა დამოკიდებულია მცენარეთა მოსავალზე, გადამუშავების მეთოდებზე, გადამამუშავებული პროდუქტების შენახვის პირობებზე, ფენოლური ნაერთების ექ-სტრაქტში არსებულ სხვა ნაერთებთან ურთიერთქმედებაზე, და აგრეთვე მომხმარე-ბელი/პაციენტის ფიზიოლოგიურ მდგომარეობაზე (ისეთ ფაქტორებზე, როგორიცაა სქესი, ასაკი ან ჯანმრთელობის მდგომარეობა) [D'Archivio, M.; et al., 2010; Haslam, E.; Cai, Y., 1994].

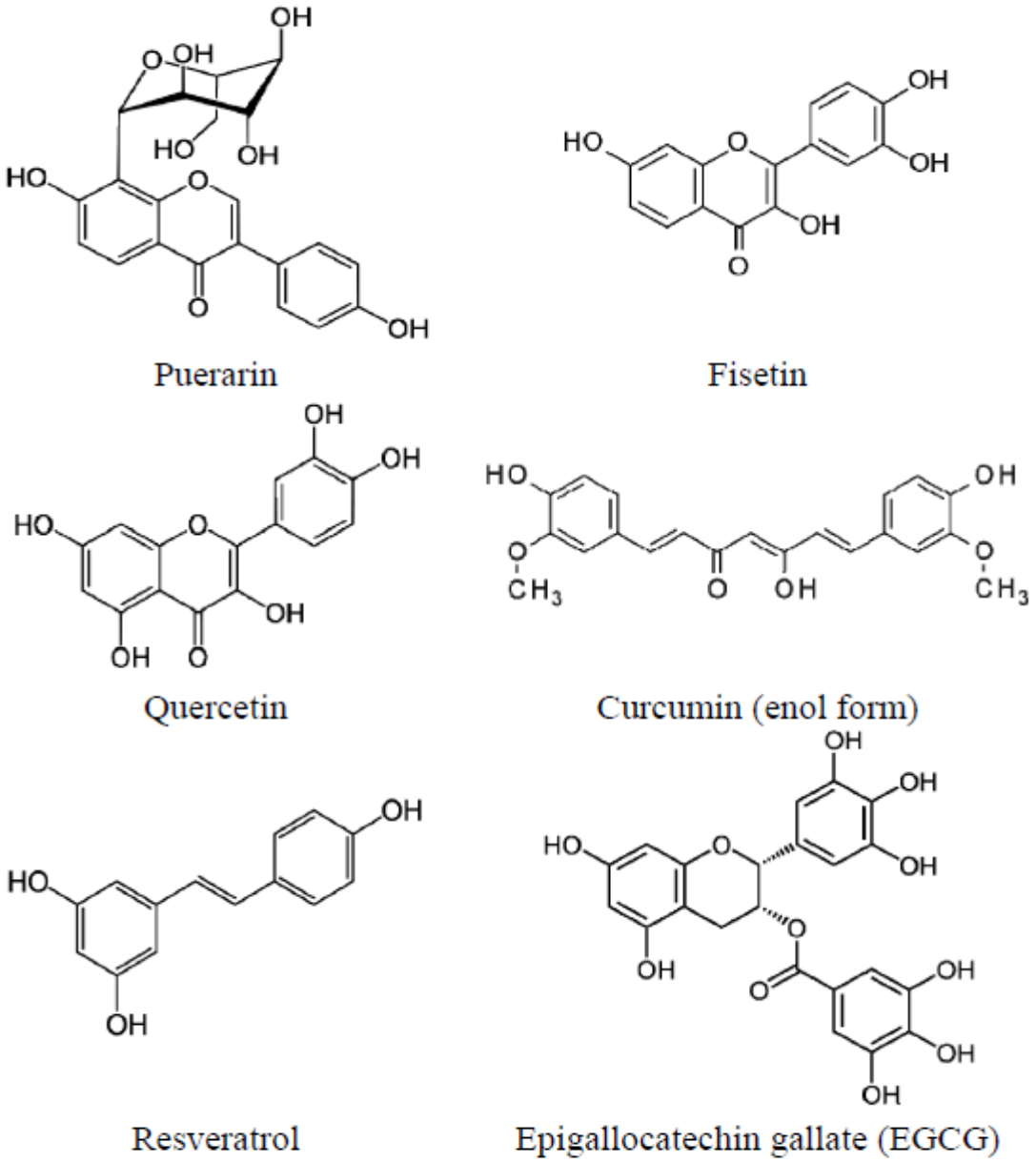
ფიგურაზე 1 მოცემულია პოლიფენოლური ნაერთების სქემა,



ფიგურა 1

პოლიფენოლური ნაეერთების სქემა

ფიგურაზე 2 მოცემულია ზოგიერთი ფენოლების ქიმიური სტრუქტურა.



ფიგურა 2

ზოგიერთი პოლეფენოლების ქიმიური სტრუქტურა

1.2. მწვანე ჩაის კატეხინები

მეცნიერების განსაკუთრებულ ინტერესს იპყრობს და აქტიურად შეისწავლება ჩაის ბუნებრივი პოლიფენოლების ჯგუფი, რომლითაც მდიდარია მცენარის ფოთოლი. ჩაის ფლავინები, ტანინები და ფლავონოიდები.

მწვანე ჩაი ბოლო წლებში იპყრობს ყურადღებას მისი ჯანმრთელობისთვის სასარგებლო თვისებებისა და სხვადასხვა დარღვევებისაგან (კანცერი, სიმსუქნე და ა. შ.) პრევენციის უნარის გამო. ამ გარემოებამ განაპირობა ჩაის მოხმარების სწრაფი ზრდა, როგორც პაციენტების, ასევე ჯანმრთელი მოსახლეობის მიერ, და ასევე, მწვანე ჩაის ექსტრაქტში შემავალი ინგრადიენტების, სხვადასხვა კვების დანამატებში, მათ შორის მულტივიტამინურ კომპლექსებში ჩართვა.

ისტორიულად, მწვანე ჩაის პირველი მომხმარებლები იყვნენ ჩინელები და იაპონელები. მწვანე ჩაი აღმოჩენილ იქნა ჩინეთში ჩვენ ერამდე 3000 წლის წინ, გამოვლენილია მისი სამედიცინო ეფექტები (Yang, C.S., et al., 2014; Suzuki, T., et al., 2016). რამოდენიმე ათასი წლის წინ მწვანე ჩაი ბუდისტი მღვდელების მიერ გადატანილ იყო იაპონიაში. 1211 წელს იაპონიაში გამოქვეყნდა წიგნი "Kitcha-Yojoki" („ჩაი და ჯანმრთელობის ხელშეწყობა“), სადაც აღწერილი იყო ჩაის ფოთლების კრეფის მეთოდოლოგია, ჩაის წარმოების პროცესები და ჩაის ფარმაკოლოგიური ეფექტები. მე-XVII-XVIII საუკუნეებში იაპონიაში წიგნში "იოხოკუნში" („ჯანმრთელობის ხელშეწყობის გაკვეთილები“) აღწერილია მწვანე ჩაის ეფექტები, მათ შორის მწვანე ჩაის ხანგრძლივი გამოყენების უარყოფითი ეფექტები (რადგან ჩაი იწვევს სხეულის ცხიმის კატაბოლიზმს (Kaibara, E. Yojokun, 2008]). თუმცა, ეს პოტენციური ეფექტი დღესდღეობით შეიძლება გამოყენებული იყოს სიმსუქნის პრევენციისათვის.

სავარაუდოდ, ჩაი ყველაზე მეტად გამოყენებადი სასმელი აზიურ საზოგადოებაში.

ჩაის შემადგენლობა რთულია. ის შეიცავს ცილებს (მშრალი მასის 15-20%), ამინმჟავეებს (მშრალი მასის 1-4%) - თეანინი, 5N-ეთილგლუტამინი, გლუტამინის მჟავა, ტრიფტოფანი, სერინი, გლიცინი, ასპარტატის მჟავა, თიროზინი, ვალინი,

ლეიცინი, თრეონინი, არგინინი და ლიზინი, და ნახშირწყლებს (მშრალი მასის 5-7%), როგორიცაა ცელულოზა, პექტინი, გლუცოზა, ფრუქტოზა და სურკოზა, აგრეტვე მინერალებს და მიკროეკემენტებს (მაგნეზიუმი, კალიუმი, მანგანუმი, რკინა, სპილენძი, ცინკუმი, მოლიბდენიუმი, სელენიუმი, ფოსფოტი, კობალტი, სტრონციუმი, ნიკელი, კალიუმი, ფტორი, და ალუმინიუმი - მშრალი მასის 5%), ლიპიდებს მცირე რაოდენობით (ლინეოლურ და α-ლინეოლირ მჟავას), სტეროლებს (სტიგმასტეროლი), პიგმენტებს (ქლოროფილი, კაროტინოიდები) და არასტაბილურ ნაერთებს (ალდეჰიდებს, ალკოჰოლს, ეთერებს, ლაქტონებს ჰიდროკარბონებს) (ცხრილი 1) [Belitz DH, Grosch W., 1997; Graham HN., 1992].

მწვანე ჩაის პოლეფონოლები - ფლავანოლები, ფლავონდიოლები, ფლავონოიდები და ფენოლურო მჟავები (მშრალი წონის 30%). მწვანე ჩაის პოლიფენოლების უმრავლესობა - ფლავონოლებია, ცნობილი კატეხინების სახელწოდებით. მწვანე ჩაიდან მიიღება ძირთადათ თხევადი ან მშრალი ექსტრაქტები პოლეფენოლების განსხვავებული შემცველობით (45-90%) და კოფეინი (0.4 – 10%).

ჩაის შემადგენელი კომპონენტები (კატეხინები, კოფეინი, თეანინი და γ-ამინოობიტურის მჟავა და ვიტამინი C), ხასიათდება ჯანმრთელობისათვის სასარგებლო სპეციფიკური ეფექტებით (Yang, C.S., ry al., 2016; Wang, S., et al., 2014, Yang, C.S., et al., 2016).

კატეხინები (ფიგურა 3), რომლებიც პოლიპენოლის ნაერთებს მიეკუთვნებიან, ხასიათდებიან ანტიკანცეროგენული, სიმსუქნის საწინააღმდეგო, ანტიათეროსკლეროზული, ანტი-დიაბეტური, ანტი-ბაქტერიული, ანტივირუსული და ანტი-ანტებითი ეფექტით [Yang, C.S., et al., 2014; Suzuki, T., Miyoshi, N., et al., 2016; Miyoshi, N., et al., 2015; Yang, C.S., et al., 2016].

კოფეინი ხელს უწყობს სიფხიზლეს, ამცირებს დაღლილობის შეგრძნებას და აქვს დიურეზული ეფექტი [Suzuki, T., et al., 2016; Miyoshi, N., et al., 2015].

თეანინი და γ-ამინოობიტური მჟავა აქვეითებენ არტერიულ წნევას და არეგულირებენ თავის ტვინისა და ნერვული სისტემის ფუნქციონირებას [Suzuki, T., et al., 2016; Miyoshi, N., et al., 2015].

ვიტამინი C ხასიათდება ანტისორბციული აქტივობით, ხელს უშლის კატარაქტის განვითარებას და აძლიერებს იმუნურ სისტემას [Suzuki, T., et al., 2016; Sorice, A., et al., 2014].

ცხრილი 1

მწვანე და შავი ჩაის შემადგენლობა

ნაერთები	**შავი ჩაი**	**მწვანე ჩაი**	**შემადგენლობა**
ცილა	15	15	მცირე რაოდენობა / მშრალი მასის %
ამინომჟავები	4	4	3.5
ფიბრები	26	26	0
სხვა ნახშირწყლები	7	7	4
ლიპიდები	7	7	Trace
პიგმენტები	2	2	Trace
მინერალები	5	5	4.5
ფენოლური ნაერთები	30	5	4.5
დაჟანგული ფენოლური ნაერთები	0	25	4.5

მწვანე ჩაის სასრგებლო ეფექტი ყველაზე მეტად განპირობებულია მასში შემავალი პოლიფენოლური ნაერთებით, კერძოდ კატეხინებით, რომლებიც შეადგენენ ჩაის მშრალი წონის თითქმის 30%-ს (Graham, H.N., 1992).

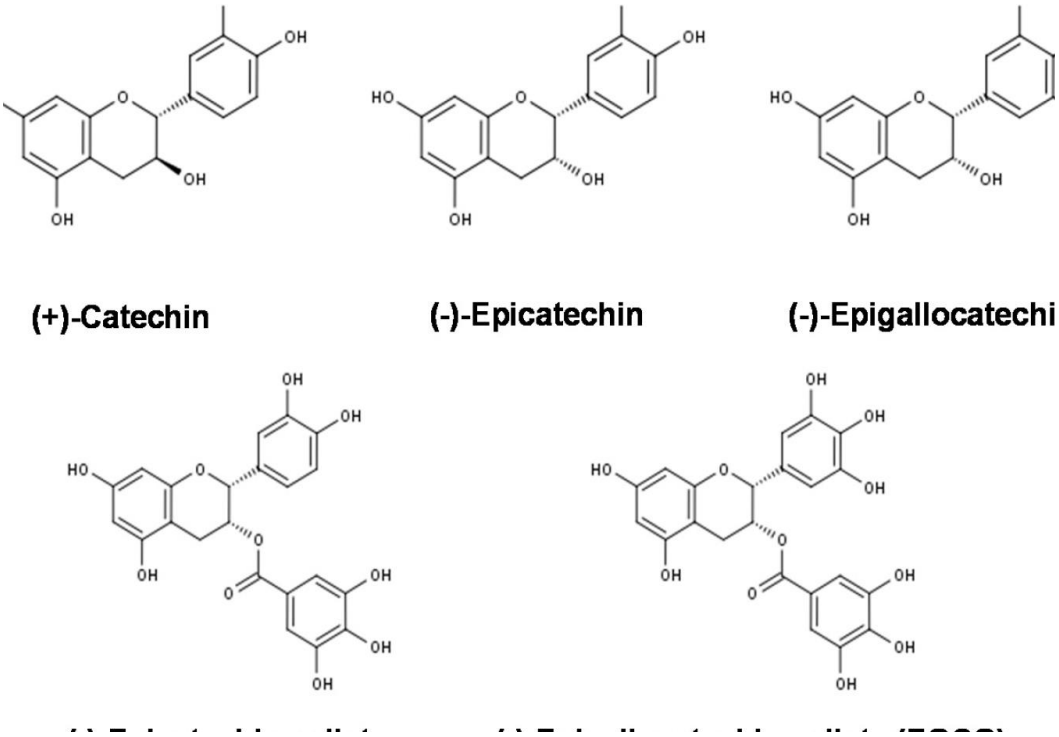
კატეხინების შემცველობა მწვანე ჩაიში ბევრად აღემატება მის შემცველობას შავ ჩაიში, რაც დაკავშირებულია ჩაის ფოთლების მოსავლის აღების შემდეგ გადამუშავების მეთოდოლოგიების განსხვავებით. მწვანე ჩაის ნედლი ფოთლები მოსავლის აღების შემდეგ ექვემდებარება ორთქლზე გატარებას და გაშრობას ფერმენტ პოლიფენოლოქსიდაზას ინაქტივაციის მიზნით, რომელიც უზრუნველყოფს ფენოლების მონომერული ფორმის შენარჩუნებას. შავი ჩაის ფოთლები ექვემდებარება ინტენსიურ ფერმენტაციას, რაც განაპირობებს ნაერთების პოლიმერიზაციას.

მწვანე ჩაიში ცნობილია რამოდენიმე პოლიფენოლური კატეხინები - (-)ეპიკატეცინი, (-)ეპილატეხინი-3-გალატი, (-)ეპიგალოკატეხინი, (-)ეპიგალოკატეხინი-3-გალატი და (+)კატეხინი. (-)ეპიგალოკატეხინი-3-გალატი მეტად გავრცელებული მწვანე ჩაის კატეხინია, შეადგენს მწვანე ჩაის კატეხინების 65%-ს. მწვანე ჩაის 1 ფინჯანი შიეცავს (-)ეპიგალოკატეხინი-3-გალატის 100-200 მგ-ს; კატეცინები და გალოკატეხინბი წარმოდგენილია ძალიან მცირე რაოდენობით (Chu, D.-C., Juneja, L.R., 1997). მწვანე ჩაის სასარგებლო თვისებები მეტად დაკავშირებული ეპიკაეტეხინებთან, ვიდრე კატეხინებთან.

მწავანე ჩაის და მისი შემადგენელი კომპონენტების ცოცხალ ორგანიზმზე დადებითი ეფექტი მრავალმხრივია და უკავშირდება ასეთი დაავადებების მსვლელობაზე დადებით ზემოქმედებასთან, როგორიცაა კანცერი, კარდიოვასკულური და ნეიროდეგენერაციული დაავავდებები.

მთელი რიგი ეპიდემიოლოგიური კვლევები, ასევე როგორც ექსპერიმენტები ცხოველებზე მოწმობენ, რომ მწვანე ჩაის კატეხინები უზრუნველყოფენ პროტექციას კანის, ძუძუს, პროსტატას და ფილტვის კიბოს წინაამღდეგ (Mukhtar, Et al., 2002). ასაკდამოკიდებული პათოლოგიათა შორის აღსანიშნავია მწვანე ჩაის კომპონენტების მნიშვნელოვანი პროტექციული ეფექტები პარკინსონის, ალცჰეიმერის დაავადების, იშემიური დაზიანების დროს (Mandel, S., Youdim, M.B., 2004). მწვანე ჩაი ავლენს აგრეთვე ანტიდიაბეტურ ეფექტებს ინსულინორეზისტენტულ ცხოველებზე

ექსპერიმენტულ მოდელებში (Wu, L.Y., et al., 2004), ანტიბაქტერიულ, ანტიასაკობრივ,



ფიგურა 3

მწვანე ჩაის კატეხინების სტრუქტურა

ანტიანტებით აქტივიბას (Stapleton, P.D., et al., 2004; Nance, C.L., Shearer,W.T., 2003, Esposito, E., et al., 2002; Dona, M., et al., 2003.). მწვანე ჩაის კატეხინების ცოცხალ ორგანიზმზე სამკურნალო ეფექტები დაკავშირებულია, ძირითადათ, მათში შემავალი ნაერთების ანრიოქსიდანტურ აქტივობასთან და პოლიფენოლური კატეხინების ჟანგბადის რეაქციული ნაერთების შეკავშირების უნარიანობასთან (Yang, C.S., et al., 2002). ეს თვისებები განპირობებულია ფენოლურ რგოლში პოლიფენოლური ჰიდროქსილური ჯგუფის არსებობით.

მწვანე ჩაის და მწვანე ჩაის კატეხინების ცოცხალ ორგანიზმზე დადებითი ეგექტები ეფუძნება ამ ნაერთების მოქმედების უნარს პირდაპირი და არპირდაპირი მექანიზმების საშუალებით [Yang, C.S., et al., 2016]. მწვანე ჩაის კატეხინების მოქმედების პირდაპირი მექანზმი მოიცავს საჭმელმომნელებელ სისტემაზე ზემოქმედებას, საკვების აბსორბციის პრევენციის, საჭმელმომნელებელი სისტემის ფერმენტების ინჰიბიციის, მიკროფლორის ცვლელების გამომწევ მოქმედეას, ხოლო არაპირდაპრი მექანიზმები ხორციელდება სხვადასხვა ქსოვილებში (ღვიძლის, კუნთოვანი და ადიაპოზური ქსოვილის ჩათვლით) გენების და ცილების ექსპრესიის მოდულაციის გზით.

მთელი რიგი კვლევები მომწმობენ იმის შესახებ, რომ მწვანე ჩაის კატეხინები საჭმელმომნელებელ ტრაქტში აბსორბციის პროცესების დაქვეითების და ფერმენტების ინჰიბიციის გზით უზრუნვეკყოფენ სისმსუქნის კორექციას, მაგალითად, დადგინდა, რომ კალორიულ დიეტაზე მყოფი ვირთაგვებში მწვანე ჩაის კატეხინების 4 კვირიანი მიღების ფონზე ქვეითდება სხეულის და ადიპოზური ქსოვილის მასა [Unno, T., et al., 2009]. ამ ექსპერიმენტებში საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვებში მიღებული სახამებელის მხოლოდ 0.1% გამოიყოფოდა განავალთან ერთად, მაშინ, როდესაც მწვანე ჩაის კატეხინების ფონზე გამოყოფილი სახამებელის რაოდენობა იზრდებოდა 4.8%-მდე. ამ შედეგების შესაბამისად ნაჩვენები იქნა, რომ მწვანე ჩაის კატეხინები აინჰიბირებენ პანკრეასის ლიპაზას (Grove, K.A., et al., 2012; Yuda, N., et al., 2012].

Ikeda და თანაავტორებმა აჩვენეს, რომ მხოლოდ გალოიზირებული კატეხინები თრგუნავენ ჰიპერტრიაცილგლიკემიას და ამცირებენ ტრიგლიცერიდების შთანთქმას პანკრეას ლიპაზას ინჰიბიციის გზით [Ikeda, I.,. et al., 2005]. Fei და თანაავტორებმა

გამოავლინეს, რომ ჩაის პოლიფენოლები ავლენენ პანკრესის α-ამილაზაზე მაინჰიბერებელ ეფექტს (Fei, Q., et al., 2014).

ცხელ წყალში დამზადებული შავი ჩაის ექსტრაქტი შეიცავს ლიპაზას ინჰიბიციის უნარის მქონე პოლიფენოლებს და შეიძლება გამოყენებულ იქნას სხეულის მასის შემცირების მიზნით ლიპიდების შთანთქმისა და გადამუშავების შემცირების (Walkowiak, J., et al., 2013), კუნთოვანი უჯრედების მემბრანაში გლუკოზას შთანთქმისა და ტრანსპორტის სტიმულაციის (Nishiumi, S., et al., 2010) ხარჯზე.

მთელი რიგი კვლევები მოწმობენ მეტაბოლიზმის რეგულაციაში მწვანე ჩაის კატეხინების გენების დონეზე მონაწილეობის შესახებ. ნაჩვენები იქნა, რომ კატეხინებით მდიდარი დიეტა ზრდის acyl-CoA-ს გენის ექსპრესიას ღვიძლში, რაც თავის მხრივ, ზრდის β-ოქსიდაციის ინტენსივობას ღვიძლში და ამცირებს ცხიმის აკუმულაციას (Murase, T., et al., 2002). სხვა კვლევებით ნაჩვენებია, რომ მწვანე ჩაის კატეხინები თრგუნავენ ადიპოგენეზის პროცესში მონაწილე გენების და ცილების ექსპრესიას (CCAAT/შემაერთებელი ცილის (C/EBPα), პეროქსისომ-მაპროლიფერებელი რეცეპტორის (PPAR-γ), და ღვიძლის X რეცეპტორის ჩათვლით (LXR-α)), და ლიპოგენეზის ინტენსივობის მარეგულირებელი გენების და ცილების ექსპრესიას (ცხიმოვანი მჟავას სინთაზა (FASN), ჰიდროქსილმეტილგლუტარილ-CoA რედუქტაზა (HMGR), აცეტილ-CoA კარბოქსილაზა(ACC), სტეროლ მარეგულირებელი ელემენტის შემაერთებელი ცილა (SREBP)-1c, და სტეროილ-CoA დესატურაზა-1 (SCD-1)).

მწვანე ჩაის კატეხინები ავლენენ სიმსუქნის საწინაამრდეგო ეფექტს TNF-α-სა და IL-1β-ს ექსპრესიის დათრგუნვის მეშვეობით, ვინაიდან, როგორც ცნობილია, ეს პროანთებითი ციტოკინები ხელს უწყობენ სტეროლ-მარეგულირებელი შემაერთებელი ცილის (SREBP-1) გენის ექსპრესიას და SREBP-1 ცილის სინთეზს [Liu, J., 2014; Zhang, G., et al., 2011; Lei, X., et al., 2014]. ცნობილია, რომ SREBP-ი ასრულებს საკვანძო როლს ლიპიდების ბიოსინტეზში ჩართული გენების ექსპრესიაში.

მწვანე ჩაის კატეხინების ანტიოქსიდანტური აქტივობა აგრეთვე ვლინდება ამ ნაერთების სიმსუქნის საწინაამღდეგო მექანიზმებში. ჟანგბადის რეაქციული

ნაერთები უზრუნველყოფენ ბირთვული ფაქტორის κB-ს სტიმულაციას, რაც ხელს უწყობს პროანთებითი ციტოკინების ექსპრესიას (TNF-α და IL-1β) [Hayakawa, S., et al., 2016]. Takano და თანაავტორებმა შეისწავლეს EGCG მაინჰიბირებელი ზემოქმედება ალერგიული ეტიოლოგიის ანთებით კერაში ნეიტროფილების ქემოტაქსისზე; აღნიშნული მექანიზმი უკავშირდება კატეხინების ანთების საწინააღმდეგო თვისებებს (Takano K, et al. 2005).

მრავალ ექსპერიმენტული კვლევა მიძღვნილია კატექინების ანტიოქსიდანტური აქტივობის შესწავლას (Cao GH, et al., 1997; Rice-Evans CA, et al., 1995); დადგენილია, რომ კატეხინების ანტიოქსიდანტური აქტივობა აღემატება ასკორბინის მჟავას (ვიტამინი A) და ტოკოფეროლის (ვიტამინი E) აქტივობას, როგორც წყალში ხსნად, ასევე ცხიმში ხსნად ფაზაში. არსებობს მონაცემები, რომ ფლავონოიდები აინჰიბირებენ ჟანგბადის რეაქციული ნაერთების წარმომქმნელ ფერმენტებს, რომლებიც მონაწილეობენ ლიპოოქსიგენაზას, ციკლოოქსიგენაზას, მონოოქსიგენაზას, ქსანტინ-ოქსიდაზას, NADPH-ოქსიდაზას კასკადის რეაქციებში (Cao GH, Sofic E, Prior RL. 1997). ასევე კატექინებს გააჩნია ცვალებადი ვალენტობის მეტალების აღდგენის უნარი, რითიც ეწინაამღდეგებიან თავისუფალი ჟანგბადის რადიკალების წარმოქმნას ჰაბერ-ვაისის და ფენტონის რეაქციების საშუალებით (Singh D, et al., 2005).

კატექინების ანტიოქსიდანტური ეფექტი ვლინდება თავისუფალი რადიკალების პირდაპირი დეტოქსიკაციით, და არაპირდაპირი ანტიოქსიდანტურ აქტივობით ტრანსკრიპციული ფაქტორებისა და ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივაციის გზით (Higdon J.V., Frei B. 2003). შეიძლება ითქვას, რომ პირდაპირი ეფექტის გამოვლინებისას მწვანე ჩაის კატეხინები, როგორც ანტიოქსიდანტური ანიონები, ბოჭავენ რადიკალებს პროტონების დისოციაციის გზით (Wang LF, Zhang HY. 2005).

დადგენილ იქნა, რომ კატექინები ახდენენ UF-1 ლეიკემიური უჯრედების კულტურის დაცვას აპოპტოზისაგან [Doss MX, et al., 2005), რაც განაპირობებული მათი მიტოქონდრიის მემბრანული პოტენციალის ნორმალური მნიშვნელობის შენარჩუნების უუნარით (Nakazato T, შ et al. 2005).

ვირთაგვის ჰეპატოციტიდან იზოლირებული მიტოქონდრიებისა და მათზე მწვანე ჩაის ფლავონოიდების, მათ შორის კატექინების, ზემოქმედების ეფექტების

შეწავლისას, დადგინდა, რომ კატექინების ფენოლური C-რკალის ფუნქციური ერთეულის კონიუგაცია მონაწილეობს მწვანე ჩაის კატეხინის მიტოქონდრიის მემბრანასთან ურთიერთქმედების პროცესში [Levites Y., et al., 2003), რითაც უზრუნველყოფს მიტოქონდრიული მემბრანის განვლადობის შემცირებას და სუნთქვითი ჯაჭვის მთლიანობის აღდგენას. ეს კი ჟანგბადის რეაქციული ნაერთების ჰიპერპროდუქციის პრევენციის წინაპირობაა (Dorta DJ, et al 2005).

ფართომასშტაბიანი კვლევებში შესწავლილ იქნა კატექინების ანტიოქსიდანტური ზემოქმედება თაგვის ტვინის მიკროგლიის ხაზოვან უჯრედების კულტურაზე, სადაც ოქსიდაციური სტრესი ინიცირებულ იქნა tBHP-ის (tert-butylhydroperoxide) დამატებით. დადგენილ იქნა, რომ ოქსიდაციური სტრესი ააქტივებს ბირთვულ ფაქტორ–kappaB-ს (NF-kB). NF-kB-ს მიერ ინიცირებული სიგნალის ტრანსდუქციის შედეგად მიმდინარეობს ანთებითი პასუხის განვითარება. ჩვეულებრივ, NF-kB შებოჭილია I-kappaB(I-kB) ინჰიბიტორული ზემოქმედებით. ოქსიდაციური სტრესი იწვევს I-kB ფოსფორილირებას და NF-kB გამოთავისუფლებას. მწვანე ჩაის კატექინები უზრუნველყოფენ NF-kB-ს ექსპრესიის შემცირებას, I-kB-ს ფოსფორილირების ინჰიბიციის გზით.

3T3-L1 ადიპოციტების კულტურაზე შესწავლილ იქნა პრეადიპოციტების ადიპოციტებად დიფერენციაციის პროცესზე კატექინების მაინჰიბირებელი მოქმედება. ნაჩვენები იქნა, რომ კატექინები იწვევენ უჯრედში ლიპიდების აკუმულაციის სუპრესიას, ასევე პრეადიპოციტების დიფერენციაციის მარკერის, გლიცეროლ-3-ფოსფატ დეჰიდროგენაზას, აქტიურობის ინჰიბიციას. მწვანე ჩაის კატეხინების მოქმედების მექანიზმის საფუძვლად უდევს PPARγ-ს და C/EBPα-ს ექსპრესიის ინჰიბირება (Edvardsson U., et al 1999), რითაც ხორციელდება ადიპოზური ქსოვილის პროგრესირებადი ზრდის პროცესის პრევენცია (Furuyashiki T, et al. 2004).

როგორც აღმოჩნდა, მწვანე ჩაის კატექინები in vivo სისხლის პლაზმაში ხელს უწყობენ ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის ზრდას (Skrzydlewska E., et al., 2002). კერძოდ, სისხლის პლაზმაში სუპეროქსიდდისმუტაზას აქტივობის მომატებას და აორტას კედელში კატალაზას ექსპრესიის გაძლიერებას (Negishi H., et al., 2004), გლუტათიონ-S-ტრანსფერაზას და ჰემოქსიგენაზა-I-ის გენების ექსპრესიას (Chen C., et

al., 2000), ამცირებენ მალონის დიალდეჰიდის კონცენტრაციას (Bravo L. 1998; Yokozawa T., et al., 2002; Yokozawa T., et al., 1999) სისხლის პლაზმაში.

კატექინების ზემოქმედებით იზრდება E ვიტამინის კონცენტრაცია სისხლში, რაც უზრუნველყოფს მემბრანების პროტექციას პეროქსიდაციული პროცესებისაგან (Teresawa K., Takeuchi S., 1999).

მწვანე ჩაის კატექინები სხვადასხვა გზით მოქმედებენ ლიპიდების მეტაბოლიზმზე და უზრუნველყოფენ ათეროსკლეროზული ფოლაკების წარმოქმნის პრევენციას (Raedestorff D.G., et al., 2003, Murase T., et al., 2002, Loest H.B., et al., 2002).

სტრეპტოზოცინით წინასწარ ნამკურნალებ ვირთაგვებში მწვანე ჩაის კატექინები ხელს უწყობდნენ თრომბოქსან A2-ის შემცირებას და პროსტაციკლინ I2-ის მომატებას და უზრუნველყოფენ თირკმლის ფუნქციის გაუმჯობესობას. ამ ექსპერიმენტებში ადგილი ჰქონდა, აგრეთვე, თირკმელებში ოქსიდაციური სტრესის შემცირებას და სუპეროქსიდდისმუტაზას და კატალაზას აქტივობის ნორმალიზაციას (Yokozawa T., et al., 2002).

მწვანე ჩაის კატეხინები აინჰიბირებენ დნმ-ის დაზიანებას, რაც ვლინდება 8-ჰიდროქსიდ-ოქსიგუანიდინის წარმოქმნის შემცირებით (Matsumoto H., et al., 1996; Inagake M., et al., 1995).

ექსპერიმენტულად დადასტურებულია, რომ მწვანე ჩაის კატეხინებს და მწვანე ჩის სხვა კომპონენტებს გააჩნის ოქსიდაციური სტრესის ინტენსიფიკაციის უნარი, რომელიც, თავის მხრივ უზრუნველყოფს AMP-რეგულირებასა და პროტეინ კინაზას (AMPK) აქტივაციას [Hwang, J.T., et al., 2007; Collins, Q.F et al., 2007, Liu, H.W., et al., 2015; Liu, H.W., et al., 2015] და ამ გზით უზრუნველყოფენ ლიპიდურ მეტაბოლიზმში მანაწილე გენების ექსპრესიასა და მოდულაციას.

მწვანე ჩაის კატეხინების პროოქსიდანტური აქტივობა გამოვლენილია ადამიანებზე ჩატარებულ კვლევებში: დადგენილია პირის ღრუში წყალბადის ზეჟანგის ექსპრესიის ინტრნსიფიკაცია მწვანე ჩაის კატეხინების ექსტრაქტის მიღების შემდეგ [Lambert, J.D., et al., 2007]. ითვლება, რომ მწვანე ჩაის კატეხინების პროოქსიდანტურ აქტივობას ოკავშირდება ამ ნაერთების ჰეპატოტოქსიურობის გამოვლინება [Yang, C.S.; et al., 2009].

მაშასადამე, მწვანე ჩაის კატეხინებისათვის დამახასიათებელია ორი კონკურენტული, ანტიოქსიდანტური/პროოქსიდანტური აქტივობა. ამ ფენომენის

ახსნა შესაძლებელია, მწვანე ჩაის კატეხინების აქტივობის მათი კონცენტრაციაზე დამოკიდებელებით [Kanadzu, M., Lu, Y., Morimoto, K., 2006, Uchiyama, Y., et al., 2013].

ადამიანის ლიმფოციტებში მწვანე ჩაის კატეხინები კონცენტრაციებში 1 – 100 μM ზრდიან წყალბადის ზეჟანგის მიერ ინიცირებული დნმ-ის ორმაგი ჯაჭვების დარღვევას, ხოლო უფრო დაბალი კონცენტრაციებში (0.1 - 0.01 μM) უზრუნველყოფენ დნმ-ის დაზიანების პევენციას. არნიშნული გვაძლევს საშუალებას გავაკეთოდ დასკვნა მწვანე ჩაის კატეხინების დუალური, პრო- და ანტიოქსიდანტური აქტივობის შესახებ [Suzuki, T., et al., 2013].

ექსპერიმენტებით ვირთაგვებში ნაჩვენებია, რომ მწვანე ჩაის კატეხინების 0,1%-ის შემცველი დიატა ამცირებს TNF-α-ს და IL-1β-ს მრნმ-ის დონეს და თრგუნავს ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობას ადიპოზურ ქსოვილში. მაგრამ საკვებში მწვანე ჩაის კატეხინების 0,2 - 0,5%-მდე მომატებისას ეს ეფექტების იკარგება. აღნიშნული შედეგები საშუალებას გვაძლევენ გავაკეთოდ დასკვნა მწავანე ჩაის კატეხინების კონცენტრაცია-დამპკიდებული ეფექტიდ შესახებ.

ნაჩვენები იქნა, რომ მწვანე ჩაის კატეხინები ავლენენ პროტექციელ ეფექტს ხბოს თიმუსის დნმ-ზე მათი დაბალი კონცენტრაციის პირობებში (2 – 30 mM), მაგრამ მაღალი კონცენტრაციისას (>60 mM) ისისნი ხელს უწყობენ ოქსიდაციური სტრესის ინტებსიფიკაციას და დნმ-ის დაზიანებას [Tian, B., et al., 2007; Takuji et al., 2016].

მწვანე ჩაის კატექინებს, თავისი პრო- და ანტიოქსიდანტური აქტივობის გამო, ძალუძთ უჯრედული ციკლის და აპოპტოზის პროცესის რეგულაცია.

მწვანე ჩაის კატეხინების მრავალმხრივი აქტივობა დაკავშირებულია სხვაასხვა სასიგნალო-ტრანსდუქციულ სისტემებზე ზემოქმედებით, დაკავშირებულ უჯრედის სასიცოცხლო/სასიკვდილო მექანიზმების რეგულაციასთან. ეს ეფექტები ვლინდება როგორც ნეირონულ, ასევე სიმსივნურ უჯრედებში (Mandel, S., et al., 2004).

მწვანე ჩაის კატეხინებისადმი ნიძღვნილი მრავალი კვლევების მიუხედავად დღემდე არ არის დადგენილი, წარმოადგენენ გამოვლენილი ეფექტები მეტაბოლური სასიგნალო გზების საკვანძო რგოლებზე კატეხინების ზემოქმედების ეფექტის გამოვლინებას, რომელიც რეგულერდება უჯრედის პრო- და ანტიოქსიდანტური ბალანსის მექანიზმების საშუალებით, ან კატეხინების სხვადასხვა მოლეკულერ

სამიზნებზე პირდაპირი ზემოქმედების შედეგია, უჯრედის ანტიოქსიდანტური სტატუსის მიუხედავად.

გარდა ამისა, ზემოთ შემოთავაზებული სავარაუდო მოლეკულური მექანიზმების უმრავლესობა ეფუძნება in virto კვლევების შედეგებს, რომელიც ჩატარებულია კატეხინების შედარებით მაღალი კონცენტრაციების პირობებში (რომელიც აღემატება კატხინების შემცველობას ადამიანის სისხლში). რამდენად ეს მექანიზმები დადასტურდება in vivo კვლევებში, ჯერ კიდე დადგენილი არ არის და შემდგომი კვლევის საგანს წარმოადგენს.

მწვანე ჩაის მოქმედების in vivo ეფექტების დადგენა ჯერჯერობით შორს არის სრულყოფილებსაგან, მაგრამ უნდა აღინიშნოს, ამ სასმელის პოპულარობა მოსახლეობაში, რაც ზოგიერთი დაცვითი ეფექტების სავარაუდო მექანიზმების დადგენის საშუალებას იძლევა. ეს არის, მაგალითად, მწვანე ჩაის დადებითი ეფექტი ნევროლოგიურ პაციენტებზე, მიჩნეულია, რომ ეს ეფექტები გამოწვეულია ჩაის ექსტრაქტების ანტიოპაპტოზური აქტივობით ნეირონულ უჯრედებში, რაც ხელს უწყობს ნეირონების რაოდენობრივი შემცირების პრევენციას, ხოლო კატეხინების ეფექტი კიბოს ქი-მი-ოპრევენციისას განპირობებული უნდა იყოს კატეხინების პროპაპოტოზური აქტივობით სისმსივნურ უჯრედებზე.

აქვე აღსანიშნავია, რომ ჩვენი არასაკმარისი ცოდნა მწვანე ჩაის კატეხინების ცოცხალ ორგანიზმში გამოვლენილი ეფექტების მექანიზმების შესახებ განპი-რო-ბებულია აგრეთვე კატეხინების დაბალი სიცოცხლისუნარიანობით პერორალური (ჩაის სასმელის სახით) მიღების პირობებში. შესაბამისად, მწვანე ჩაის კატეხინების მოლეკულური სამიზნეების in vitro კვლევების სათანადო დაგეგმვა საშუალებას მოგვცემს გამოვავლინოთ მათი ეფექტები კონცენტრაციების დიდ დიაპაზონში, რაც ძალზე მნიშვნელოვანია ამ ნაერთების in vivo ეფექტურობის დადგენისათვის.

მწვანე ჩაის კატეხინების დადებითი ეფექტების კანცერის მკურნალობის დროს დააკავშირეს ამ ნაერთებეის დამათრგუნებელი ზემოქმედებით უჯრედების პროლიფერაციაზე და უჯრედული ციკლის ფაზებში მონაწილე მოლეკულურ სასიგნალო სისტემებზე. ნაჩვენებია, რომ ძუძუს და პროსტატის სიმსივნურ უჯრედებში კატეხინები იწვევენ უჯრედის ზრდის დათრგუნვას G1 ფაზაში ციკლინ-დამოკიდებული კინაზების ინჰიბიციის და უჯრედული ციკლის ინჰიბიტორების

p21 და p27 ცილების გააქტივების საშუალებით (Gupta, S., et al., 2003). მწვანე ჩაის კატეხინები ასევე აინჰიბირებენ მთელი რიგი ზრდის ფაქტორების სასიგნალო კასკადს, როგორც ზრდის ფაქტორების რეცეპტორების პირდაპირი ბლოკირების მეშვეობით, ასევე შემდგომი არაპირდაპირი ეფექტების საშულაებით (Gouni-Berthold, I., Sachinidis, A., 2004).

ექსპერიმენტული კვლევები მოწმობს იმის შესახებ, რომ მწვანე ჩაის კატეხინებს არ ძალუძთ მნიშვნელოვნად გაზარდონ თაგვების სიცოცხლის ხანგრძლივობა საკონ-ტროლო ცხოველებთან შედარებით, მაგრამ შეუძლია გაუწიონ ხანდაზმული ცხოველების პროტექცია ეთანოლ-ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესისაგან. მწვანე ჩაის კატეხინები აგრევე ავლენდნენ პროტექციულ ეფექტს კოგნიტიური დისფუნქციის განვითარებისაგან და უზრუნველყოფენ ცერებრალური ატროფიის სუპრესიას; უფრო მეტიც, მწვანე ჩაის კატეხინები ამცირებენ დნმ--ის ოქსიდაციური დაზიანების მარკერის, 8-ოქსო-დეოქსიგუანიზინის დონეს ხანდახზმული თაგვების ღვიძლში, თირკმელში და ცერებრუმში, რაც მეტყველებს იმის შესახებ, რომ მწვანე ჩაის პოლიფენოლები უზრუნველყოფენ ორგანიზმის პროტექციას ასაკ-დამოკიდებული ცვლილებებისაგან (Unno, K., et al., 2004).

ექსპერიმენტულ კვლევებში ნაჩვენებია მწვანე ჩაის კატეხინების უნარი მოახდინონ სუბსტაბცია ნიგრაში დოფამინერგული ნეირონების დაღუპვის პრევენცია, უზრუნველყონ დოფამინის დონის ნორმალიზაცია (Choi, Y.T., et al., 2001). მწვანე ჩაის კატეხინების ეს ეფექტი ნაწილობრივად განპირობებულია ამ ნაერთების ანტიოქსიდანტური აქტივობით, მაგრამ მთელი რიგი კვლევები მოწმობენ ამ პროცესებში სხვა მექანიზმების მონაწილეობის შესახებ.

ეპიდემიოლოგიური კვლევების შედეგად მწვანე ჩაის მიღების ფონზე გამოვლინდა პარკინსონის დაავადების სიხშირის 5-10 ჯერადი შემცირება აზიის მოსახლეობაში (Zhang, Z.X., et al., 2003.).

ლიტერატურაში არ მოიპოვება ინფორმაცია ეპიდემიოლოგური ან ექსპერიმენ-ტული კვლევების შესახებ, სადაც დასტურდება მწვანე ჩაის კატეცინების დადებითი ეფექტები ალცეჰეიმერის დაავადების დროს, მაგრამ რამოდენიმე კვლევა ჰიპოთალამუსის უჯრედული კულტურის მოდელებზე მოწმობს იმის შესახებ, რომ მწვანე ჩაის კატეცინები უზრუნველყოფენ ამ უჯრედების პროტექციას ბეტა-ამილოიდ ინდუცირებული ნეროტოქსიურობიდან (Choi, Y.T., et al., 2001).

მწვანე ჩაის კატეხინების მოხმარება ასიცირდება კორონარული არტერიების ავადობის შემთხვევათა დაქვეითებასთან (Sano, J., et al., 2004), რაც განპირობებული უნდა იყოს ამ ნაერთების ანტიოქსიდანტურ თვისებებთან. ნაჩვენები იქნა, რომ მწვანე ჩაის კატეხინების მოხმარება ზრდიდა დაბალი სიმკრივის ლიპოპროტეინების რეზისტენტობას დაჟანგვისადმი in vivo, რაც თავისთავად ამცირებს ათეროსკლეროზის განვითარების რისკს (Miura, Y., et al., 2001),

მწვანე ჩაის კატეხინები ამცირებდნენ არტერიულ წნევას სპონტანურად ჰიპერტენზიულ ვირთაგვებში, რაც აგრეთვე განპირობებულია ამ ნაერთების ამტიოქსიდანტური აქტივობით (Negishi, H., et al., 2004).

ცნობილია, რომ მწვანე ჩაის კატეხინებს შეუძლია დენტალური კარიესის პრევენცია. ნაჩვენებია, აგრეთვე, რომ მწვანე ჩაის კატეხინებს ძალუძთ HIV ინფექციისა (HIV-ტრანსკრიპტაზას ბლოკირების გზით) და პრეპარატების მიმართ რეზისტენტული Staphylococcus aureus ინფექციის ინჰიბიცია (Nance, C.L., Shearer,W.T., 2003).

ზემოთ ჩამოთვლილი ლიტერატური მონაცემებიდან ნათელია, რომ მწვანე ჩაის კატეხინების უჯრედული ეფექტები დამოკიდებულია კატეხინების დოზაზე და უჯრედების ტიპზე, და ეს ეფექტები ვლინდება არა მხოლოდ ამ ნაერთების ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების განეიტრალების უნარის შედეგად შედეგად განვითარებული ეფექტების, არამედ სხვა მრავალი მექნიზმების საშულაებით. ის გარემოება, რომ აზიის ქვეყნებში საუკუნეების განმავლობაში მწვანე ჩაის გამოყენებისას არ გამოვლინდა მისი ტოქსიკურობა, პირიკით, ის მრავალი ჯანმრთელობის პრობლემის შემსუბუქებას ხელს უწყობდა, გვაძლებს საშუალებას გავაკეთოდ დასკვნა, რომ პოლიფენოლური კატეხინები ნატურალური პროდუქტის, ჩაის სახით, წარმოადგენენ არაჩვეულებრივ ნედლეულს ახალი ფარმაცევტული პრეპარატების და აგენტების შექმნისათვის. მაშასადამე, ჩაის პოლიფენოლებს გააჩნია მკვეთრად გამოხატული ფარმაკოლოგიური აქტივობა. საყოველთაოდ მიღებულია და გავრცელებულია აზრი, რომ პოლიფენოლებით გამდიდრებული კვებითი რეჟიმი მნიშვნელოვანია ორგანიზმის ენდოგენური ანტიოქსიდანტური სისტემის შემადგენელი კომპონენტების დეფიციტის შევსებისათვის, განსაკუთრებით ხანდაზმულ ასაკში. აქედან გამომდინარე, მწვანე ჩაის პოლიფენოლები განიხილება როგორც თერაპიული ეფექტის მქონე აგენტები, რომელთაც შესწევთ უნარი მოახდინონ მრავალი დაავადების პრევენცია.

1.3. ლიპოსომები

თავისი მაღალი გამაჯანსაღებელი თვისებების მიუხედავად, ფენოლური ნაერთების მიღება მხოლოდ საკვებ პრუდუქტების სახით არ უზრუნველყოფს ორგანიზმში მათი საკმარის კონცენტრაციას, აუცილებელი სისტემური თერაპიული ეფექტების გამოვლინებისათვის. წყალში დაბალი ხსნადობა, ცუდი შთანთქმის და ფართო და სწრაფი მეტაბოლიზმის უნარი განაპირობებს პერორალურად მიღებული პოლიფენოლების დაბალ სიცოცხლისუნარიანობას და თერაპიულ ეფექტურობას [Chen, J, Lin, H., Hu, M., 2003]. ამ პრობლემების მოგვარება და ფენოლური ნაერთებისაგან სხვადასხვა ფარმაცევტული პრეპარატების შექმნა შესაძლებელია სხვადასხვა მიდგომების დანერგვით, რომლებიც უზრუნველყოფენ მათ სტაბილიზაციას და გაზრდიან ბიოშეღწევადობას.

რიგი კვლევები მიძღვნილია ნანოტექნოლოგიების გამოყენებას პოლიფენოლის ეფექტურობის გაზრდის მიზნით [Khushnud, T., Mousa, S.A., 2013, Nathalie Mignet, et al., 2013]. მაგალითად, შემოთავაზებულია ციკლოდექსტრინთან კომპლექსების ფორმირება [Mulholland, P.J., et al., 2001; Pralhad, T., Rajendrakumar, K., 2004], მარტივი ემულსიების, თვით-ემულსიური სისტემების, გელების, ლიპიდური ნანონაწილაკების [Barras, A., et al., 2009], ნანოემულდიების [Ragelle, H., et al., 2012] ან ლიპოსომების [Yuan, Z.P., et al., 2006, Seguin, J., et al., 2013] შექმნა.

ლიპოსომები შესანიშნავი კანდიდატები არიან სხვადასხვა პოეპარატების ტრანსპორტისა და მიწოდებისათვის მათი ფიზიკურ-ქიმიური თვისებებისა და მათი ზედაპირული შემადგენლობის და მისი შეცვლის უნარის გამო. ეს ნაწილაკები მიღებულია ბუნებრივი ან სინთეზური ფოსფოლიპიდებისაგან ორგანიზებული თხევადი ბირთვის გარშემო. ლიპოსომები პირველად შემოთავაზებულია გრეგორიადის მიერ (Gregoriadis, G., Florence, A.T., 1993, Gregoriadis, G., et al., 1993] და 2008 წლამდე წარმოადგენდნენ ნანონაწილაკების ერთერთ სახეობას. ლიპოსომების გრძელვადიანი კომერციალიზაცია სხვადასხვა მოლეკულების კლასებთან, როგორიცაა დოქსორუბიცინი, ამფოტერცინი B, ვერტეროპარფინი, ციტარაბინი, ვინკრისტინი ან ინაქტივირევული ჰეპატიტის B ვირუსი, ანიჭებს მათ უპირატესობას და პროტექციული და ეფექტური აქტივობის გამო [Chang, H.I., Yeh, M.K., 2012; Immordino, et al., 2006].

ამჟამად განსხვავებული ქიმიური შემადგენლობის და განსხვავებული ფიზიკური თვისებების (ზომა, ლამელების რაოდენობა, ზედაპირული მუხტის სიდიდე, შიდა წყლიანი მოცულობა და სხვა) ლიპოსომების დამზადების პროცესი ხორციელდება სხვადასხვა მეთოდოლოგიების გამოყენებით, ვეზიკულები [Andreas W, Karola, 2011**]**. ფოსფოლიპიდებისაგან შესაძლებელია როგორც პატარა დიამეტრის ერთი ფოსფოლიპიდური ბიშრის შემცველი ლიპოსომის დამზედება, ასევე უფრო დიდი ზომის, რომელიც შეიცავს რამდენიმე ბიშრის ფენას. გასაგებია, რომ რაც უფრო მეტი ბიშრესაგან იქნება წარმოქმნილი ლიპოსომა, მით უფრო დიდი იქნება მისი ზომა. ლიპოსომებში შესაძლებელია როგორც ჰიდროფობული ასევე ჰიდროფილური ბუნე-ბის პრეპარატების მოთავსება [Atrooz OM., 2011; Benech RO, et al., 2002; Shehata T, et al., 2008; Riaz M., 1996].

ლიპოსომების მომზადებისას გასათვალისწინებელია მათი შემადგენელი კომპონენტების თავისებურებანი და იმ ნივთიერებების ფიზიკო-ქიმიური თვისებე-ბი, რომლის ენკაფსულირებაც უნდა მოხდეს ლიპოსომის სტრუქტურაში. ასევე ის გარემო, რომელშიც უნდა მოხდეს ლიპიდური ვეზიკულების დისპერსია, უნდა შეირჩეს ვეზიკულების ოპტიმალური ზომა და ენკაპსულირებული ნივთიერების ეფექტური კონცენტრაცია [Gomez-Hens, A., Fernandez-Romero, J.M., 2006; Mozafari, M.R., et al., 2008].

ლიპოსომების მომზადების მეთოდი ოთხი ძირითადი ეტაპისაგან შედგება. სა-წყის ეტაპზე ლიპიდების განსაზღვრულ რაოდენობას ხსნიან ორგანულ გამხსნელში, მიღებულ ხსნარს ასხავენ ევაპორატორის სპეციალურ, სფერული ფორმის ჭურჭელში, რომელიც 50°C ტემპერატურის წყლიან აბაზანაშია მოთავსებული; 30-40 წუთის გან-მავლობაში მიმდინარეობს ცენტრიფუგირება 70-90 ბრუნვაზე (წუთში). ამის შედეგად ევაპორატორის მრგვალი ფორმის ჭურჭლის ფსკერზე მიიღებულ ამომშრალი ლიპი-დების ფენაზე ასხავენ 60°C-მდე გამთბარ დისტილირებულ წყალს, რის შედეგადაც წარმოიქმნება ლიპოსომების თეთრი ფერის რძისებრი სუსპენზია. სასურველი ზომის ლიპოსომების მისაღებად მიღებულ სუსპენზიას ატარებენ სხვადასხვა დიამეტრის მემბრანულ ფილტრში [Szoka F Jr, Papahadjopoulos D:, 1978; Handa T, et al., 2006].

ცნობილია ლიპოსომებში პრეპარატების მოთავსების ე.წ. პასიური და აქტიური მეთოდები, რომელთა მეშვეობითაც შესაძლებელია პრეპარატის მოლეკულები მო-თავსებულნი იყვნენ ლიპოსომურ ვეზიკულებში. კომპლექსური ლიპოსომების

პასიური მეთოდით მომზადებისას ორგანულ გამხსნელში, საჭირო თანაფარდობით ლიპიდებისა და პრეპარატების მოლეკულების გახსნის შემდეგ ხდება ხსნარის ევაპორაცია. ორგანული გამხსნელის სრული აორთქლების შედეგად ჭურჭლის ზედაპიზე წარმოიქმნება ლიპიდ-წამლის თხელი ფენა. შემდეგ ჭურჭელში ვამატებთ წყალს და მექანიკური გზით ვხსნით ლიპიდურ ფენას წყალში ნარევის ინტენსიური შენჯღრევით და ექსტრუდერის გამოყენებით (მიიღება სასურველი ზომის ლიპოსომები, რომლის სტრუქტურაშიც პრეპარატის მოლეკულებია ინკორპორირებული). პრეპარატის მოლეკულების ლიპოსომების სტრუქტურაში მოთავსების აქტიურ მეთოდის გამოყენებისას, უკვე მზა, საჭირო ზომის ლიპოსომების წყალხსნარში იხსნება პრეპარატის მოლეკულები და ინტენსიური ნჯღრევის შედეგად ხდება მოლეკულების ადსორბცია ლიპოსომების ზედაპირზე. ამ დროს მნიშვნელოვანია ისეთი თვისების (სტრუქტურის) ლიპოსომების შერჩევა, რომ შესაძლებელი იყოს პრეპარატის მოლეკულების ადსორბცია (მაგალითად, ნივთიერების და ლიპოსომების ზედაპირის ელექტროსტატიკური პოტენციალის მეშვეობით).

მცირე ზომის (15–50 ნმ დიამეტრის) ლიპოსომების მომზადებისას ყველაზე ხშირად გამოყენება სონიკაციის მეთოდი. ამ შემტხვევაში ხდება დიდი ზომის მულტილამელარული ლიპოსომების სუსპენზიის ბგერითი ტალღით დამუშავება. ამ შემტხვევაში შესაძლებელია ლიპოსომის შიდა მოცულობის, ანუ ენკაპსულირების ეფექტურობის დაქვეითება, აგრეთვე, ფოსპოლიპიდების დეგრადაცია, ზონდის წვეროდან მეტალური დაბინძურება და მცირე უნილამელარულ ვეზიკულებთან ერთად მულტილამელარული ვეზიკულების წარმოქმნა, რაც ამცირებს ლიპოსომის ეფექტურობას [Mayer LD, et al., 1986].

მცირე ზომის ლიპოსომები მისაღებად ასევე გამოიყენება ფრენჩ პრესის მეთოდი, რომლის მიხედვით მულტილამელარული ვეზიკულების ექსტრუდირება ხდება მცირე ზომის ნახვრეტებში. ამ მეთოდს რამდენიმე უპირატესობა გააჩნია: კერძოდ, ეს მეთოდი მარტივია, სწრაფი, განმეორებადი და არასტაბილურ მატერიალთან ფაქიზი მოპყრობის საშალებასაც იძლევა; მიღებული ლიპოსომები არის უფრო დიდი, ვიდრე სონიკაციის შედეგად მიღებული მცირე უნილამელარული ლიპოსომები.

დიდი ზომის უნილამელარული ვეზიკულების დამზადებისათვის გამოიყენება ლიპოსომების გაყინვა–გალღობის მეთოდი. ეს მეთოდი საშუალებას იძლევა მოხდეს, როგორც მცირე უნილამელარული ვეზიკულების სწრაფი გაყინვა, ასევე შემდგომში მათი თანდათანობით გალღობა. დიდი ზომის უნილამელარული ვეზიკულების წარმოიქმნა განპირობებულია მცირე ზომის უნილამელარული ვეზიკულების შერწყმის მაღალი უნარით. სინთეზის მაინჰიბირებელ ფაქტორი - ფოსფოლიპიდების კონცენტრაციის და ასევე გარემოს იონური ძალების გაძლიერება, ამცირებს ენკაპსულირების ეფექტურობას 20–30%–ით. [Pick U., 1981; Ohsawa T, et al., 1985; Liu L, Yonetaini T., 1994].

დიდი ზომის უნილამელარულ ვეზიკულების დასამზადებლად ასევე გამოიყენება დიალიზის მეთოდი. ამ მეთოდის დროს ლიპიდების ხსნადობისთვის იყენებენ დეტერგენტებს. დეტერგენტების მოცილების შემდეგ, მიცელები ერთდებიან და წარმოქმნიან დიდი ზომის უნილამელარულ ვეზიკულებს. დეტერგენტების მოცილება ხორციელდება დიალიზის საშუალებით. ამ მეთოდის უპირატესობა მდგომარეობს ზომის მიხედვით ჰომოგენური ლიპოსომების პოპულაციების წარმოქმნაში, მაგრამ არსებობს ლიპოსომების სტრუქტურაში დეტერგენტების შეკავების საშიშროება.

როგორც უკვე აღვნიშნეთ, ლიპოსომები მცირე ზომის ვეზიკულებია, რომელშიც წყლიანი შიგთავსი მთლიანად გარშემორტმულია ერთი, ან რამოდენიმე ლიპიდური ბიშრით. ჩვეულებრივ მემრბანები აგებულია ფოსფოლიპიდებისაგან, რომლებიც წარმოადგენენ ამფიფილურ, წყალში უხსნად მოლეკულებს. მათ გააჩნიათ ჰიდროფილური თავი და ჰიდროფობური-არაპოლარული, ცხიმოვანმჟავური კუდი. თავები იზიდავენ წყლის მოლეკულებს, ხოლო გრძელი ნახშირწყალბადური ჯაჭვებისგან შემდგარი კუდები განიზიდავენ წყლის მოლეკულებს.

სტრუქტურულად ლიპოსომები არიან ერთმანეთში ჩაწყობილი კონცენტრული ვეზიკულები, რომელისთვის აუცილებელია წყლიანი გარემო, რადგან ლიპიდები წყალში დამატებისას სპონტანურად წარმოქმნიან ლიპიდურ მონოშრეს. ეს ფენომენი ცნობილია ჰიდროფობული ეფექტის სახელწოდებით. ვინაიდან წყალის მოწესრიგებულ სტრუქტურაში ლიპიდების ცხიმოვანი მჟავეების ნახშირბადური ჯაჭვების ლოკალიზაცია ენერგეტიკულად არ არის მომგებიანი, ლიპიდების ჰიდროფობული კუდები განიდევნებიან წყლის მიერ, მაშინ როდესაც ლიპიდების

ჰიდროფილური თავები მიიზიდავენ წყლის მოლეკულებს. წყლიანი გარემოს შემთხვევაში ჰიდროფილური თავები განლაგდებიან ერთმანეთის პარალელურად და წარმოქმნიან ზედაპირს, რომელიც წყალბადური ბმებით არის დაკავშირებული წყლის მოლეკულებთან. რადგანაც ლიპიდური კუდები განიზიდავენ წყლის მოლეკულებს, თითოეული ცხიმოვანმჟავური ჯაჭვი განლაგდება ბიშრის შიგნით და წარმოქმნის ჰიდროფობულ ფაზას, რომელიც წყლის მოლეკულებთან არ ურთიერტქმედებს.

ყველაზე გავრცელებული ლიპოსომები შედგებიან ფოსფოლიპიდებისაგან, რომლის შემადგენლობა წარმოდგენილია ფოსფატიდილქოლინის ამფიფილური მოლეკულებისაგან. მისი სტრუქტურისთვის დამახასიათებელია ორი წყვილი ჰიდროფობური აცილური ნახშირწყალბადური ჯაჭვი, რომლებიც გლიცეროლის ხიდაკით უკავშირდება ფოსფოქოლინის პოლარულ, ჰიდროფილურ თავაკს [Cullis Pt, B. De Kruijff, 1979; R. Yang, X. et al., 2013; M. Kepczynski, et al., 2008. Nagle, J.F., 2000; Vemuri S, Rhodes CT., 1995].

ლიპოსომების ქიმიური შემადგენლობის გარდა, რომელიც განსაზღვრავს ისეთ თვისებებს, როგორიცაა მემბრანის დენადობა, მუხტის სიმკვრივე და განვლადობა, ლიპოსომები შეიძლება დახასიათდნენ მათი ზომების და ფორმის მიხედვითაც. შესაძლებელია სხვადასხვა ზომის ლიპოსომების მიღება. თეორიულად გამოთვლილი უმცირესი მიღებადი ლიპოსომების ზომიდან (დიამეტრით 15 ნმ), ლიპოსომებამდე, რომლთა დანახვაც შესაძლებელია სინათლის მიკროსკოპით (1000 ნმ), ანუ, რომელის ზომაც ცოცხალი უჯრედების ზომის ტოლია. შრეების რაოდენობისა და ზომების მიხედვით ლიპოსომებს ყოფენ ორ ჯგუფად - მულტილამელარულ და უნილამელარულ ლიპოსომებად (ფიგურა 4).

მულტილამელარული (ან ოლიგო-ლამელარული) ვეზიკულების ზომები მერყეობს 100-1000 ნმ-მდე, ხოლო უნილამელარულ ვეზიკულებს აქვთ მხოლოდ ერთი ბიშრე, და მათი დიამეტრი დაახლოებით 15 ნმ-ა) (ფიგურა 5) [Shaheen SM, et al., 2006; Koynova R, et al., 1997]. უნილამელარული ვეზიკულებისათვის ფოსფოლიპიდური შემადგენლობა განსაზღვრავს ვეზიკულის ზედაპირის ფართობს.

მიუხედავად იმისა, რომ ითვლება, რომ ლიპოსომები უზრუნველყოფენ როგორც ჰიდროფილური, ასევე ლიპოფილიური პრეპარატების ინკორპორაციას თავის შიგა თხევად გარემოში, და მემბრანულ ბიშრეში, შესაბამისად [Maurer, N., et al.,

2001], გასაგებია, ლიპოფილური პრეპარატები არ იქნება მაღალეფექტურად ინკაპსულირებული, მემბრანული მთლუანობის დარღვევის გარეშე (Fahr, A., et al., . 2005).

ლიპოსომები გამოიყენება პოლიფენოლების გადატანისათვის.

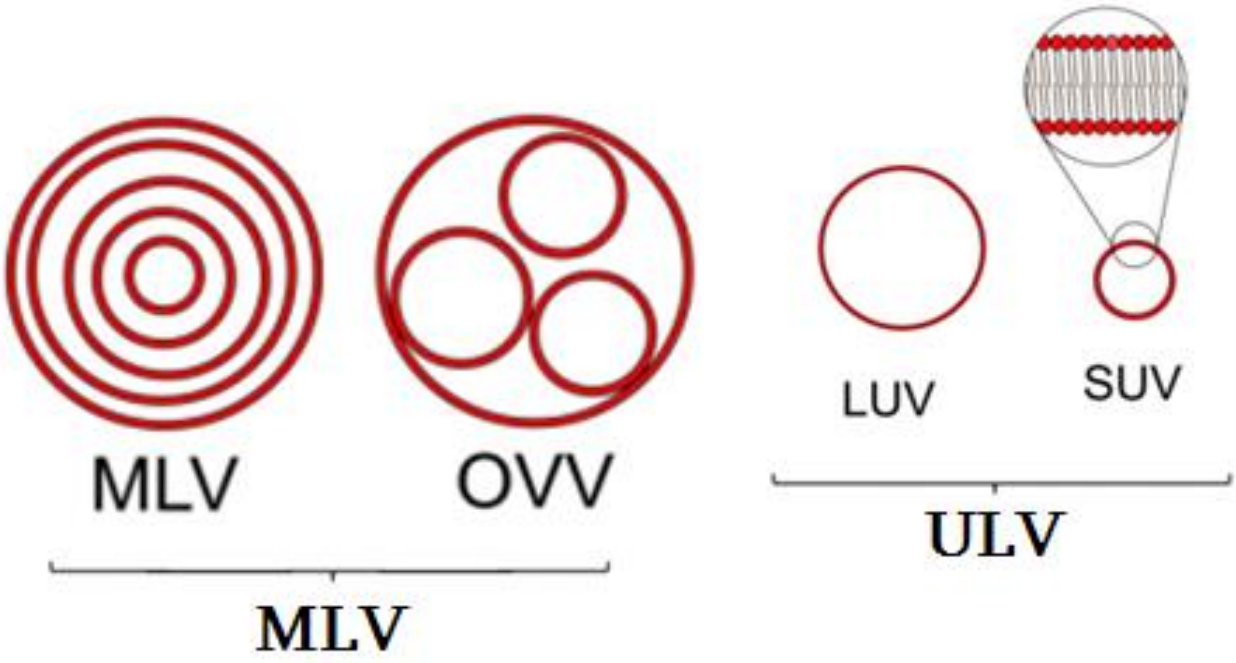
როგორც ზემოთ უკვე ავღნიშნეთ, პოლიფენოლები - მრავალფეროვანი მოლეკულებია, მათი ფენოლური რგოლებისა და ჰიდროქსილური ჯგუფების რაოდენობა მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს პოლიფენოლების ხსნადობაზე.

თავდაპირველი კვლევები აჩვენებს, რომ ფლავონოიდები ლიპოსომების კომპლექსში ავლენენ დაცვით, ანტიოქსიდანტურ ეფექტს წყლის არეში და, ასევე, ლიპიდებზე. იმ დროისათვის გაუგებარი იყო, არის ეს ეფექტი განპირობებულია პოლიფენოლების განლაგებით ლიპოსომის ზედაპირზე, თუ ეს პოლიფენოლი უზრუნველყოფს გამყოფის როლს ლიპიდურ ფაზაში (Rice-Evans, C.A., et al., 1996). ბირთვული მაგნიტური რეზონანსის მეთოდით ნაჩვენები იყო, ეპიგალოკატეხინ გალატი ურთიერთქმედებს ფოსფატთან დიმირისტოილ-ფოსფატიდილ-ქოლინის დიმირისტოილ-ფოსფატიდილ-ქოლინის (DMPC) ლიპიდურ მოდელში [Kumazawa S., Kajiya, K., et al., 2004].

ლიპოსომების უჯრედებთან ურთიერთქმედების შესწავლა მნიშვნელოვანია არა მხოლოდ წამლების მიწოდების, არამედ უჯრედ-უჯრედების ურთიერთმქედების თვალსაზრისით. ყველაზე მარტივი ურთიერთქმედების ფორმა ლიპოსომების ადსორბცია უჯრედის ზედაპირზე, ამ შემთხვევაში უჯრედმა შეიძლება შთანთქოს ლიპოსომა (ფაგოციტოზი/ენდოციტოზი) და უჯრედის შიგნით მოხვდეს ლიპოსომებში არსებული ნივთიერებები. ასევე შესაძლებელია ლიპოსომის შეერწყმა უჯრედის მემბრანასთან, მაშინ ლპოსომა ხდება უჯრედის ნაწილი, ხოლო მის მიერ მიტანილი ნივთიერებები თავისუფლდება. ლიპოსომას უჯრედულ მემბრანასთან შეერთებისას იცვალება მემბრანის თვისებები. მაგალითად, იცვლება მემბრანის სიბლანტე, განვლადობა, ელექტრული მუხტის სიდიდე, რაც თავის მხვრივ შეიძლება ასევე გამოიწვიოს მემბრანული არხების, რეცეპტორების რაოდენობრივ და თვისობრივ ცვლილებას. შესაბამისად, შესაძლებელია მემბრანის და მთლიანი უჯრედის ფუნქციების მოდიფიკაცია [Majidi, S.; et al., 2016; Wang, Y.; et al., 2014].

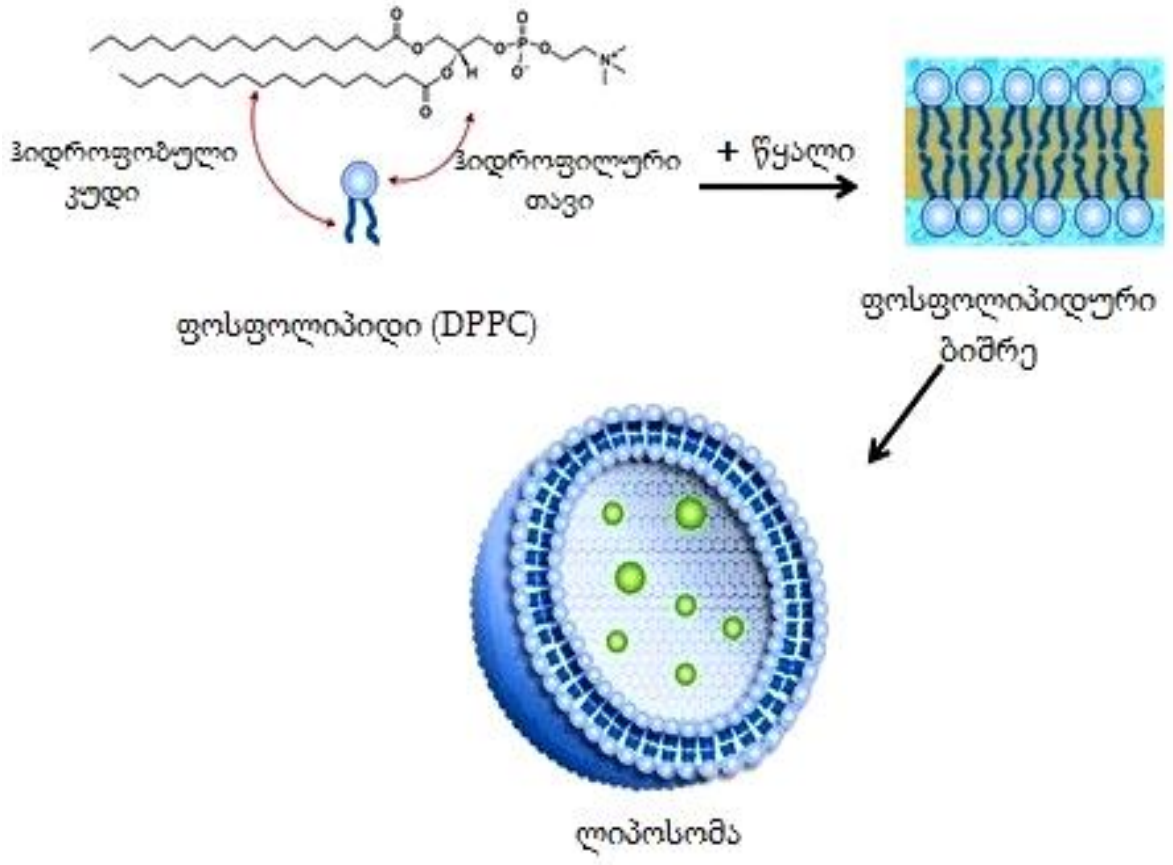
ლიპოსომების ურთიერთქმედებამ უჯრედულ მემბრანასთან ნაჩვენებია ფიგურაზე 6. ფიგურაზე 6 ჩანს, რომ მემბრანასთან ურთიერთქმედებისას

შესაძლებელია ლიპოსომაში მოთავსებული პრეპარატის უჯრედში განთავისუფლება მოხდეს სხვადასხვა მექანიზმების საშუალებით: ‘‘კონტაქტური გამოთავისუფლების’’, ლიპოსომის შთანთქმის (ამ შემთხვევაში ნივთიერება ინკორპორირებული ლიპოსომაში ხვდება უშუალოდ უჯრედში), მიმაგრების მემბრანაზე (ადსორბცია), ლიპოსომასა და



ფიგურა 4

ლიპოსომების კლასიფიკაცია



ფიგურა 5

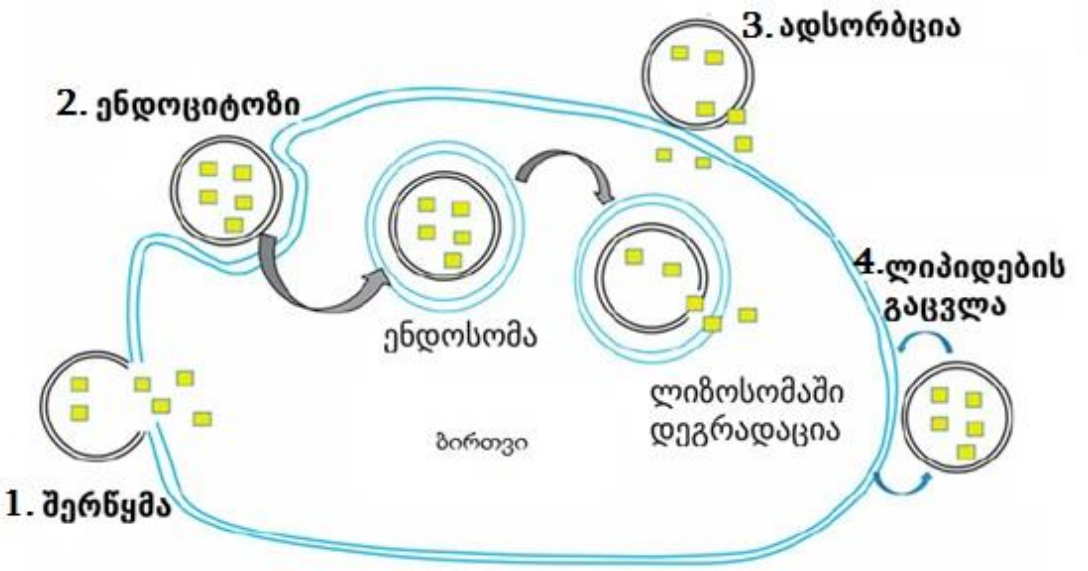
ლიპოსომის სტრუქტურა

მემბრანას შორის ლიპიდების გაცვლის და, ასევე, ლიპოსომის მემბრანასთან შეერწყმის შედეგად (Majidi, S. et al., , 2016; Wang, Y., et al., 2014; Zauner, W., Farrow, N., Haines, A., 2001; Seemork, J., et al., 2016).

ლიპოსომის წყლიანი შემცველობის "კონტაქტური გამოთავისუფლება" ხდება რთული მექანიზმით, რომელშიც ლიპოსომის უჯრედთან კონტაქტი განაპირობებს ლიპოსომის მემბრანის განვლადობის ზრდას, რასაც თან ახლავს წყალში ხსნადი ნივთიერებების გამოთავისუფლებას უჯრედული მემბრანის მიდამოებში. ლიპოსომის წყლიან მოცულობაში გახსნილი ნივთიერებების უჯრედში ინდუცირებული გაჟონვა უფრო ინტენსიურია ქოლესტეროლის (30 მოლ %-ზე მეტს) შემცველ მემბრანებში [Majidi, S., et al., 2016]. არსებობს მოსაზრება, რომ ლიპოსომამ თვითონ შეიძლება გაზარდოს უჯრედის მემბრანის განვლადობა - გამოიწვიოს დამატებითი არხების გაჩენა.

ფაგოციტოზური აქტივობის მქონე უჯრედები ჩაიჭერენ ლიპოსომებს სუბუჯრედულ ვაკუოლებში (pH 5,0 - 5,5) პლაზმური მემბრანის ჩაზნექვით. ეს ენდოსომები შემდგომ უერთდებიან ლიზოსომებს მეორეული ლიზოსომების წარმოქმნით. ლიზოსომური ფერმენტები შლიან ლიპოსომებს, უზრუნველყოფენ ფოსფოლიპიდების ჰიდროლიზს ცხიმოვან მჟავებამდე, რომლებსაც შემდგომში შეუძლია მასპინძელი უჯრედის მემბრანაში ინკორპორირება.

აღსანიშნავია, რომ ლიპოსომები in vivo ურთიერთქმედებენ რეტიკულო-ენდოთელიალური სისტემის ორგანოების მემბრანებთან მათი შემადგენლობის შეცვლის გარეშე (კერძოდ ღვიძლთან, ელენთასთან, ფილტვებთან, ლიმფურ კვანძებთან და ძვლის ტვინთან). სწორედ ამ ორგანოების ფუნქციაა სხეულში შესული სხვადასხვა აგენტების გადამუშავება. ფაგოციტოზური უჯრედების მიერ ძალიან სწრაფად ხდება ლიპოსომების ფაგოციტოზი და დეგრადირდება ლიზოსომებში. ლიპოსომების ლიზოსომებში დაშლის პროცესის დროს, წყლიანი კომპონენტის შემცველობა გამოთავისუფლდება, რის შემდეგაც ის ან რჩება ლიზოსომაში იზოლირებული (თუ არიან დამუხტულ მდგომარეობაში, დაბალი pH-ის დროს), ან ადგილი აქვს მის გამოჟონვას ლიზოსომიდან და უჯრედის სხვა უბნებში განაწილებას. ლიპოსომები შეიძლება ასევე ჩაჭერილ იქნან მემბრანული რეცეპტორების მიერ ენდოციტოზის გზით.



ფიგურა 6.

ლიპოსომების უჯრედის მემბრანასთან ურთიერთქმედების სახეები

ამგვარად, თუ ორგანიზმში ლიპოსომების შეყვანისას ხორციელდება კონტაქტი ლიპოსომასა და რეტიკულო-ენდოთელიალური სისტემის უჯრედებთან, მაშინ ლიპოსომასა და სამიზნე უჯრედებს შორის კონტაქტის დამყარება სირთულეს არ წარმოადგენს.

ლიპოსომების აბსორბცია უჯრედულ მემბრანაზე შეიძლება მოხდეს უჯრედის ზედაპირული ცილებთან კავშირების წარმოქმნის შედეგად. აღსანიშნავია, რომ განსაკუთრებით ეფექტურად აბსორბცია ხორციელება ლიპოსომური მემბრანის ფაზური გადასვლის ტემპერატურის, ან უფრო დაბალ ტემპერატურის პირობებში (როდესაც ლიპიდები არიან გელის ფაზაში), სავარაუდოა, ამ პროცესში ჩართული შემაერთებელი საიტები დაბალ ტემპერატურებზე იმყოფებიან შედარებით სტაბილურ მდგომარეობაში.

ზოგიერთ შემთხვევაში ლიპიდური კომპონენტების ინტერმემბრანული ტრანსფერი ხდება ორი ფოსფოლიპიდური ბიშრის შორის ძალიან მჭიდრო კავშირის შემთხვეაში. ეს პროცესი არ საჭიროებს ლიპოსომების დაშლას ან მემბრანის მთლიანობის დარღვევას. უფრო მეტიც ასეთი ტრანსფერი (ხშირად ორივე მიმართულებით) ხორციელდება ლიპოსომების წყლიანი კომპონენტის შემცველობის სრული შენარჩუნებით [Wang, Y., et al., 2014; Zauner, W, et al., 2001; Seemork, J., et al., 2016].

ლიპოსომასა და უჯედული მემბრანას შორის იცვლება მხოლოდ განსაზღვრული ფოსფოლიპიდები (ფოსფატიდილქოლინი და ფოსფატიდილეთანოლამინი); ამ პროცესის შეჩერება შესაძლებელია ტრიფსინის ზემოქმედებით, რაც მიუთითებს იმის შესახებ, რომ ფოსფოლიპიდების გაცვლის პროცესში მონაწილეობენ უჯრედული მემბრანის სპეციფიკური ზედაპირული ცილები [Wang, Y., et al., 2014).

შესაძლებელია ურთიერთქმედება ლიპოსომებსა და ლიპოპროტეინებს, კერძოდ, მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინებს, შორის.

ლიპოსომების დესტაბილიზაცია იზრდებადა განსაზღვრულ პირობებში, რასაც შეიძლება მოყვეს მათი დაშლა. ლიპოსომების დესტრუქციის ხარისხი დამოკიდებულია ლიპოპროტეინების და ლიპოსომების თანაფარფობაზე. ლიპიდების დაბალი კონცენტრაციისას მცირე უნილამელარული ლიპოსომები,

რომლებიც შედგებიან მხოლოდ კვერცხის ლეციტინისაგან (ქოლესტეროლის გარეშე) სწრაფად განიცდიან დეზინტეგრაციას, ლიპიდური კომპონენტები გადანაწილდებიან ლიპოპროტეინებს შორის. კვერცხის ლეციტინის მემბრანაში ქოლესტეროლის ინკორპორაცია ნაწილობრივ აინჰიბირებს ლიპოსომების დეზინტეგრაციას და სფინგომიელინის მცირე უნილამელარული ვეზიკულები, რომლებიც შეიცავენ ქოლესტეროლის 30 მოლ, ინარჩუნებენ თასვის ზომას და წყლიან შემცველობას. მეორეს მხრივ, დიდი მულტილამელარული და უნილამელარული ლიპოსომებში ფოსფოლიპიდების გაცვლის ინტენსივობა ლიპოპროტეინებზე სისხლის პლაზმის დაბალია, ქოლესტეროლის შემცველობის მიუხედავად [Seemork, J. et al. 2016; Nakatsuji, et al., 2015, Nakatsuji, et al., 2010).

ქოლესტეროლი თავისთავად გადაადგილდება მემბრანული ბიშრეებს შორის, და სწრაფად მყარდება წონასწორული მდგომარეობა, ისე, რომ მისი მოლალური კონცენტრაცია თანაბრდება ყველა არსებულ მემბრანაში. ამგვარად, ლიპოსომები გამოიყენება უჯრედის მემბრანებისთვის ქოლესტეროლის მიწოდებისათვის,

ინტერმემბრანული ტრანსფერისა და "კონტაქტური გამოთავისუფლების" მოვლენებმა საშუალებას იძლევიან შემუშავდეს საკმაოდ ეფექტური მეთოდები სპეციფიურ უჯრედებში ნივთიერებების შეტანისათვის მთლიანი ლიპოსომის შთანთქმის საჭიროების გარეშე, რომელთაც ექნება მნიშვნელოვანი ღირებულება არა აქტიურად ფაგოციტური უჯრედებისთვის. მეთოდები კარგად გამოიყენება ისეთ პირობებში, სადაც უჯრედის გარემომცველ არეში დინება და ტურბულენტობა შემცირებულია, და სადაც ფიზიკური ურთიერთქმედება ლიპოსომებსა და უჯრედებს შორის ხორციელდება რეცეპტორ/ლიგანდის საშუალებით. ამ პროცესების განვითარების ალბათობა მნიშვნელოვნად დამოკიდებულია მემბრანების შემადგენლობაზე ისევე, როგორც თავად ლიპოსომაში მოთავსებული ნაერთების ბუნებაზე [Seemork, J., et al., 2016; Nakatsuji, H., et al., 2015; N. Reum, et al., 2010].

ლიპოსომებისა და უჯრედული მემბრანის მჭიდრო დაახლოებამ შეიძლება გამოიწვიოს მათი შერწყმა. შედეგად ადგილი აქვს ლიპოსომური ლიპიდების სრულ შერევას უჯრედული პლაზმური მემბრანის ლიპიდებთან და ლიპოსომური შიგთავსის გამოთავისუფლებას ციტოპლაზმურ სივრცეში.

მულტილამელარული ვეზიკულების შემთხვევაში ლიპოსომების შიდა დაუზიანებელი მემბრანული ლამელები გადაადგილდებიან ციტოპლაზმაში, ისე რომ ზევით აღწერილი ურთიერთქმედება შეიძლება განმეორდეს ისევ ლიპოსომებსა და სუბუჯრედულ ორგანელებს შორის. In vitro კვლევებში, შერწყმა შეიძლება მოხდეს გაცილებით ადვილად ნივთიერებების მემბრანაში ინკორპორაციით (მაგალითად, ლიზოლეციტინი, ფოსფატიდილ სერინი, დეტერგენტები, ზედაპირულად აქტიური აგენტები). მაგრამ ამ ნივთიერებების გსმოყენება დაკაცშირებულია რისკთან, ვინაიდან ისინი არიან ტოქსიკურები უჯრედებისთვის, სავარაუდოდ თავისი არასპეციფიური "შემაშფოთებელი" ეფექტების გამო უჯრედში ინკორპორაციის შემდეგ.

დღემდე ყველაზე ეფექტური მეთოდი უჯრედებში ლიპოსომური ნივთიერებების in vitro მიწოდებისა შერწყმით, არის სენდაი ვირუსის შერწყმის ცილების გამოყენება, რომლის საშუალებითაც ციტოპლაზმაში შედიან არა მხოლოდ წყალში ხსნადი კომპონენტები, არამედ მემბრანული ცილებიც. სხვა შერწყმის მეთოდები, შეიძლება განხორციელდეს ფოსფატიდილეთანოლამინის და ოლეინის მჟავის, ან დადებითად დამუხტული ლიპიდების გამოყენებისას [Wang, Y., et al., 2001; Seemork, J., et al., 2016; Nakatsuji, H., et al., 2015; N. Reum, et al., 2010].

თუმცა in vitro შერწყმის პროცესი იკავებს მეორე ადგილს უჯრედული ფაგოციტოზის შემდგომ. უმრავლეს შემთხვევაში სისხლის მიმოქცევაში ლიპოსომები სწრაფად განიცდიან ფაგოციტოზს, რომელიც ვითარდება გაციელებით უფრო სწრაფად, ვიდრე შერწყმის პროცესი. ლიპოსომების სამიზნე მემბრანასთან შერწყმის, ან კაპილარების კედელზე პასიური ადსორბციის პროცესი ხორციელდება ისეთ საიტებში, როგორიცაა მაგალითად თვალის წყლიანი სითხე, ცერებროსპინალური სითხე, ანუ სადაც ნაკლებადაა ჩართული რეტიკულარულ ენდოთელიალური სისტემა [Wang, Y., et al., 2014; Zauner, W., Farrow, N., Haines, A., 2001; Seemork, J., et al., 2016; Nakatsuji, H., et al., 2015; N. Reum, C. et al., 2010].

ბოლოდროინდელი კვლევების თანახმად, ჩვეულებრივი DPPC/ქოლესტეროლის ლიპომებში რეზვერატროლი ურთიერთქმედებს DPPC-ს ქოლინურ ჯგუფთან [Bonechi, C., et al., 2012]. ქოლესტეროლის შეცვლა კატიონური ქოლესტეროლის წარმოებულით გამოიწვია რეზვერატროლის ღრმა ინკორპორაციას ლიპიდურ ბიშრეში. როგორც ნაჩვენები იქნა, რეზვერატროლი ამ შემთხვევაში,

ურთიერთქმედებს DPPC-ს მეთილენურ ჯგუფთან ლიპიდური ბიშრის ფარგლებში [Bonechi, C., et al., 2012].

ლიპოსომებში ქოლესტეროლის რაოდენობასა და ფლავონოიდი, ფიზეტინის, ინკორპორაციას შორის დამოკიდებულების შესწავლისას დადგინდა, რომ ლიპოსომებში ქოლესტეროლის რაოდენობის შემცირება ზრდის ფიზიტინის ინკორპორაციის ინტენსივობას. ამ კვლევაში, ბილიპიდური შრის მთლიანობა მოწმდებოდა ელექტრონული ტრანსმისიური მიკროსკოპიის საშუალებით [Mignet, N., et al., 2012]. ფიზიტინის დამატება იწვევდა ლიპიდური ბიშრის დარღვევას, რაც მიუთითებს, რომ ფიზიტინის მოლეკულების ნაწილი ჩაშენდება ლიპიდური კომპარტამენტში [Fahr, A., et al., 2005].

რეზვერვერალის, ფიზიტინისა და კვარციტინის ხსნადობის შესწავლისას დადგინდა ამ პოლიფენოლური ნაერთების მომატებული ხსნადობა ზეთებში, ძირითადად განსაკუთრებით ჰიდროფობულ ზეთებში (ჰიდროფილური/ლიპიფილური ბალანსი (HLB)> 10) [Ragelle, H., et al., 2012, Quan, D.Q., et al., 2007; Quan, D.Q., Xu, G.X., 2007].

ლიპიდური ნანოკაპსულებისა და ემულსიების შესწავლისას დადგინდა, რომ კვარციტინი და ფიზეტინი ვრცელდება უფრო სწორად, ზეთი/დრეკად-აქტიურ ზედაპირზე [Ragelle, H., et al., 2012]. ეს ნაერთები შეიძლება კვალიფიცირებული იყოს როგორც არც მთლიანად ლიპოფილური და არც ჰიდროფილური, არამედ, ამპიფიფილური, რომლებიც ითხოვენ ჰიდროფობულ ურთიერთქმედებას, ისევე წყალბადური კავშირების წარმოქმნას წყლის გარემოსთან, რომელიც ექვემდებარება ინკაპსულირებას.

ლიპოსომა/ემულსიის ზედაპირზე მოთავსებული Brij98-ს თანაობისას, მცირდებოდა რეზვერატროლის გათავისუფლების ხარისხი, რაც ადასტურებს პოლიფენოლის ჰიდროფილურ კომპონენტებთან ურთიერთქმედების აუცილებლობას [Hung, C.F.. et al., 2006].

Uekusa-ს და თანაავტორების კვლევების თანახმად, პოლიფენოლების ინკორპორაცია ლიპიდურ მემბრანებში დამოკიდებულია მათი ქიმიურ სტრუქტურაზე [Uekusa, Y., et al., 2008]. ეს ავტორები ასევე აჩვენებს, რომ გაყოფის კოეფიციენტი მოდელურ მემბრანაზე კორელირებს ლიპოსომაში პოლიფენოლების ინკორპორაციის ხარისხთან.

მიუხედავად იმისა, რომ პოლიფენოლების ლიპიდურ ბიშრესთან ურთიერთქმედების მექანიზმები ბოლომდე გაშიფრული არ არის, დადგენილია, რომ ეს მექანიზმები მოიცავს: (ა) მემბრანის ჰიდროფობულ ბიშრეში მეტად არაპოლარული ნაერთების შეღწევას და (ბ) მემბრანის ზედაპირზე წყალბადური ბმების წარმოქმნას მეტად ჰიდროფილური ფენოლებსა და ლიპიდების პოლარული თავებს შორის. [Oteiza, P.I., et al., 2005]. ორივე ტიპის ურთიერთქმედების აუცილებლობა ადასტურებს ლიპოსომების პოტენციურ როლს პოლიფენოლების სამიზნეებთან მიწოდების ეფექტურობის ამაღლებაში. ამ ტიპის ურთიერთქმედება მემბრანაში ქოლესტეროლის ჩაშენების მექანიზმის მსგავსია, რომელიც მდებარეობს ლიპიდურ ბიშრეში და ჰიდროქსილური ჯგუფების საშუალებით წარმოქმნის წყალბადურ ბმებს გარშემომცველ წყლის მოლეკულებთან. პოლიფენოლების ლიპოსომებთან ურთიერთქმედების მექანიზმი ზეგავლენას ახდენს პოლიფენოლების შეღწევის ეფექტურობასა და გათავისუფლების სიჩქარეზე.

ვინაიდან პოლიფენოლები, როგორც წესი უმუხტო მოლეკულებია, ისინი, სავარაუდოთ, არ განიცდიან ლიპოსომის ზედაპირული მუხტის შესაძლო ზემოქმედებას. თუმცა, ლიპოსომის სტრუქტურაში კათიონური ქოლესტეროლის ჩართვა ხელს უწყობდა ტრანს-რეზვერატროლის უფრო ღრმა ინკორპორაციას ლიპიდური ბიშრერში [Bonechi, C.; et al., 2012]. უფრო მეტიც, ანიონური ლიპიდების გამოყენება, როგორიცაა დიცეტილ ფოსფატი ან დეოქსიქოლინური მჟავა, კვერცხის ფოსფატიდილდკოლინი, ზრდიდა კატეხინებისა და ეპიგალოკატეხინ გალათის განთავისუფლების ხარისხს [Fang, J.Y., et al., 2005].

მიუხედავად იმისა, რომ დამუხტული ლიპიდების ეფექტი პოლიფენოლების ინკაპსულაციაზე და განთავისუფლებაზე შეიძლება იყოს არაპირდაპირი, აუცილებელია მისი გათვალისწინება. ლიპიდური ბიშრის განვლადობა და სიხისტე დამოკიდებულია შემადგენელი ლიპიდების სტრუქტურასა და მუხტზე. პოლიფენოლებსა და ლიპიდებს შორის ურთიერთქმედების მექანიზმების დადგენის შედეგად შესაძლოა, პოლიფენოლის ლიპოსომებში ინკორპორაციის ეფექტურობის ამაღლება.

მიუხედავად იმისა, რომ პოლიფენოლების ლიპოსომებში ინკაპსულაციის საკითხი პრობლემად რჩება, მრავალი კვლევები მოწმობს იმის შესახებ, რომ

პოლიფენოლების ბიოშეღწევადობა და ეფექტურობა ლიპოსომებში გაცილებით უფრო მაღალია.

ცხრილში 1 ნაჩვენებია სხვადასხვა ლიპოსომური კომპლექსი პოლიფენოლებთან, მითითებულია, კომპლექსის წარმოქმნის პროცესი და მიღებული ბიოლოგიური ეფექტი.

პოლიფენოლ-ლიპოსომური კომპკექსის ფორმირებისას მნიშვნელოვანია კომპლექსის ქიმიური სტაბილობის შენარჩუნება რაც, თავის მხრივ, ხელს უწყობს კომპლექსის ეფექტურობის გახანგრძლივებას [Coimbra, M. et al., 2011, Tonnesen, H.H., et al., 1993], ან, შესაძლოა, იწვევს გაუთვალისწინებელი ეფექტების განვითარებას [Fang, J.Y., et al., 2006]. უფრო მეტიც, ლიპოსომებში პრეპარატის ხსნადობის მომატება პოლიფენოლების არაორგანულ ხსნარებში შერევის საშუალებას იძლევა, რაც ხელს უწყობენ სისტემური ტოქსიკურობის შემცირებას და სამკურნალო დოზის გაზრდას, რაც თავის მხრივ პოლიფენოლების მაღალი დოზების შეყვანის in vivo შესაძლებლობას. ქმნის.

In vitro კვლევები პოლიფენოლებზე ადასტურებენ ლიპოსომების ინკორპორაციისას პოლიფენოლების შეცვლილ, ან გაუმჯობესებულ ეფექტურობას [Mignet, N et al., , 2012; Li, L., et al., 2005]. მაგალითად, ნაჩვენები იქნა კურკუმინის კონცენტრაციის 20-ჯერადი ზრდა ერიტროციტებში, როფესაც კურკუმინი ინკორპორირებული იყო ლიპოსომებში, DMSO-ში გახსნილ კურკუმინთან შედარებით [Li, L., Braiteh, F.S., Kurzrock, R. 2005].

რეზვერატროლის ლიპოსომაში ინკაპსულაციისას იზრდებოდა ამ ნაერთის ბიოაქტივობა, რავ იხსნებოდა აქტიური ნაერთის უჯრედებზე გხანგრძლივებული ზემოქმედებით [Wang, G., et al., 2012].

პოლიფენოლური ლიპოსომების in vivo ფორმირების შესძლებლობა ნაჩვენებია მთელი რიგი კვლევებში. პოლეფენოლების ბიოაქტივობა პერორალრი მიღების დროს უმჯობესდება ლიპოსომების გამოყენებისას, როგორც ნაჩვენებია კატეხინების,დეჰიდროქსილმარინის, კვარცეტინის, პუერანინის და სილიმარინის შემტხვევაში (ცხრილი 3).

განვიხილოთ პოლიფენოლენის ლიპოსომებში ინკორპორაციის უპირატესობა თავისუფალ პოლიფენოლებთან შედარებით, პოლიფენოლების სისხლის პლაზმაში

კონცენტრაციის პოზიციებიდან. მაგალითად, პერორალურად მიღებული ლიპოსომური კატეხინის კონცენტრაცია სისხლის პლაზმაში იზრდებოდა 1,6 ჯერ თავისუფალი კატეხინების პერორალური მიღებასთან შედატრბით.

პერორალურად მიღებული ლიპოსონური კურკუმნის კონცენტრაცია სისხლის პლაზმაში იზრდებოდა 7 ჯერ პერორალურად მიღებული ან ლიპიდებთან შერეული კურკუმინის კონცენტრაციასთან შედარებით [Takahashi, M., et al., 2009].

ზოგადად, ლიპოსომების გამოყენება ზრდის პოლეფენოლების კონცენტრაციას სისხლის პლაზმაში 1.6-დან 5-მდე.

პოლეფენოლების ლიპოსომებთან კომპლექსში პარენატალური გზებით (ინტრავენურად, ინტრაპერიტონიალურად) გამოყენება აგრეთვე ზრდიდა მათ ბიოეფექტურობას [Mandal, et al., 2002; Yuan, Z.P., et al., 2006; Seguin, J., et al., 2013].

ამ თვალსაზრისით ინტერესს წარმოადგენს პოლიფენოლების თერაპიული ეფექტის მნიშვნელოვანი ზრდა [Coimbra, M., et al., 2011]. მაგალითად, ფიზეტინისა და კვარცეტინის ლიპოსომური კომპლექსების სისტემური ინექციები იწვევდა სიმსივნის ზრდის შეცერებას [Yuan, Z.P.. et al., 2006; Seguin, J., et al., 2013]. ლიპოსომური კურკუმინი უზრუნველყოფდა სიმსივნეების BxPC3 და MiaPaCa2 ზრდის სუპრესიას ინტრავენური ინექციების შემდეგ. ნაჩვენები იქნა, რომ ეს ეფექტი განპირობებულია ანგიოგენეზის ინჰიბიციით და CD31, VEGF და IL-8 ექსპრესიის დაქვეითებით, მაშინ როდესაც მხოლოდ ცარიელი ლიპოსომები არაეფქტური აღმოჩნდა [Li, L., Braiteh, F.S., Kurzrock, R., 2005].

პოლეფენოლების ბიოაქტივობის გაძლირება ლიპოსომებში ინკორპორაციისას განპირობებულია მელი რიგი ფაქტორებით. პირველ რიგში ლიპოსომების გამოყენებისას ადგილი აქვს მოქმედების დროის გახანგრძლივებას, [Yuan, Z.P., et al., 2006; Seguin, J., et al., 2013], რაც, შესაძლოა, განპირობებულია პოლიფენოლების სტაბილიზაციით. აგრეთვე, დადგინდა, რომ ლიპოსომებში მოთავსებული კვარცეტინი ეფექტური აღმოჩნდა დაბალი დოზების პირობებში, რომლების თავისუფალი კვერცეტინის შემთცვევაში არაეფექტური იყო [Li, L.; Braiteh, et al., 2005].

დადგენილია, რომ ლიპოსომური ფორმები პოლიფენოლების აკუმულირდება ღვიძლში, სადაც ისინი მოქმედებენ რეზერვუარის მსგავსად, რომელსაც ძალუძს გაახანგრძლივოს პოლიფენოლების ცირკულაცია სისხლში. სისხლში ცრკულაციის

დროის გახანგრძლივებასთან ერთად იზრდება ლიპოსომებში ინკორპორირებული პოლიფენოლების უჯრედში შეღწევის უნარი, რაც ასრულებს მნიშვნელოვან როლს პოლიფენოლების სამკურნალო ეფექტის გაუმჯობესობაში კანცერის და სხვა დაავადებების მკურნალობის დროს.

ლიპოსომები - ნანონაწილაკებია, რომელსაც გააჩნია განსაკუთრებით მაღალი კომერციალიზაციის პოტენციალი. ლიპოსომების უპირატესობა განპირობებულია მათი მაღალი სტაბილობით, რაც უზრუნველყოფს სამკურნალო პრეპარატების სტაბილობის

ცხრილი 3

ლიპოსომები, წარმოებული ბიოლოგიური კვლევებისათვის

პოლიფენოლი	შემადგენლობა	%	ეფექტი
კატეხინი	Epikuron 200/Chol/Tween 80/ethanol	0.3	ზრდის ბიოაქტივობას
კურკუმინი	SPC; film Hydration, extrusion, MLV	3	გახანგრზლივებული ანტიოქსიდანტური ეფექტი
კურკუმინი	DMPC or DMPC/DMPG Lyophilisate	10 to 25	ანგიოგენური აფექტი და სიმსივნის ზრდის შეზღუდვა
კურკუმინი/რეზვერატროლი	DMPC, lyophilisate	20	აუმჯბესებს ეფექტურობას პროსტატის კანცერის საწინაამრდეგოდ
დეჰიდრო სლიმარინი	SPC/Chol/IPM/sodium cholate 1.5/0.3/1/1 film + freeze-drying	25	ზრდის პერორალურ ბიოაქტივობად
EGCG კატეხინი	EPC/Chol/DA 4/1/0.25	20	ეწინაამრდეგება ბიოდეგრადაციის
ფიზეტინი	DOPC/DOPC/DODA-PEG2000 /Fis	18	ზრდის ბიოაქტივობას და ანტისიმსივნურ აქტივობას
ქვარცეტინი	PE/Chol/DPC/QC 7/1/1/1	10	ანტიოქსიდანტური ეფექტი

ქვარცეტინი	Lecithin/Chol/ PEG 4000	18	ზრდის ბიოაქტივობას და ანტისიმსივნურ აქტივობას
რეზვერატროლი	DPPC/DSPE PEG2000/Chol	10	ანტიოქსიდანტური აქტივობა
რეზვერატროლი	P90G/DCP/Chol	30	ზრდის ხსნადობას, სიცოცხლისუნარიანობას და ანტისიმსივნურ აქტივობას in vivo
სილიმარინი	Lecithin/Chol/stearyl amine/Tween 20	0.1–5	აუმჯობესებს სტავილობას და ქიმიურ ხსნადობას
სილიმარინი	Mannitol, phospholipids proliposomes	1.5	ზრდის აქტივობას
სილიმარინი	Mannitol, phospholipids proliposomes	20	ზრდის სტაბილობას, ბიოაქტივობას და ჰეპატოპროტექცია
სილიმარინი	Mannitol, phospholipids proliposomes	20	აუმიობესებს პერორალურ ბიოაქტივობას

შენარჩუნებას და ბიოაქტივობის ზრდას. ამის გარდა თავისი მცირე ზომების გამო ლიპოსომები გადაიტანება სისხლის მიმოქცევის სისტემის მიერ ერიტროციტების მსგავსად (რაიმე ცვლილებების გარეშე). აგრეთვე ლიპოსომები ინარჩუნებენ სტაბილობას ანთებით ქსოვილებში, მათ შორის ენდოთელიუმში.

პოლიფენოლების ერთერთი უარყოფითი მხარეა - მათი სწრაფი ელიმინაცია ორგანიზმის მიერ მიღების შემდეგ. რაც შეეხება ლიპოსომების სტაბილობას, პოლიფენოლების ინკაპსულაციისას დადებით როლს თამაშობს პოლიფენოლების საკუთარი ანტიოქსიდანტური აქტივობა, რომელიც განსაკუთრებით ეფექტურად მოქმედებს დაბალი სტაბილობის მქონე ლიპოსომებზე მათი შემადგენლობაში შემავალი უჯერი ლიპიდების გამო. ნაჩვენები იქნა, რომ პოლიფენოლებს შეუძლია

შეამცირონ ლიპიდების დაჟანგვის და აგრეგაციის ინტენსივობა, რის გამოც ისინი უზრუნველყოფენ ლიპოსომების სტაბილობას [Atrooz, O.M., 2007]. მაშასადამე, პოლიფენოლების ინკაპსულაცია ლიპოსომებში უზრუნველყოფს თვით პოლიფენოლების სტაბილობას, მაგრამ ამავე დროს ხელს უწყობს ლიპოსომების სტაბილიზაციას და შენახვას.

სისხლიდან ლიპოსომების სწრაფი განთავისუფლების მიზნით შემოთავაზებულია ლიპოსომების მოდიფიკაციის სხვადასხვა მეთოდები, რომლებიც ლიპოსომების ზედაპირის სისხლის პლაზმის ცილებთან ურტიერტქმედების დაქვეითების შედეგად იძლევიან საშუალებას, როგორც ლიპოსომების სიცოცხლის ნახევარხანგრძლივობის გაზარდის რამოდენიმე წუთიდან რამოდენიმე საათამდე [Semple, S.C., et al., 1996; Mu, X., Zhong, Z., 2006].

ლიპოსომების მაღალ დოზებში გამოყენება აგრეთვე ხელს უწყობს მათი სტაბილური მდგომარეობის პროლონგირებას სისხლის პლაზმის ცილებთან ურთიერტქმედების პრცესის გაჯერების გამო [Oja, C.D., et al., 1996].

ლიპოსომები მაღალი დენედობით ხასიათდებიან, რაც განაპირობებს ლიპოსომების ლიპიდური ფრაქციის გადასატანი პრეპარატების მიმართ მაღალი ადაპტაიის უნარიანობას და მათი ზედაპირის მოდიფიკაციის შესაძლებლობას სისხლის მიმოქცევის სისტემაში ცირკულაციის გახანგტძლივებისა, ან სამიზნე ორგანოში შერწევის პროცესის ეფექტურობის ამაღლების მიზნით.

ლიპოსომების ლიპიდური შემადგენლობა უნდა ემსახურებოდეს დაბალი ხსნადობის მქონე პრეპარატების ინკაპსულაციის გაუმჯობესებას [Khan, R., et al., 2008]. ლიპიდური ბიშრის განვლადობის მომატება, კატეხინების შემთხვევაში ხელს უწყობს პრეპარატის ეფექტურობის ზრდას [Mu, X., Zhong, Z, 2006].

შესწავლილი იყო დამოკიდებულება ლიპიდების გეომეტრიისა და სისხლში უხსნადი პრეპარატების ინკაპსულაციის ხარისხს შორის [Ali, M.H., et al., 2013]. ამის გარდა, პოლიფენოლის ლიპოსომის ლიპიდურ ბიშრეში შეღწევის ეფექტურობის ამაღლების მიზნით გასათვალისწინებელია პოლიფენოლის სივრცული სტრუქტურა.

მაშასადამე, როგორც დამტკიცებულ იქნა მრავალ in vitro და in vivo კვლევებში, პოლიფენოლები შეიძლება განიხილებოდეს როგორც ნაერთები, მახასიათებელი მკვეთრად განსაზღვრული ფარმაკოლოგიური აქტივობით სხვადასხვა დაავადებების მკურნალობის დროს, კიბოს მკურნალობისა და პრევენციის ჩათვლით.

პოლიფენოლების დაბალი ბიოშეღწევადობის გათვალისწინებით, აუცილებელია შრომატევადი კვლევების ჩატარება ამ რობლემის გადალახვის მიზნით, რის შემდეგადაც შესაძლებელი გახდება ამ აგენტებისათვის რეკომენდაციის გაწევა პაციენტებში გამოყენებისათვის სამკურნალო პრეპარატების სახით.

როგორც ჩვენ უკვე აღვნიშნეთ, ლიპოსომებს ძალუძთ პოლიფენოლების ხსნადობისა და სტაბილობის ზრდა, რაც მათი ბიოშეღწევადობისა და თერაპევტული სარგებელის საწინდარი უნდა იყოს.

თუმცა პოლიფენოლების ლიპოსომებში ინკაპსულაციის სიჩქარე ჯერ კიდე საკმაოდ დაბალია, ამ ნაერთების მომატებული ხსნადობა და ეფექტურობა ლიპოსომებთან კომპლექსში ხელს შეუწყობს პოტენციურად ეფექტური კლინიკური ეფექტების გამოვლინებას. მედიცინაში ნატურალური პროტექტორების გამოყენებისადმი მეცნიერების მზარდი ინტერესის გათვალისწინებით, არსებობს მაღალი ალბათობა იმისა, რომ ლიპოსომების გარდა ფარმაცევტულ ბაზარზე გამოჩნდება ახალი, პოლიფენოლშემცველი ნანონაწილაკები, მიკროემულსიები, პოლიმერული იმპლანტანტები.

კიბოს ქემოპროფილაქტიკა და ქემოთერაპია წარმოადგენს ფარმაცევტული ინდუსტრიის ერთერთ უმნიშვნელოვან პერსპექტივას, რომლის წარმატებული განვითარება შესაძლებელია ზოგიერთი პოლიფენოლების გამოყენებით. მაგალითად, რეზვერატროლის მიკრონაწილაკებმა უკვე გაიარეს წინაკლინიკური კვლევების ეტაპი, დადგენილია მაათი ეფექტურობის 3.6 ჯერადი ზრდა არამიკრონიზირებულ ნაწილაკებთან შედარებით, ნაჩვენებია ღვიძლის კიბოს უჯრედების გაძლიერებული აპოპტოზის ინტენსიფიკაცია [Howells, L.M., et al., 2011]. კურკუმინმა პერორალური მოხმარების კაპსულების სახით (შეიცავს აგრეთვე მწვანე ჩაის, Polygonum cuspidatum-ს და სოიოს ექსტრაქტს) აგრეთვე წარმოადგენს მეცნიერების ინტენსიური შეისწავლის საგანს მსხვილი ნაწლავის კიბოს პრევენციის მიზნით [Teiten, M.H., et al., 2010]. აგრეთვე მიმდინარეობს მთელი რიგი კვლევები ადვილად მეტაბოლიზირებული პრეპარატების წინამორბედების შემუშავების მიზნით [Hirpara, K.V., et al., 2009; Walle, T., 2007; Rimando, et al., 2002].

არსებობს მოსაზრება, რომ ახალი პოლიფენოლშემცველი პრეპარატები გააუმჯობესობენ პოლიფენოლების კლინიკურ ეფექტურობას და ფართოდ იქნება გამოყენებული სხვადასხვა დაავადებების მკურნალობის და პრევენციის დროს.

თავი 2. კვლევის მასალა და მეთოდები

მწვანე ჩაის ექსტრაქტი

მწვანე ჩაის ექსტრაქტს (23% ჩვეულიბრივი მწვანე ჩაის ექსტრაქტი და 80% პოლეფენოლების შემცველი) ვაწარმოებდით Camellia sinensis L. ფოთლებიდან („კოლხეთი 93“).

ფოთლების ქიმიურ შემადგენლობას ვსაზღვრავდით საერთო ბიოქიმიური ანალიტიკური მეთოდების საშუალებით.

კერძოდ: მცენარეულ მასალაში პოლიფენოლების საერთო შემცველობის განსაზღვრის მიზნით გამოყენებულ იქნა მოდიფიცირებული კალომეტრიული მეთოდი Folin-Ciocalteu რეაგენტის გამოყენებით. ამისათვის მცენარეს მშრალი ექსტტრაქტის 0.5 გ (ან 10 მლ სუფთა მცენარეული მასალების თხევადი ამონაწერი) აღებული იყო დუბლიკატში 50 მლ მოცულობით კოლბაში; ნიმუშს ემატებოდა ცხელი წყალი (25 მლ, მაქსიმალური ტემპერატურა 60 ^{0} C) და მიღებული ხსნარი გრილდებოდა ოთახის ტემპერატურამდე. აცეტონიტრილი (5 მლ) ემატებოდა გაგრილებულ ნიმუშს ოთახის ტემპერატურაზე, ხდებოდა მისი განზავება დეიონიზირებული წყლით და არევა. ექსტაქტის ნიმუშს (1.0 მლ) პიპეტის საშუალებით გადაიტანებოდა 100 მლ-ის მოცულობის მქონე ვოლომეტრულ სინჯარაში, ემატებოდა წყალი და ხდებოდა შერევა.

განზავებული ექსტრაქტის ნიმუში და გალის მჟავას სტანდარტული ხსნარი გადაიტანებოდა პიპეტის საშუალებით ცალცალკე ერთჯერად სინჯარებში. გახსნილი Folin-Ciocalteu ფენოლის რეაგენტი (5 ml) ემატებოდა სინჯარებს. Folin-Ciocalteu-ის რეაგენტის დამატებიდან 3-8 წუთის შემდეგ ნატრიუმ კარბონატის ხსნარი (4 მლ) ემატებოდა სინჯარებს, სინჯარები იხურებოდა, ხდებოდა ხსნარის შერევა და შემდეგ ნიმუშებს და სტანფარტულ ხსნარს ტოვებდნენ ოთახის ტემპერატურაზე 60 წუთის განმავლობაში, და შემდეგ ხსნარების ოპტიკური სიმკრივე იზომებოდა სპექტროფოტომეტრზე ტალღის სიგრძეზე λ 765 ნმ.

გალის მჟავას სტანდარტული ხსნარისათვის ვაგებდით საკალიბრო მრუდს.

პოლიფენოლების საერთო შემცველობას ვსზღვრავდით ნიმუშის ოპტიკური სიმკვრივისა და გალის მჟავას სტანდარტული მრუდის დახრილობის მიხედვით, შემდეგ ვსაზღვრავდით პოლიფენოლების პროცენტულ შემადგენლობას ნიმუშის მასის გათვალისწინებით.

პექტინის გამოყოფა

ლიპიდებისა და პიგმენტის მოშორების მიზნით ჩვეულებრივი მწვანე ჩაის ექსტრაქტი (5 გ) ორჯერ ირეცხებოდა (30 წუთის განმავლობაში) $CH_3OH–CHCl_3$ ხსნარის 100 ნლ-ში (1:1, მოც/მოც). შემდეგ ვაწარმოებდით ფილტრაციას Whatman-ის ფილტრში (N3) და დარჩენილი მასალა ირეცხებოდა აცეტონით მოყვითალო-თეთრი ფერის მიღებამდე. მიღებულ ფხვნილს ვაშრობდით ოთახის ტემპერატურაზე და ვოყენებდით მწვანე ჩაის პექტინის მისაღებად (0.45 გ).

პექტინის სუბსტაბციის რაოდენობრივი ანალიზი იწარმოებდა მეთოდით, რომელიც ეფუძნება გალაქტურონული მჟავას ნატრიუმის m-ჰიდროქსიდიფენილთან რეაქციას გოგირდის მჟავაში გახსნილი თეთრაბორატის არეში.

ამინმჟავები განისაზღვრებოდა მოდიფიცირებული მეთოდით, რომელიც ეფუძნებოდა თავისუფალი ამინმჟავების ნინჰიდრინ რეაგენტთან ფერად რეაქციას; რეაქციის შედეგად მიიღებოდა იისფერი შეფერილობა. მცენარის თხევადი ექსტრაქტის 25 მლ-ს ემატებოდა აცეტონი პროპორციით 1:3-თან, შესანამისად. ნარევს ვტოვებდით ოთახის ტემპერატურაზე 3 საათის განმავლობაში და შემდეგ ვახდენდით ცენტრიფუგირებას 7000 g-ზე 15 წუთის განმავლობაში. სუპერნატანტი გადაიტანებოდა კერამიკულ ჯამში და თავსდებოდა ცხელ ფირფიტაზე სრულ აორთქლებამდე. მშრალი ექსტრაქტი შემდეგ იხსნებოდა ციტრატის ფოსფატის ბუფერში (25 მლ) pH-ზე 2.2.

ნინჰიდრინის რეაგენტის 1 მლ ემატებოდა მიღებულ ხსნარის 2 მლ-ს (მონომეთილის 15.1 მლ, აცეტატის ბუფერის 5 მლ pH-ზე 5.5, ნინგიდრინის 0.4 გ, $SnCl_2$-ის 0.008 გ). რეაქციისათვის ნარევს ვათავსებდით თერმოსტატში 80^0C 40 წუთის განმავლობაში. იისფრად შეფერილი პროდუქტის შთანთქმას ვსაზღვრავდით

ტალღის სიგრძეზე λ 570 მნ. წრფივი საკალიბრო მრუდი მიიღებოდა გლუტამინის მჟავას სტანდარტული ხსნარიდან 570 ნმ სტანდარტული ოპტიკური სიმკრივეების აგების შედეგად კონცენტრაციებისათვის 0.01-0.1 მგ/მლ. ნიმუშების მინერალიზაციას ვაწარმოებდით 525 ^{0} C-ზე წვის ღუმელში.

მიკრო ანალიზი შაქრის გამოყოფისათვის.

შაქრის გამოყოფის სტანდარტულ ანალიზს ვაწარმოებდით Green და თანაავტორების მიერ აღწერილი მეთოდის მიხედვით. ნიმუშს (1 მლ) სწრაფად ვუმატებდით სუბსტრატის 10 მგ-ს და ციტრატის ბუფერის 1 მლ (0.1 M, pH 5.0); ან სუბსტრატის 1 მლ იხსნებოდა ციტრატის ბუფერის 0.1 M (pH 5.0) 50-მლ-ან ფოლინის მილებში. თითოეული ნიმუშისათვის კონტრალი მზადდებოდა სუბსტრატთან და ბუფერთან ერთად. ვახდენდით ინკუბაციას 40°C-ზე 24 საათის განმავლობაში. ინკუბაციის შემდეგ 4 კომპონენტიანი სპილენძის რეაგენტი: KNa ტარტარატი: Na_2C03: Na_2 SO4: $NaHCO_3$ (1:2:12:1.3) და 1 ნაწილი $CuSO_4 \cdot 5H_2O$:Na_2 SO4 (1:9), ემატებოდა თითოეულ სინჯარას. სპილენძის რეაგენტები მზადდებოდა დუღილით კომპონენტების სრულ გახსნამდე; შემდეგ მათი შენახვა შესაძლებელი იყო ოთახის ტემპერატურაზე. რეაგენტები შერევა ხდებოდა უშუალოდ, ყველა სინჯარას ვადუღებდით წყლის აბაზანაზე 10 წუთის განმავლობაში.

სინჯარები გრილდებოდა, არსენომოლიბდატის რეაგენტის 2 მლ (25 g ამონიუმის მოლიბდატი 450 ml H_2O + 21 ml H $_2SO_4$ + 3 g Na_2 $HAsO_4 \cdot 7H_2$ O იხსნებოდა წყლის H_2O 25 მლ-ში) ემატებოდა თითოეულ სინჯარას, შემდეგ სინჯარების შენჯღრევის შემდეგ ემატებოდა საბოლოო მოცულობა 25 მლ წყალთან ერთად. ვახდენდით თითოეული ნიმუშის გაფილტრვას ფილტრის ქაღალდში და გაზომვები ტარდებოდა სინათლის ტალღაზე 500 ნმ-ზე სპექტროფოტომეტრზე.

უჯრედული კულტურა

კვლევები ჩატარდება ადამიანის ლეიკემია ტრანსფორმირებულ მომწიფებულ T უჯრედებზე (Jurkat უჯრედები) (DSMZ-Deutshe Sammulung von Mikroorganismen und Zellkulturen (Germania)). უჯრედების კელტივირება მოხდება სტანდარტულ პირობებში.

ადამიანის ლეიკემია ტრანსფორმირებული მომწიფებული T-უჯრედები (Jurkat უჯრედები, გამოყოფილი ლეიკემიით დაავადებული 14 წლის ბიჭის სისხლიდან 1970 წელს) ფართოდ გამოიყენება T-ლიმფოციტების სასიგნალო გზების შესწავლისათვის.

Jurkat უჯრედები მრავლდებოდა სტანდარტულ პირობებში ბიოაქტიური არეს RPMI 640 (GIBSO), ინაქტივირებული ემბრიონული ხბოს შრატის (Sigma), L-გლუტამინის (4მM), პენიცილინის (100ერთ/მლ) და სტრეპტომიცინის (100ერთ/მლ) შემცველ სუსპენზიაში 37^0 C, ტემპერატურაზე, ნოტიო 5% CO_2 შემცველ გარემოში. ექსპერიმენტებს ვატარებდით უჯრედების კონცენტრაციაზე 0,3 – 0,6 x 10^6 უჯრედი საინკუბაციო არეს 1 მლ-ზე.

ოქსიდაციური სტრესით ინდუცირებული აპოპტოზის მოდელირება:

ოქსიდაციური სტრესით ინდუცირებული აპოპტოზის მოდელირების მიზნით Jurkat უჯრედების საინკუბაციო სუსპენზიაში ემატებოდა 30%-ნი წყალბადის ზეჟანგი (H_2O_2) (Sigma) დოზით 10 μM, 25 μM, 50 μM, 100 μM. ინკუბაცია გრძელდებოდა 4, 6, 8 და 24 საათის განმავლობაში.

სხვადასხვა ანტიოქსიდანტური პრეპარატების (ვიტამინი C, ვიტამინი E, C + E ვიტამინების კომპლექსის, მწვანე ჩაის და მისი ექსტრაქტების (მწვანე ჩაის საერთო ექსტრაქტი, მწვანე ჩაის კატეხინები და მწვანე ჩაის პექტინი) ციტოტოქსიურობის დადგენის მიზნით უჯრედების საინკუბაციო არეში ვამატებდით C და E ვიტამინების და C + E ვიტამინების კომპლექსის სუსპენზიებს დოზით: 0,017μg / 100 მიკროლიტრი C, E და C + E ვიტამინების სუსპენზიის, 0,3 μg / 100 მიკროლიტრი მწვანე ჩაის

სუსპენზიის და 2,5 მგ / 100 მიკროლიტრი მწვანე ჩაის კატეხინებისა და მწვანე ჩაის პექტინის სუსპენზიის. ინკუბაციას ვახდენდით 24 საათის განმავლობაში.

DPPC და DPPA ლიპოსომების პრეპარირება

ლიპოსომების დასამზადებლად გამოვიყენებული იქნა ორი ტიპის ფოსფოლიპიდი., ესენია: დიპალმიტოილფოსფატის მჟავა - DPPA (L-α –Phosphatidic Acid), დიპალმიტოილ-ნატრიუმის მარილი (Dipalmitoyl-Sodium Salt) (ფიგურა 7), რომლის ქიმიური ფორმულა შესაბამისად არის $C_{35}H_{69}O_8P{\cdot}Na^+$ და მოლეკულური წონა შეადგენს 648,89 გ/მოლი. რაც შეეხება მეორე ლიპიდს, ეს არის დიპალმიტოილფოსფატიდილ ქოლინი-DPPC (L-α-Phosphatidylcholine, Dipalmitoyl -) (ფიგურა 8), მისი ქიმიური ფორმულა არის $C_{40}H_{80}NO_8P$ (DPPC) და მოლეკულური წონა - 734.039 გ/მოლი.

ნანონაწილაკები პრეპარირებული იქნა მწვანე ჩაის პოლიფენოლების სხვადასხვა კონცენტრაციების თანაობისას.

უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობის შეფასების (სიცოცხლისუნა-რიანობის) MTT ტესტი:

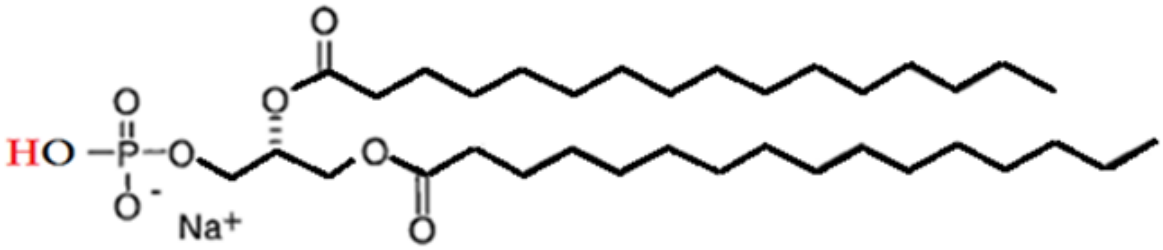
MTT-ს (3-(4,5-დიმეთილთიაზოლ-2)-2,5-დიფენილტეტრაზოლიუმ ბრომიდი) (Sigma) ხსნარს ვუმატებდით Jurkat უჯრედებს (30 მკლ სუსპენზიის 100 მკლ-ზე) და ვაინკუბირებდით 4 საათის განმავლობაში 37^0C-ზე 5% CO_2-ის პირობებში. ინკუბაციის შემდეგ ფრთხილად ვიღებდით სუპერნატანტს; ნალექს ვუმატებდით გამხსნელს 100% დიმეთილსულფოქსიდს (DMSO) 100 მკლ-ის ოდენობით. შთანთქმა იზომებოდა სპექტროფოტომეტრზე ტალღის სიგრძეზე 570 ნმ.

ვანგარიშობდით პროლიფერაციის კოეფიზიენტს ფორმულის მიხედვით:

$$K = A_{\text{ცდა}}/A_{\text{კონტროლი}}$$

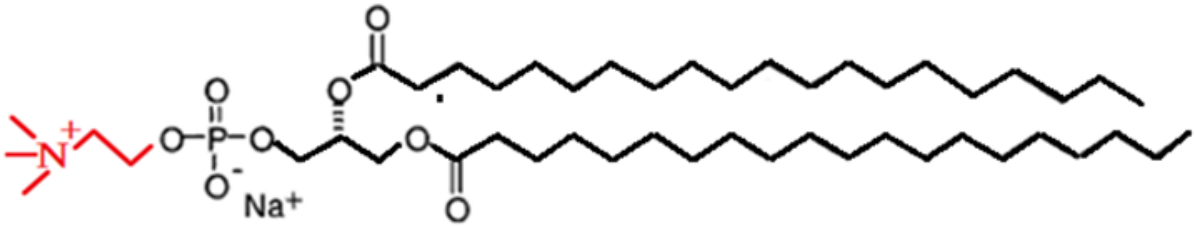
აპოპტოზის ინტენსივობის განსაზღვრა:

აპოპტოზის ინტენსივობის განსაზრვრის მიზნით ვანგრიშობდით დაბალი პროლიფერაციის ინტენსივობის მქონე უჯრედების რაოდენობას K_1 ფორმულის მიხედვით: $K_1 = 1 - K$ (სადაც K - პროლიფერაციის კოეფიზიენტი).



ფიგურა 7

DPPA ლიპიდის სტრუქტურა



ფიგურა 8

DPPC ლიპიდის სტრუქტურა

ანტიოქსიდანტური ფერმენტების – კატალაზას და სუპეროქსიდ-დისმუტაზას აქტიურობა:

ანტიოქსიდანტური ფერმენტების – კატალაზას და სუპეროქსიდ-დისმუტაზას აქტიურობას ვსაზღრავდით სპექტროფოტომეტრული მეთოდით.

სისხლის შრატში კატალაზას აქტივობის განსაზღვრა:

ანტიოქსიდანტურ ფერმენტ კატალაზას აქტივობას ვსაზღვრავდით Aebi-ის მეთოდით (1984), რომელიც მოდიფიცირებულ იქნა М. А. Королюк, Л. И. Иванова-ს და სხვების მიერ (1988) სპექტროფოტომეტრული მეთოდით.

მეთოდის პრინციპი ემყარება წყალბადის ზეჟანგის უნარს მოლიბდენის მარილებთან მყარი შეფერილი კომპლექსის წარმოქმნას. 0,1 მლ სისხლის შრატს ვუმატებდით 2.0 მლ 0.03% H_2O_2-ის ხსნარს. ცრუ სინჯში შრატის ნაცვლად ვიღებდით 0.1 მლ დისტილირებულ წყალს. 10 წთ-ით სინჯის 25^0C აბაზანაში მოთავსების შემდეგ მას ვუმატებდით 1.0 მლ 4%-იანი ამონიუმის მოლიბდატს. წარმოქმნილი შეფერილობის ინტენსივობას ვსაზღვრავდით სპექტრო-ფოტომეტრზე საცდელი სპექტრის 410 ნმ ტალღის სიგრძის საკონტროლო სინჯის სპექტრთან შედარების გზით, რომელშიც H_2O_2-ის მაგივრად ვუმატებდით 2 მლ წყალს.

კატალაზას აქტივობას ვსაზღვრავდით ფორმულით:

$$E=(A_{\text{ცრუ}}-A_{\text{ცდა}})V \text{ (მკატ/ლ)}$$

სადაც E არის კატალაზას აქტივობა (მკატ/ლ-ზე), $A_{\text{ცრუ}}$ და $A_{\text{ცდა}}$ – ცრუ და ცდის სინჯის ექსტინქციები; V - შეტანილი სინჯის მოცულობა (0,1მლ), t - ინკუბაციის დრო (10 წთ), k - H_20_2-ის მილიმოლარული ექსტინქციის კოეფიციენტი ($22,2*10^3$ მ^{-1} სმ^{-1}).

სუპეროქსიდდისმუტაზას (სოდ) აქტივობის განსაზღვრა:

სუპეროქსიდდისმუტაზის (სოდ) აქტივობას ვსაზღვრავდით Fried-ის მეთოდით (1975), რომელიც მოდიფიცირებული იყო Е. В. Макаренко -ს მიერ (1988).

უჯრედებს ვრეცხავდით ფიზიოლოგიურ ხსნარში (თანაფარდობა 1:2). 0.5 მლ ერითროციტული მასის ჰემოლიზს ვახდენდით 1,0 მლ ტრისის რეაქტივის tris-HCI-

iTH (pH=7,4) დამატებით, ვუმატებდით 0,25 მლ 96%-იან ეთანოლს და 0.15 მლ ქლოროფორმს; 10 წთ-ის განმავლობაში მიღებულ ხსნარს ვაცენტრიფუგებდით 5000 ბრუნზე/წთ-ში.

სოდ-ის განსაზღვრისათვის წარმოქმნილ სუპერნატანტის 0.02 მლ ვუმატებდით საინკუბაციო არეს, რომელიც შეიცავდა 2,7 მლ ბუფერს (0,05 M K_2HPO_4 და 0.1 mM EDTA-ს), 0.1 მლ 1.5mM ნიტროლურჯ ტეტრაზოლს და 0.1 მლ N-მეთილ-ფენაზონ-მეთილსულფატს, და ოპტიკურ სიმკვრივეს (E_1) ვსაზღვრავდით 540 ნმ ტალღის სიგრძის სპექტრთან შეფარდებაში. შემდეგ სინჯს ვუმატებდით 0.1 მლ NADH-ს, ვტოვებდით 10 წთ სიბნელეში t = 30^0C ტემპერატურაზე და ამის შემდეგ ისევ ვზომავდით ოპტიკურ სიმკვრივეს (E_2).

სუპეროქსიდდისმუტაზას აქტივობა ისაზღვრებოდა ოპტიკურ სიმკვრივეთა შორის მიღებული სხვაობით (E_1 - E_2), აქტივობის ერთეულად ვიღებდით ნიტროლურჯი ტეტრაზოლის აღდგენის რეაქციის დამუხრუჭების 50%-ს. ფერმენტის აქტივობას გამოვხატავდით 1 მლ ერითროციტებზე.

ცილის განსაზღვრა მოხდა O Lowry-ის მეთოდით.

Jurkat უჯრედებში NO-ს შემცველობის განსაზღვრა:

NO შემცველობას Jurkat უჯრედებში ვსაზღვრავდით სპექტროფოტომეტრულად მისი დაშლის პროდუქტების NO_3^- და NO_2-ის მიხედვით Griess-ის რეაქციის გამოყენებით.

Jurkat უჯრედების მოტოქონდრიული მემბრანული პოტენციალის (Δψ) განსაზღვრა:

უჯრედულ კულტურაში მიტოქონდრიული პოტენციალის ΔΨ-ს მნიშვნელობა განსაზღვრული იქნა გამდინარე ციტომეტრიის მეთოდით ლიპოფილური კათიონური სინჯის 3,3'-dihexyloxacarbocyanine iodide - $DiOC_6$ გამოყენებით. გამდინარე ციტომეტრია ფლუორესცენტულ სინჯთან ერთად უჯრედების დიდი რაოდენობის ჰეტეროგენულ პოპულაციაში მიტოქონდრიული მემბრანული პოტენციალის

განსაზვრის საშუალებას იძლევა. ანალიზისათვის საკმარისია უჯრედების შედარებით მცირე რაოდენობა (10^3 - 10^5), რომლებიც იღებება დაბალი კონცენტრაციის პირობებში (< 1 μM) (Castedo et al., 2002). მიტოქონდრიული პოტენციალის განსაზღვრის მიზნით ვაწარმოებდით 1×10^5 უჯრედის ინკუბაციას $DiOC_6$-ის 0.2 μM-ის 0.2 μM-ულ ხსნარის 120 მლ–ში 15 წუთის განმავლობაში 37° C ტემპერატურაზე.

კვლევები ჩატარდა ტალღის სიგრძეზე 488 ნმ, ემისია იზომებოდა 530 ნმ-ზე.

მწვანე ჩაის ექსტრაქტიდან გამზადებული პრეპარატის „კამელფინის“ ეფექტურობა სხეულის მასის კორექციისატვის მდედრობითი სქესის პაციენტებში:

მწვანე ჩაის Camellia sinensis L ფოთლების ექსტრაქტდან გამზადებული პრეპარატი „კამელფინი“ შეიცავს კატეხინების 30%. „კამელფინის“ 1 აბი შეიცავს ჩაის Camellia sinensis L ფოტლებიდან დამზადებული მშრალი ექსტრაქტის 100 მგ-ს. ცნობილია, რომ „კამელფინი“ არეგულირებს ლიპიდურ ცვლას, ამცირებს ქოლესტეროლის, დაბალი სიმკრივის ლიპოპროტეიდების და ტრიგლიცირედების შემცველობას სისხლში, ხელს უწყობს თერმოგენეზის ინტენსიფიკაციას და სხეულის მასის დაქვეითებას.

დაკვირვებას ვაწარმოებდით 20 პოსტმენოპაუზური პერიოდის ქალზე (48 - 60 წლის ასაკით) I ხარისხის სიმსუქბით (სხეულის მასის ინდექსი შეადგენდა 30-35.9 კგ/მ^2). ქალები იმყოფებოდნენ ნორმალური კვების რაციონზე, რაიმე შეზღუდბის გარეშე; კვირაში ერთხელ ვაწარმოებდით პაციენტების წონის კონტროლს.

პაციენტები გაყოფილ იყო 2 ჯგუფად. პაციენტების I ჯგუფში (ექსპერიმენტული ჯგუფი) იყო 12 ქალი 48 - 60 წლის ასაკით სიმსუქნის I ხარისხით; მათ შორის 5-ს ჰქონდა არტერიული ჰიპერტენზია (I სტადია - არტერიული წნწვა მერყეობდა 140-159/ 0-99 მმ Hg ფარგლებში). ექსპერიმენტული ჯგუფის (I ჯგუფის) პაციენტები ღებულობდნენ „კამელფინს“ (თითო აბს (300 მგ/კგ) 2 ჯერ დრეში) საჭმელის მიღებამდე 20-30 წუთით ადრე 4 კვირის განმავლობაში.

საკონტროლო ჯგუფი (II ჯგუფი) წარმოდგენილი იყო 12 ქალით 50 - 68 წლის ასაკით I ხარისხის სიმსუქნით, მათ შორის 6-ს გამოუვლინდა არტერიული ჰიპერტენზია (I სტადია - არტერიული წნწვა მერყეობდა 140-159/ 0-99 მმ Hg ფარგლებში).

შედეგების სტატისტიკური ანალიზი :

შედეგების სტატისტიკური ანალიზი ჩატარდა SPSS (ვერსია 10.0) პროგრამული პაკეტით. გამოთვლილია საშუალო სიდიდეები და საშუალო სიდიდეების სტანდარტული ცდომილებები. სხვაობა ჯგუფებს შორის ფასდებოდა Student-ის t-კრიტერიუმით. ყველა შემთხვევაში სტატისტიკური სარწმუნოება განისაზღვრებოდა $P<0,05$-ით.

თავი III. კვლევის შედეგები

3.1 მწვანე ჩაის ექსტრაქტის შემაგენლობის შესწავლა

ჩვეულებრივი მწვანე ჩაის ექსტრაქტი შედგება პოლიფენოლების, ამინომჟავების, შაქრის, პექტინის, ორგანული მჟავებისა და მინერალებისაგან (ცხრილი 4). ჩაის ნიმუში შეიცავდა პოლიფენოლების 80%,-ს, ამინმჟავების 10%-ს, ორგანული მჟავებისა 2%-ს და მინერალების 4%.

ცხრილი 4

მწვანე ჩაის ექსტრაქტს ქიმიური შემადგენლობა (%, მშრალ წონაზე)

პოლიფენოლები	ამინმჟავები	აღდგენილი შაქარი	პეკტინი	ორგანული მჟავები	მინერალები
23.5 ±0.9	14.3±0.5	27.2±0.9	10.5±0.6	5.3±0.4	8.0±0.5

*- წარმოდგენილი მონაცემებია წარმოდგენს სამი გაზომვის შედეგების საშუალო არითმეტიკულის ± სტანდარტული გადახრა

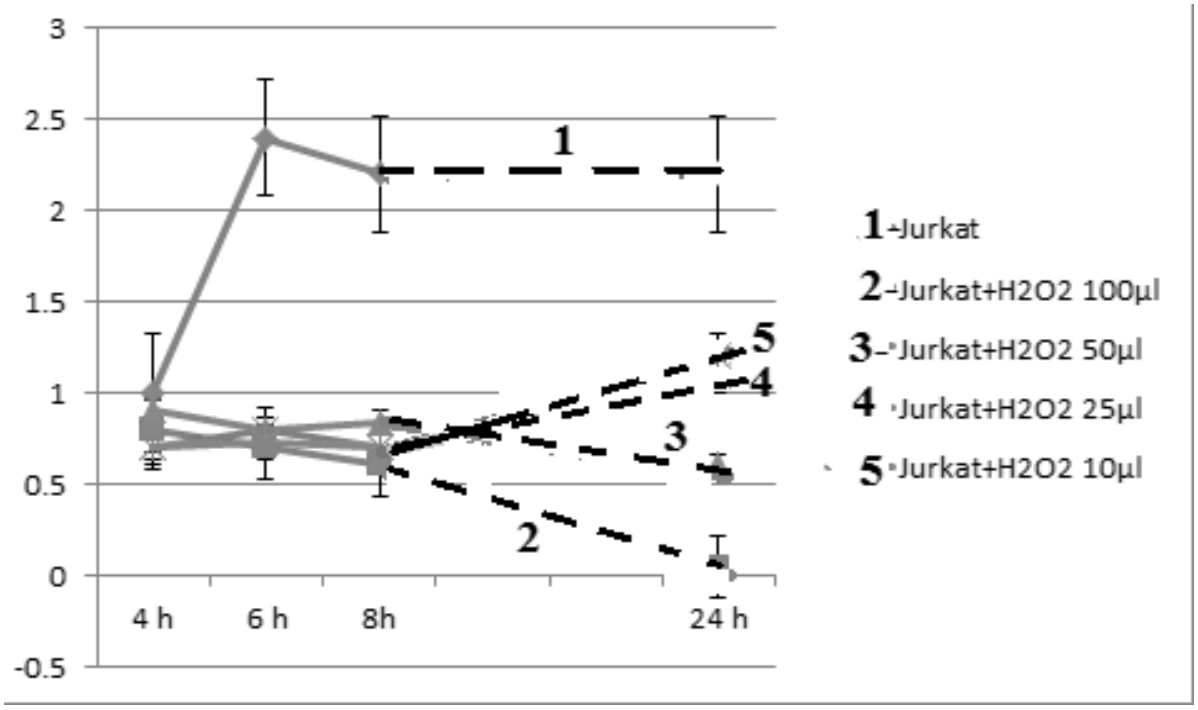
3.2 Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობა სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბაციის დროს

ფიგურაზე 9 მოყვანილი მრუდები ასახავს Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობას სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში 4 საათიანი, 6 საათიანი, 8 საათიანი, და 24 საათიანი ინკუბაციის დროს. ფიგურაზე 9 მოყვანილი მონაცემებიდან გამომდინარეობს, რომ ინტაქტური Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა პირველი 6 საათის განმავლობაში მკვეთრად იზრდება ინკუბაციის ვადის გახანგრძლივებასთან ერთად, რაც ვლინდება სპექტრიფოტომეტრული შთანთქმის ინტენსივობის ზრდით, და დაკავშირებულია უჯრედების გამრავლებასთან და რაოდენობის ზრდასთან. შემდგომში (24 საათის ჩათვლით) უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა მერყრობს და სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ განსხვავდება 6 საათისათვის დამახასიათებელი დონისაგან.

სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის (H_2O_2-ს კონცენტრაციით 100 μM, და 50 μM) პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა თანდათან მცირდება ინკუბციის ვადის გახანგრძლივებასთან ერთად და 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ მცირდება 40%-ით H_2O_2-ს კონცენტრაციისას 50 μM, ან აღწევს 0-ის მნიშვნელობას (ყველა უჯრედი გვდება) H_2O_2-ს კონცენტრაციისას 100 μM. ეს შედეგები განპირობებულია წყალბადის ზეჟანგის (H_2O_2) ციტოტოქსიკური აქტივობით.

დაბალი ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში (H_2O_2-ს კონცენტრაციით 25 μM. და 10 μM) ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობა პირველი 8 საათის განმავლობაში უმნიშვნელოდ მცირდება, ხოლო შემდეგ იწყებს თანდათან ზრდას და 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ 43%-ით და 56%-ით აღემატება საკონტროლო მაჩვენებლების დონეს (ფიგურა 2). ამ შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ წყალბადის ზეჯანგის დაბალი დოზები (10 μl, 25 μl H_2O_2) ავლენს ციტოტოქსიკურობას მხოლოდ პირველი 8 საათიანი ზემოქმედების განმავლობაში.

-



ფიგურა 9

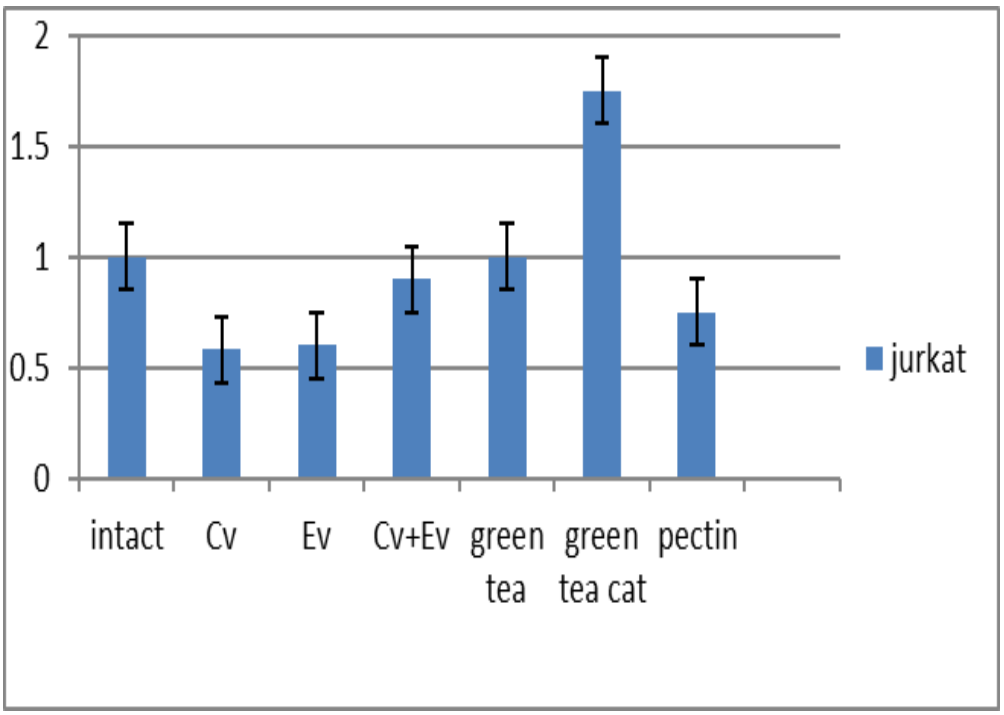
Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის ცვლილებები სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის ზემოქმედების დროს.

3.3 C, E ვიტამინების, C+E ვიტამინური კომპლექსის და მწვანე ჩაის ექსტრაქტების ზემოქმედება ინტაქტური Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობაზე

Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობაზე C, E ვიტამინების, C+E ვიტამინური კომპლექსის და მწვანე ჩაის ექსტრაქტების (მწვანე ჩაის ექსტრაქტი, მწვანე ჩაის კატეხინები, მწვანე ჩაის პექტინი) ზემოქმედების შესასწავლად ჩვენ შევაფასედ უჯრედების სიცოცხლისუნარიამობას ვიტამინებთან, ექსტრაქტებტან და წყალბადის ზეჟანგის (H_2O_2) სხვადასხვა დოზებთან ცალცალკე და ერთობლივი ინკუბაციის დროს (ფიგურა 10).

ფიგურა 10-ზე მოყვანილი მონაცემებიდან გამომდინარეობს, რომ C და E ვიტამინები ავლენს სუსტ ციტოტოქსიკურ ეფექტს ინტაქტურ Jurkat უჯრედებზე, მაშინ როდესაც C+E ვიტამინური კომპლექსი არ ავლენდა ციტოქსიკურ ეფექტს ინტაქტურ Jurkat უჯრედებზე.

ფიგურა 10-დან გამომდინარეობს, რომ მწვანე ჩაის პექტინი ავლენდა ციტოტოქსიკურიბას ინტაქტურ Jurkat უჯრედებზე, მაშინ როდესაც მწვანე ჩაის ექსტრაქტი და მწვანე ჩაის კატეხინების ექსტრაქტი არ ავლენდნენ ციტოტოქსიკურ თვისებებს, უფრო მეტიც, მწვანე ჩაის კატეხინები ავლენდნენ მასტიმულირებელ ეფექტს Jurkat უჯრედების პროლიფერაციის ინტენსივობაზე (2 ჯერ ზრდის უჯრედების პროლიფერაციის დონეს).



ფიგურა 10

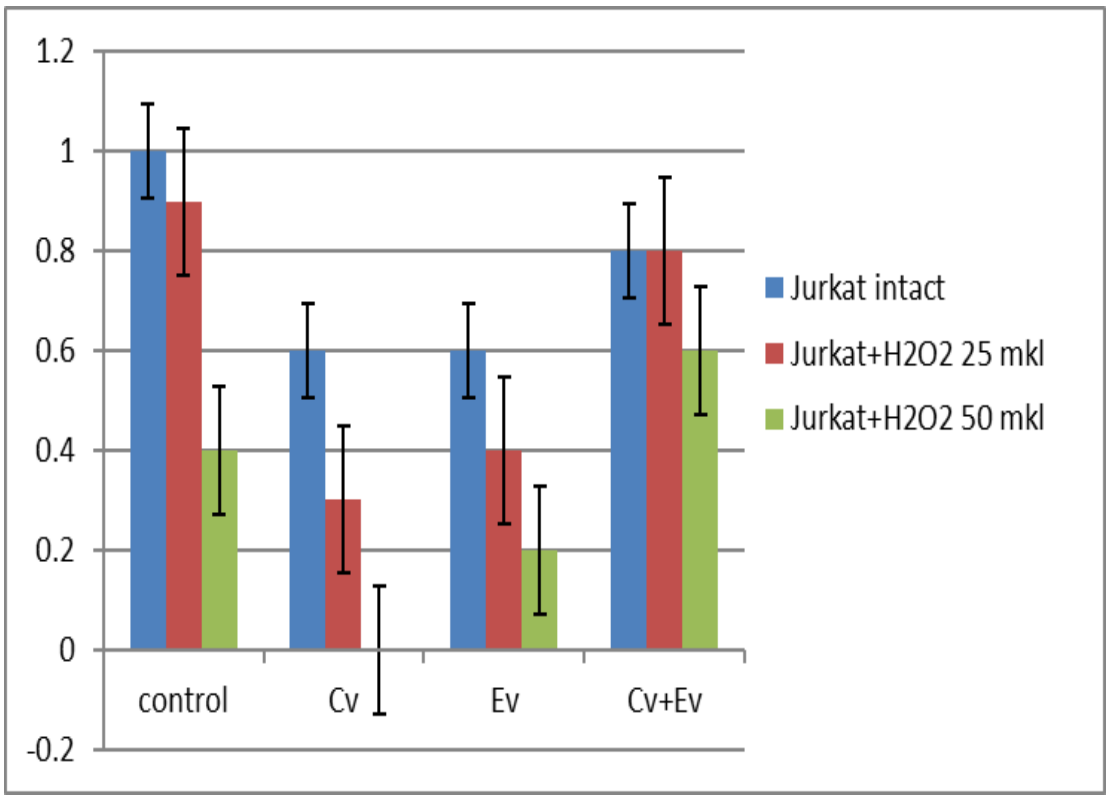
ინტაქტური Jurkat უჯრედების სიცივლისუნარიანობა C, E ვიტამინებთან და C+E ვიტამინურ კომპლექსტან, აგრთვე მწვანე ჩაის ექსტრაქტებთან (მწვანე ჩაის ექსტრაქტი, მწვანე ჩაის კატეხინების ექსტრაქტი და მწვანე ჩაის პექტინი) 24 საათიანი ინკუბაციის დროს

3.4 C, E ვიტამინების, C+E ვიტამინური კომპლექსის ზემოქმედება ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობაზე

საშუალო ინტენსივობისა და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში (H_2O_2 25, µl 50 µl) ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების საინკუბაციო არეში C და E ვიტამინების ცალცალკე დამატებისას, C და E ვიტამინების პროტექციული ეფექტი Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე არ დაფიქსირდა, ხოლო C და E ვიტამინის კომპლექსის დამატებისას დაფიქსირდა ამ კომპლექსის სუსტი პროტექციული ეფექტი ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის ინკუბაციის პირობებში (ფიგურა 11).

E ვიტამინის ანტიოქსიდანტური აქტივობა დაკავშირებულია მის თავისუფალრადიკალური რეაქციების შეწყვეტის უნართან. შედეგად, E ვიტამინის ,ანტიოქსიდანტური აქტივობის დროს წარმოიქმნება ტოკოპეროქსილის თავისუფალი რადიკალი [Feron O, Kelly RA., 2001], რომელსაც განსაზრვრულ პირობებში თავისუფალრადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაციის უნარი გააჩნია [van Tits LJ, et al., 2001] და, შესაბამისად, შეუძლია Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანიბის დაქვეითება,

C ვიტამინი - სუსტი ანტიოქსიდანტია, მას შეუძლია E ვიტამინის ანტიოქსიდანტური აქტივობის გაძლიერება ტოკოფერილ რადიკალის ტოქკოფეროლამდე რეგენერაციის გზით [Zhongguo Zhong Yao Za Zhi., 2010; Hosseinimehr SJ, et al., 2009] და, მაშასადამე, მას შეუძლია ამ მექანიზმის საშუალებით Jurkar უჯრედების სიცოცხლისუნარიანბის გაზრდა.

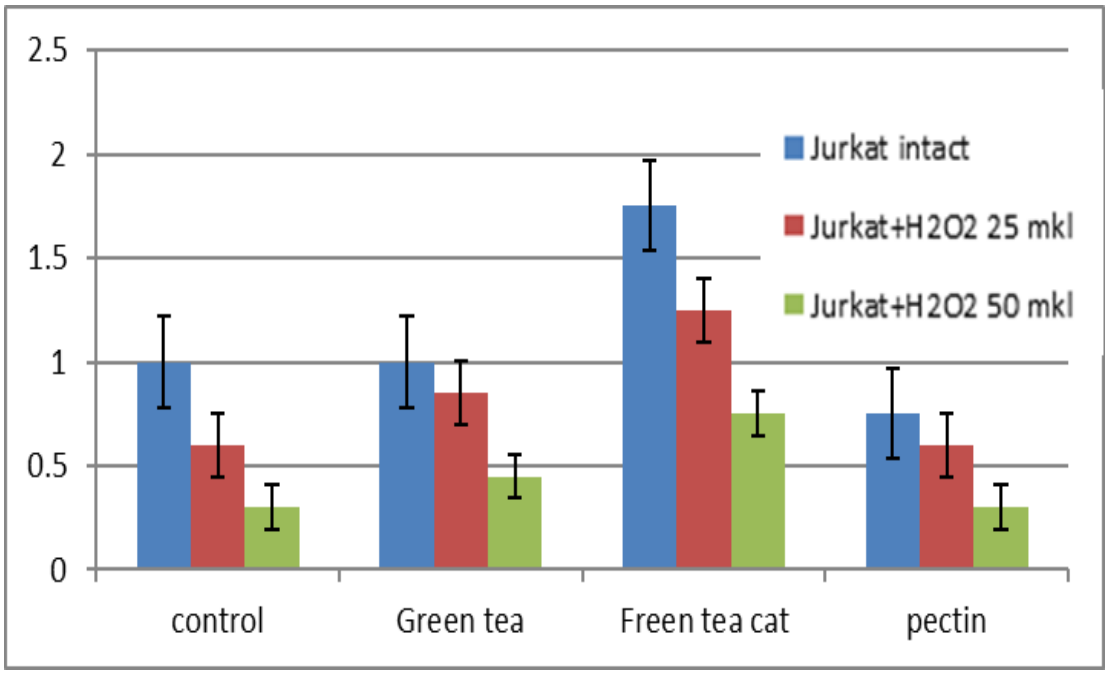


ფიგურა 11

სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის ცვლილებები C, E ვიტამინებისა და C+E ვიტამინური კომპლექსის ზემოქმედების პირობებში

3.5 მწვანე ჩაის ექსტრაქტების ზემოქმედება ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობაზე

საშუალო ინტენსივობისა და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში (H_2O_2 25 µl , 50 µl) ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების საინკუბაციო არეში მწვანე ჩაის ექსტრაქტის, მწვანე ჩაის კატეხინების და მწვანე ჩაის პექტინის დამატებისას დადგინდა, რომ მწვანე ჩაის ექსტრაქტის ავლენდა სუსტ ციტოპროტექტორულ ეფექტს საშულაო ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში (H_2O_2 25 µl) ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე, მწვანე ჩაის კატეხინების ექსტრაქტი ავლენდა მკვეტრად გამოხატულ ციტოპროტექტორულ ეფექტს საშულაო და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის (H_2O_2 25 µl, 50 µl) პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე, ხოლო მწვანე ჩაის პექტინი არ ახდენდა ზემოქმედებას სუსტი და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე (ფიგურა 12).



ფიგურა 12

სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის ცვლილებები მწვანე ჩაის ექსტრაქტის, მწვანე ჩაის კატეხინების და მწვანე ჩაის პექტინის ზემოქმედების პირობებში

3.6 მწვანე ჩაის კატექინების პრო- და ანტიაპოპტოზური აქტივობა

ცხრილში 5 მოყვანილია დაბალი პროლიფერაციის უნარის მქონე Jurkat უჯრედების პროცენტული შემცველობის ცვლილებები ინკუბაციის სხვადასხვა პირობებში.

კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ ინტაქტური Jurkat უჯრედების წყალნადის ზეჟანგთან (23 და 50 μლ) ინკუბაციის პირობებში დაბალი პროლიფერაციის უნარის მქონე უჯრედების პროცენტული შემცველობა შეადგენდა 40% და 57%-ს, შესაბამისად. ინტაქტური Jurkat უჯრედების საინკუბაციო არეში C, E და C+E ვიტამინების დამატების პირობებში აპოპტოზის მდგომარეობაში მყოფი უჯრედების პროცენტული შემცველობა იზრდებოდა (40%, 30% და 10%-ით), თუმცა ვიტამინები (განსაკუთრებით, C+E ვიტამინების კომპლექსი) იცავდნენ Jurkat უჯრედებს ოქსიდაციური სტრესის დამაზიანებელი ზემოქმედებისაგან, რაც ვლინდებოდა დაბალი პროლიფერაციის მქონე უჯრედების პროცენტული შემცველობის დაქვეითებით (10% და 40% - versus 40% და 57% C ვიტამინისათვის; 20% და 36% - versus 40% და 57% E ვიტამინისათვის; 29% და 24% - versus 40% და 57% C +E ვიტამინური კომპლექსისათვის) (ცხრილი 5).

ინტაქტური Jurkat უჯრედებში მწვანე ჩაის საერთო ექსტრაქტი არ იწვევდა აპოპტოზს, მწვანე ჩაის კატეხინების ექსტრაქტი 70%-ით ზრდიდა უჯრედების პროლიფერაციის ინტენსივობას, ხოლო მწვანე ჩაის პეკტინი ხელს უწყობდა დაბალი პროლიფერაციის მქონე უჯრედების რაოდენობის 30%-ით ზრდას.

წყალნადის ზეჟანგთან (25 და 50 μლ) ინკუბირებული Jurkat უჯრედების საინკუბაციო არეში მწვანე ჩაის საერთო ექსტრაქტის დამატებისას უჯრედების პროლიფერაციის ინტენსივობა იზრდებოდა 50% და 30%-ით, შესაბამისად; მწვანე ჩაის კატეხინების დამატების შემთხვევაში უჯრედების პროლიფერაციის დონე მკვეტრად იზრდებოდა (120% და 80%-ით, შესაბამისად), მწვანე ჩაის პექტინის დამატებისას აგრეთვე გამოვლინდა ამ ექსტრაქტის ანტიაპოპტოზური აქტივობა - აპოპტოზური უჯრედების რაოდენობა შეადგენდა 10% და 25%-ს, 40%-სა და 57%-ის ნაცვლად (ცხრილი 5).

მმაშასადამე, შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ მწვანე ჩაის საერთო ექსტრაქტს გააჩნია სუსტი, ხოლო მაწვანე ჩაის კატეხინებს - ძლიერი ანტიაპოპტოზური აქტივობა. წვანე ჩაის პეკტინი თუმცა არ ხასისათდება პროლეფერაცი-მასტიმულირებელი ეფექტურობით, მაგრამ ავლენს სუსტ ანტიაპოპტოზურ ეფექტს ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე.

ცხრილი 5

დაბალი პროლიფერაციის უნარის მქონე Jurkat უჯრედების პროცენტული შემცველობის ცვლილებები ინკუბაციის სხვადასხვა პირობებში

ინკუბაციის პირობები	დაბალი პროლიფერაციის უნარის მქონე Jurkat უკრედების პროცენტული შემადგენლობა (%)		
	ინტაქტური	H_2O_2 25 μლ	H_2O_2 50 μლ
ინტაქტური	0	40	57
ინტაქტური+C ვიტამინი	40	10	40
ინტაქტური+E ვიტამინი	30	20	36
ინტაქტური+C+E ვიტამინი	10	29	24
ინტაქტური+ მწვანე ჩაი	0	-50	-30
ინტაქტური+ მწვანე ჩაის კატეხინები	-70	-120	-80
ინტაქტური+ მწვანე ჩაის პექტინი	30	10	25

3.7 მწვანე ჩაი, ექსტრაქტის ზემოქმედება ჟურკატ უჯრედების მიტოქონდრიულ-მემბრანული პოტენციალის (Δψ) მნიშვნელობაზე

მწვანე ჩაის ექსტრაქტის Jurkat უჯრედების საინკუბაციო არეში დამატებისას (როგორც ინტაქტური, ასევე სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის ინკუბაციის პირობებში) ხელს უწყობდა უჯრედების პროლიფერაციას დაახლოებით 100%-ნ ზრდას (ამაზე მიუთითებს დაბალი პროლიფერაციის მქონე უჯრედების შემცველობის უარყოფითი მაჩვენებელი). პიროქით, Jurkat უჯრედების საინკუბაციო არეში მწვანე ჩაის პექტინის ექსტრაქტის დამატება იწვევდა ინტაქტური უჯრედების პროლიფერაციის უნარის 30%-ით შემცირებას; ამავე დროს პექტინმა გამოავლინა უჯრედების დაცვითი აქტივობა (30%) ორივე რეჟიმის ოქსიდაციური სტრესის ინკუბაციის პირობებში.

გამდინარე ციტომეტრიული კვლევების შედეგები ადასტურებენ სპექტროფოტომეტრული მეთოდით (MTT ტესტი) ჩატარებული კვლევების შედეგებს.

ჩატარებული კვლევების ანალიზის საფუძველზე შეგვიძლია გავაკეთოდ დასკვნა, რომ მწვანე ჩაი და მისი ექსტრაქტები ახდენს დიფერენცირებულ ზემოქმედებას ინტაქტური და სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე. მწვანე ჩაი და მწვანე ჩაის კატეხინები არ მოქმედებენ ინტაქტურ, მაგრამ ავლენენ მკვეთრად გამოხატულ ანტიაპოპტოზურ აქტივობას ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე, მაშინ როდესაც მწვანე ჩაის პექტინი ავლენს ციტოტოქსიურობას ინტაქტურ და სუსტ ციტოპროტექტორულ ეფექტს ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებთან ინკუბაციის დროს (ცხრილი 6).

ცხრილი 6.

Jurkat უჯრედების კულტურაში უჯრედების პროცენტული გადანაწილება მიტოქონდრიული მემბრანული პოტენციალის (Δψ) ცვლილებების მიხედვით სხვადასხვა ანტიოქსიდანტური თვისებების მქონე ნაერთებთან და ოქსიდაციური სტრესის სხვადასხვა რეჟიმებში ინკუბაციის შემდეგ

ინლუბაციის პირობები		Jurkat უჯრედების პროცენტული შემცველობა (%)		
		ინტაქტური	H_2O_2 25 μლ	H_2O_2 50 μლ
ინტაქტური	სულ	100%	100%	100%
	M1	75%	34%	13%
	M2	25%	66%	87%
ინტაქტური+C ვიტამინი	სულ	100%	100%	100%
	M1	66%	60%	28%
	M2	33%	40%	62%
ინტაქტური+E ვიტამინი	სულ	100%	100%	100%
	M1	78%	66%	32%
	M2	22%	34%	68%
ინტაქტური+C+E ინტაქტური	სულ	100%	100%	100%
	M1	72%	72%	38%
	M2	28%	28%	62%
ინტაქტური+ მწვანე ჩაი	სულ	100%	100%	100%
	M1	75%	75%	44%
	M2	25%	25%	56%
ინტაქტური+ მწვანე ჩაის კატეხინები	სულ	100%	100%	100%
	M1	82%	98%	68%
	M2	18*	8%	32%
ინტაქტური+ მწვანე ჩაის პეკტინი	სულ	100%	100%	100%
	M1	70%	78%	38%
	M2	30%	22%	62%

M1- უჯრედები მაღალი მემბრანული პოტენციალით (%-ში)
M2- უჯრედები დაბალი მემბრანული პოტენციალით (%ში)

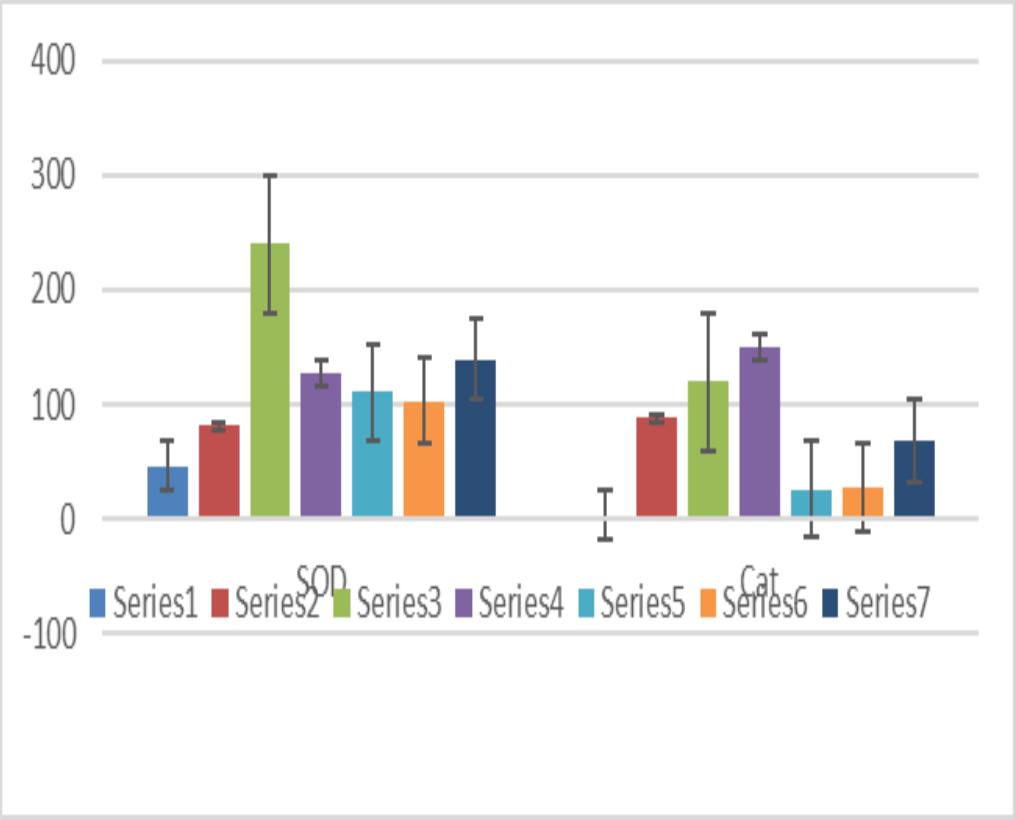
3.8 ვიტამინების და მწვანე ჩაის ექსტრაქტების ინდივიდუალური და კომპლექსური ანტიოქსიდანტური აქტივობა

ფიგურებზე 13, 14, 15, 16 მოყვანილია Jurkat უჯრედების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობა Jurkat უჯრედების სუპერნატანტში უჯრედების სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში და სხვადასხვა ნაერთებთან 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ. ფიგურა 13-ზე მოყვანილი მონაცემებიდან გამომდინარეობს, რომ E ვიტამინი ხელს უწყობს ანტიოქსიდანტური ფერმენტების სწრაფ აქტივაციას (განსაკუთრებით, სუპეროქსიდდისმუტაზას), რაც განპირობებულია E ვიტამინის ტოკოფერილ რადიკალის წარმოქმნისა და, შესაბამისად, ოქსიდაციური სტრესის ინტენსიფიკაციის უნარით. Jurkat უჯრედების C+E ვიტამინების კომპლექსთან ერთდროული ინკუბაციისას ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობა ქვეითდება. მჭვანე ჩაი და მისი შემადგენელი კომპონენტები ზრდიან Jurkat უჯრედების ანტიოქსიდანტურ პოტენციალს.

ფიგურაზე 14 მოყვანილია ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის ცვლილებები ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბაციის დროს. როგორც მონაცემების ანალიზიდან გამომდინარეობს, დაბალი ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესი ხელს უწყობს სოდ-ისა და კატალაზას აქტივობის ზრდას, ხოლო ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობის გაძლიერებისას ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობა ქვეითდება, რაც წყალბადის ზეჟანგის კატალაზაზე და, შემდგომში, სოდ-ის აქტივობაზე დამარგუნებელი ზემოქმედებით უნდა იყოს განპირობებული.

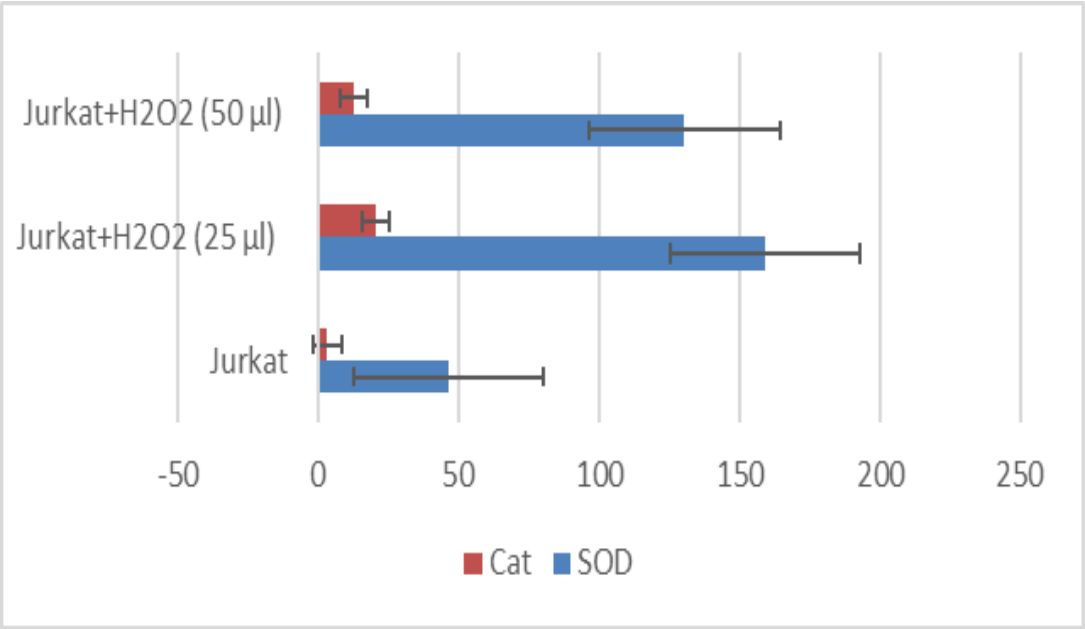
როგორც მე-15 და მე-16 ფიგურებიდან გამომდინარეობს, C ვიტამინი აქვეითებს, ხოლო E ვიტამინი აძლიერებს ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობას (რაც განპირობებული უნდა იყოს E ვიტამინის დაჟანგვის დროს ტოქოფერილ რადიკალის დამატებითი წარმოქმნით).

C და E ვიტამინების კომპლექსი უფრო ეფექტური აღმოჩნდა, ვინაიდან C ვიტამინი ანეიტრალებს E ვიტამინის დაჟანგვის დროს წარმოქმნილ ტოქოფერილის რადიკალებს, რაც უზრუნველყოფს ორივე ვიტამინის ანტირადიკალური ეფექტის გამოვლინებას.



ფიგურა 13

Jurkat უჯრედების სუპერნატანტში ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობა სხვადასხვა ნაერთებთან 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ (1 - Jurkat+C ვიტამინი, 2- Jurkat+E ვიტამინი, 3 -Jurkat+C+E ვიტამინი, 4 - Jurkat+წვანე ჩაი, 5 - Jurkat+მწვანე ჩაის კატექინები, 6 - Jurkat+მწვანე ჩაის პექტინი)



ფიგურა 14

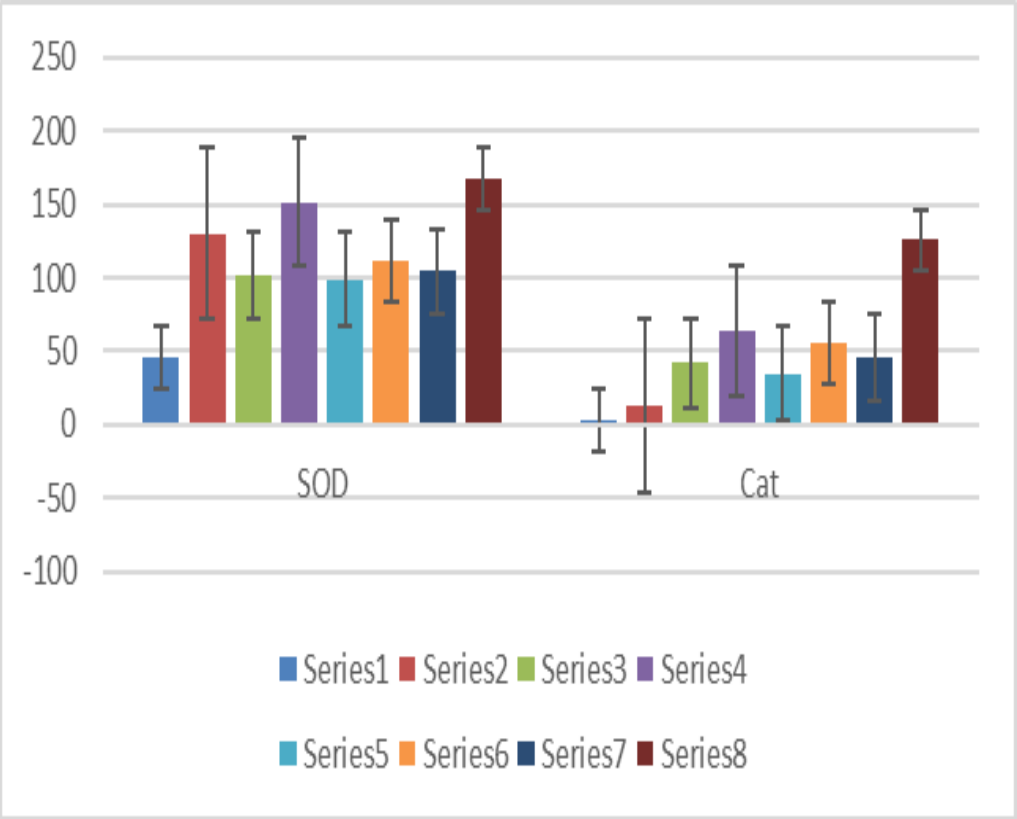
Jurkat უჯრედების სუპერნატანტშიანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობა სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში 24 საათიანი ინკუბაციის დროს

შესაბამისად Jurkar უჯრედების სუპერნატანტში ანტიოქსიდანტური ფერმენტების (სოდ, კატალაზა) აქტივობა ქვეითდება.

მწვანე ჩაის და მწვანე ჩაის კატექინების ექსტრაქტები ხელს უწყობს Jurkar უჯრედებში ოქსიდაციურ სტრესის ინტენსივობის დაქვეითებას, რაც ვლინდება ანტიოქსიდანტური ფერმენტების საკონტროლო მაჩვენებლების მიმართულებით შემცირების ტენდენციით.

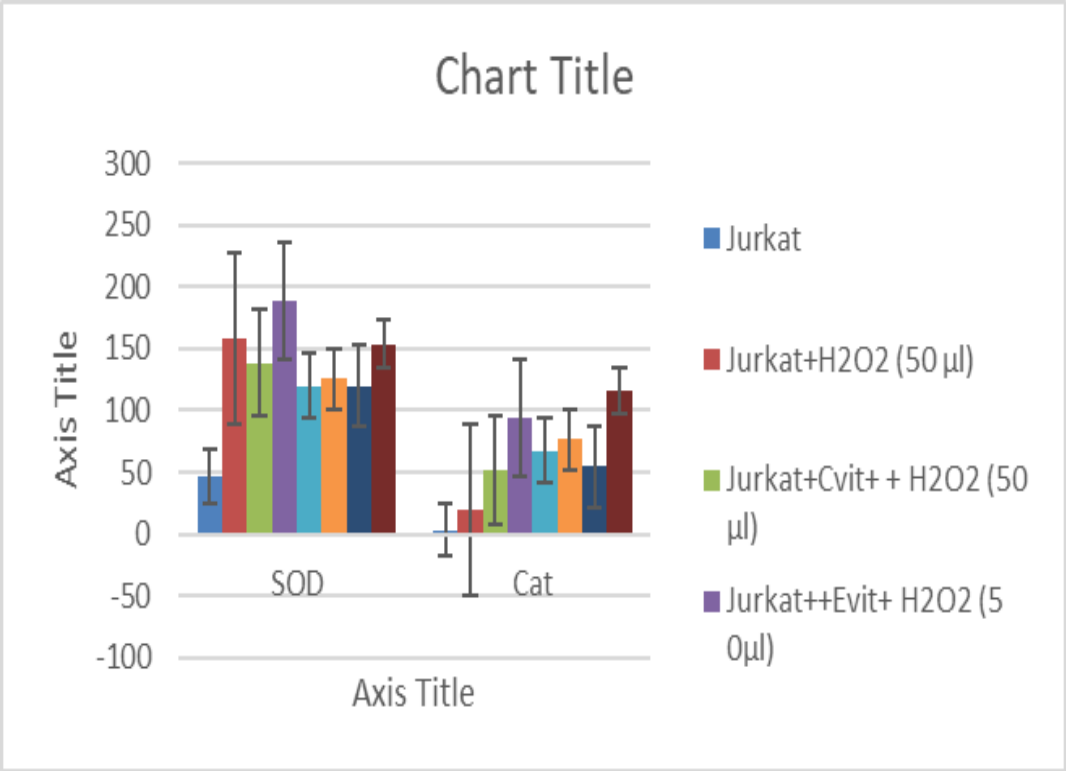
მწვანე ჩაიდან გამოყოფილი პექტინი ხელს უწყობს ოქსიდაციური სტრესის ინტენსიფიკაციას წყალბადის ზეჟანგთან ინკუბირებული Jurkar უჯრედების კულტურაში. პექტინი შეიცავს პოლისაქარდების კომპლექსებს, რომლებიც წარმოადგენენ უჯრედული კედლების მნიშვნელოვან კომპონენტს, პექტინი შუა ლამელას ძირითადი კომპონენტია. ცნობილია, რომ პეკტინის პოლისაქარიდები სხვადასხვა ნაერთების სატრანსპორტო ფუნქციის გარდა ხასიათდებიან დამატებითი, მიტოგენური აქტივობით და გააჩნია სისტემური იმუნური სისტემის მოდულაციის უნარი (Sakurai M H, et al., 1999).

მასასადამე, ჩატარებული კვლევის შედეგების ანალიზის საფუძველზე გამოვლინდა სხვადასხვა ვიტამინებისა და მცენარეული ექსტრაქტების ინდივიდუალური და კომპლექსური აქტივობა, რაც გათვალისწინებული უნდა იყოს მათი სამკურნალო და პროფილაქტიკური გამოყენების დროს.



ფიგურა 15

Jurkat უჯრედების სუპერნატანტში ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობა დაბალი ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში სხვადასხვა ნაერთებთან 24 საათიანი ინკუბაციის დროს (1- Jurkat, 2 – Jurkat+H_2O_2, 3- Jurkat+C ვიტამინი, 4- Jurkat+E ვიტამინი, 5 -Jurkat+C+E ვიტამინი, 6 - Jurkat++მწვანე ჩაის კატექინები, 8 - Jurkat+მწვანე ჩაის პექტინი



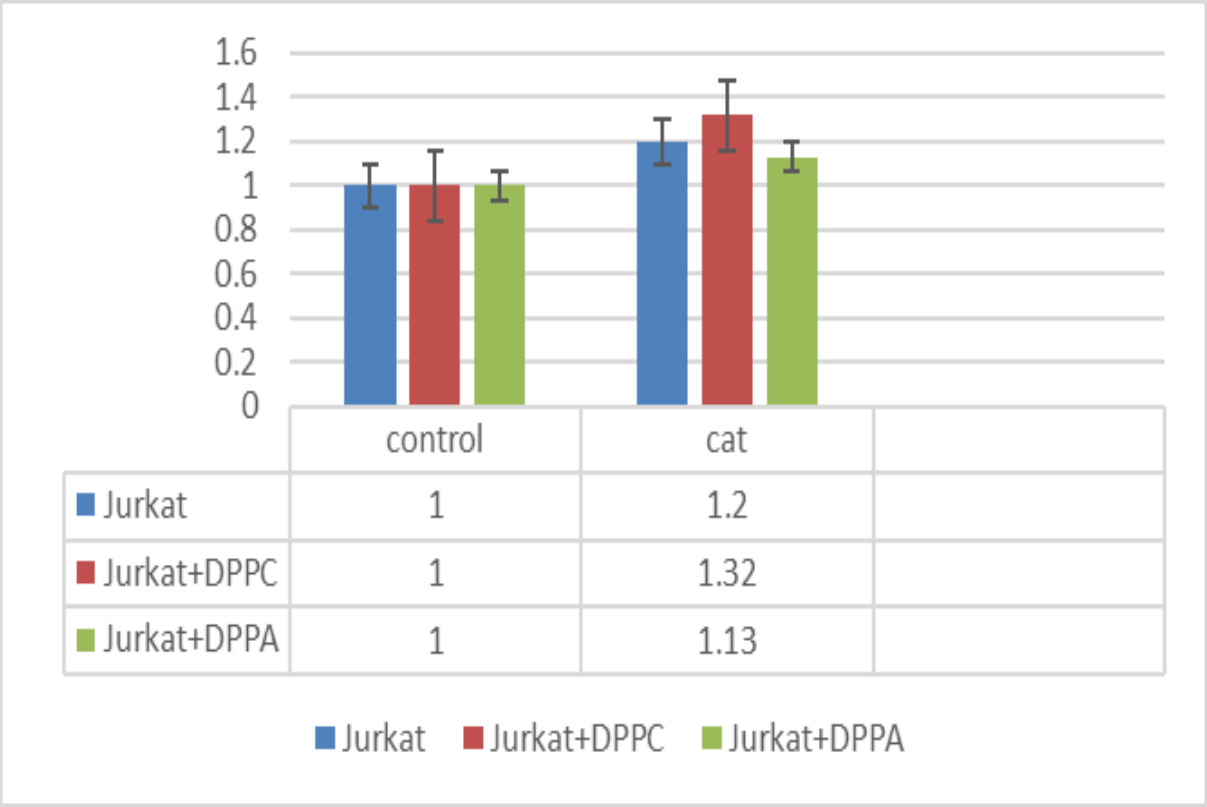
ფიგურა 16

Jurkat უჯრედების სუპერნატანტში ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობა ძლიერი ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში სხვადასხვა ნაერთებთან 24 საათიანი ინკუბაციის დროს (1- Jurkat, 2 – Jurkat+H_2O_2, 3- Jurkat+C ვიტამინი, 4- Jurkat+E ვიტამინი, 5 -Jurkat+C+E ვიტამინი, 6 - Jurkat+წვანე ჩაი, 7- Jurkat+მწვანე ჩაის კატექინები, 8 - Jurkat+მწვანე ჩაის პექტინი

3.9 მწვანე ჩაის კატეხინების შემცველი ლიპოსომების ანტიოქსიდანტური აქტივობა Jurkat უჯრედების ექსპერიმენტულ მოდელებზე

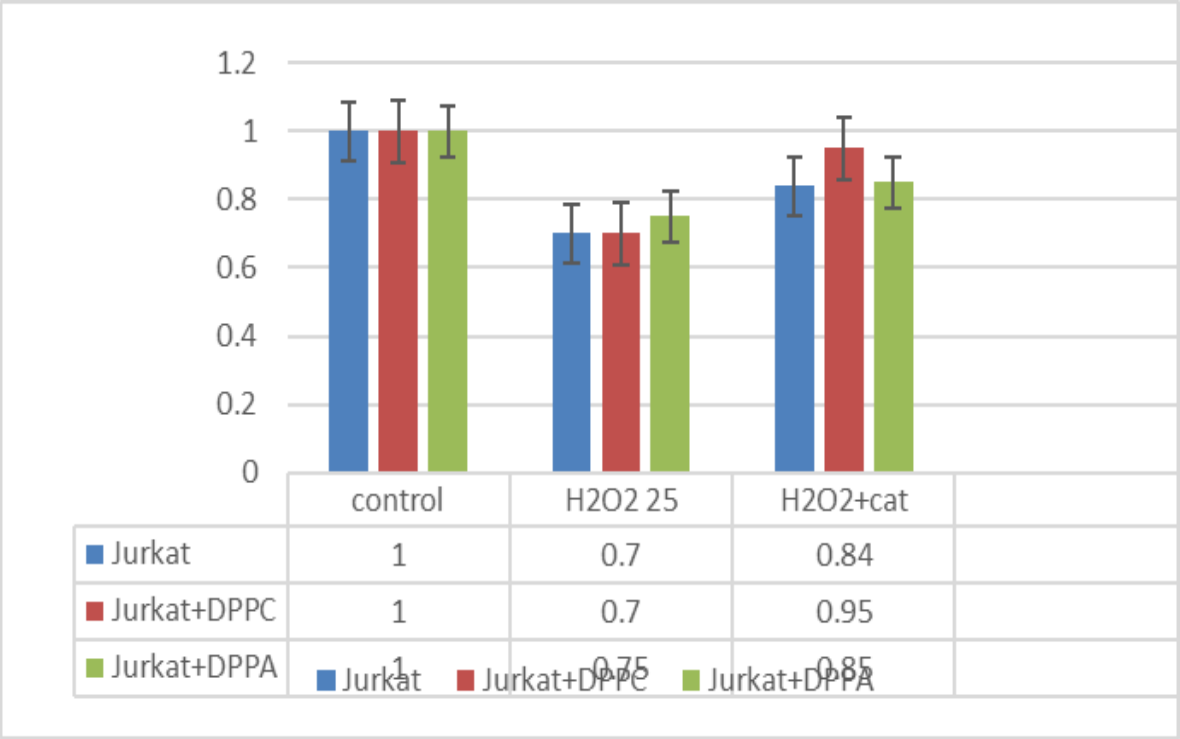
ფიგურაზე 17 მოყვანილია Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის ცვლილებები მწვანე ჩაის კატეხინებთან (DPPC და DPPA ლიპოსომებში და ლიპოსომების გარეშე) 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ. დიაგრამებზე მოყვანილი შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ მწვანე ჩაის კატეხინები იწვევდნენ ინტაქტური Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის 18%-ით ზრდას,. DPPC და DPPA ლიპოსომები არ ახდენენ ზემოქმედებას ინტაქტური უჯრედების სიცოცხლისუნაეიანობაზე.

ფიგურებზე 18 და 19 მოყვანილია მონაცემები მწვანე ჩაის კატეხინების (DPPC და DPPA ლიპოსომებში და ლიპოსომების გარეშე) დაბალი და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე ზემოქმედების შესახებ. დიაგრამაზე მოყვანილი მონაცემებიდან გამომდინარეობს, რომ საშუალო ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბაციის დროს Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა 30%-ით, ხოლო ძლიერი ოქსიდაციური სტრესი პირობებში - 73%-ით ქვეითდება, DPPC და DPPA ლიპოსომები მნიშვნელოვნად არ ცვლიდენ Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობას. მწვანე ჩაის კატეხინების ექსტრაქტი ავლენდა სუსტ ანტიოქსიდანტურ ეფექტს - საშუალო ინტენსივობის და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში 11%-12%-ით ზრდიდა Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობას. DPPC და DPPA ლიპოსომების თანაობისას Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა მნიშვნელოვნად არ იცვლებოდა საშუალო ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის და პირობებში. მწვანე ჩაის კატეხინების DPPC ლიპოსომებთან კომპლექსი 14%-ით აძლიერებდა კატეხინების ანტიოქსიდანტურ ეფექტს, ხოლო DPPA ლიპოსომებთან კომპლექსი არ ცვლიდა ამ ექსტრაქტის ეფექტს საშუალო და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბაციის დროს.



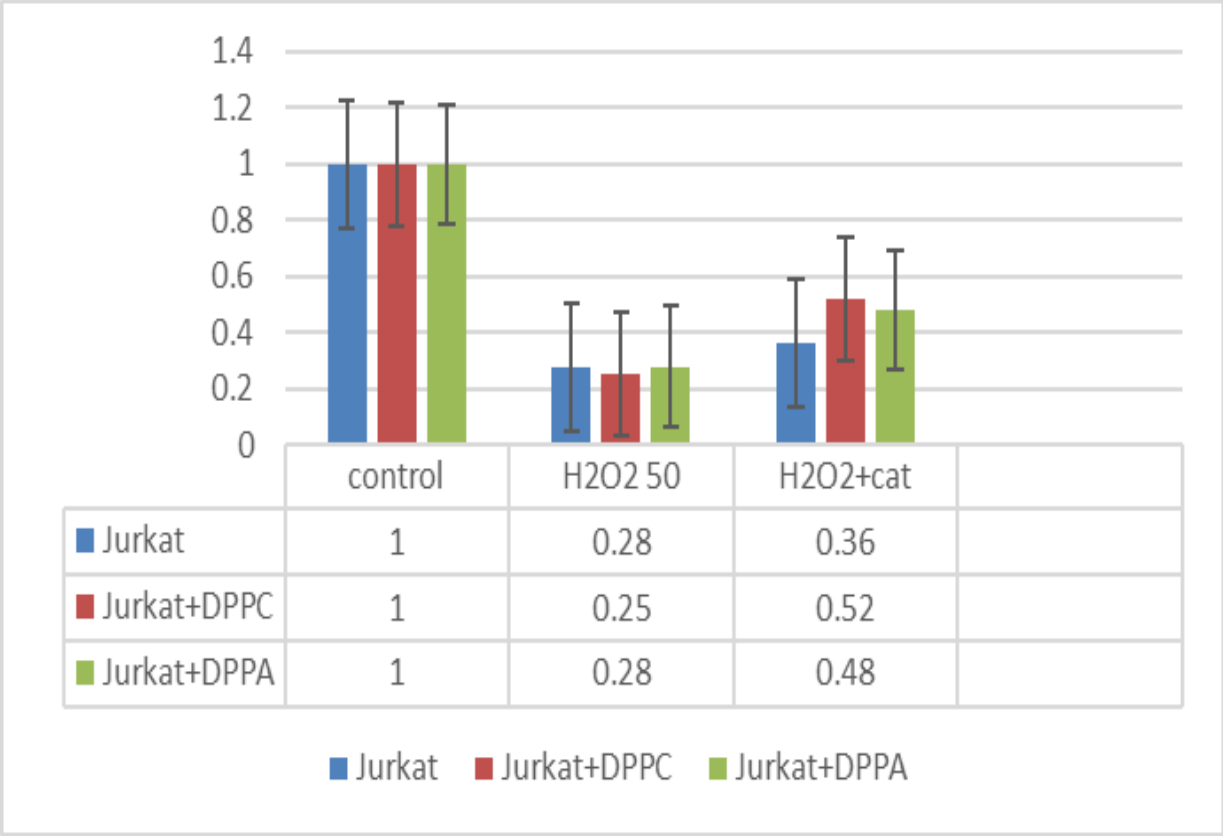
ფიგურა 17

Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის ცვლილებები ჩაის კატეხინების ექსტრაქტთან (DPPC და DPPA ლიპოსომებში და ლიპოსომების გარეშე) 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ



ფიგურა 18

Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის ცვლილებები დაბალი ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში მწვანე ჩაის კატეხინებთან (DPPC და DPPA ლიპოსომებში და ლიპოსომების გარეშე) 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ.



ფიგურა 19

Jurkat და MDCK Jurkat სიცოცხლისუნარიანობის ცვლილებები ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში მწვანე ჩაის კატეხინებთან (DPPC და DPPA ლიპოსომებში და ლიპოსომების გარეშე) 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ.

3.10 მწვანე ჩაის ექსტრაქტების გავლენა Jurkat უჯრედებში NO შემცველობაზე

ფიგურაზე 20 მოყვანილია მონაცემები NO შემცველობის ცვლილებების შესახებ ინტაქტურ და სხვადასხვა ოქსიდაციური სტრესის რეჟიმების პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში უჯრედები. მწვანე ჩაის და მისი ექსტრაქტების (მწვანე ჩაის კატექინების და პექტინის) ზემოქმედების ფონზე.

როგორც კვლევის შედეგებდან გამომდინარეობს, მწვანე ჩაი და მისი ექსტრაქტების არ ახდენს ზემოქმედებას NO-ს შემცველობაზე ინტაქტურ Jurkat უჯრედებში.

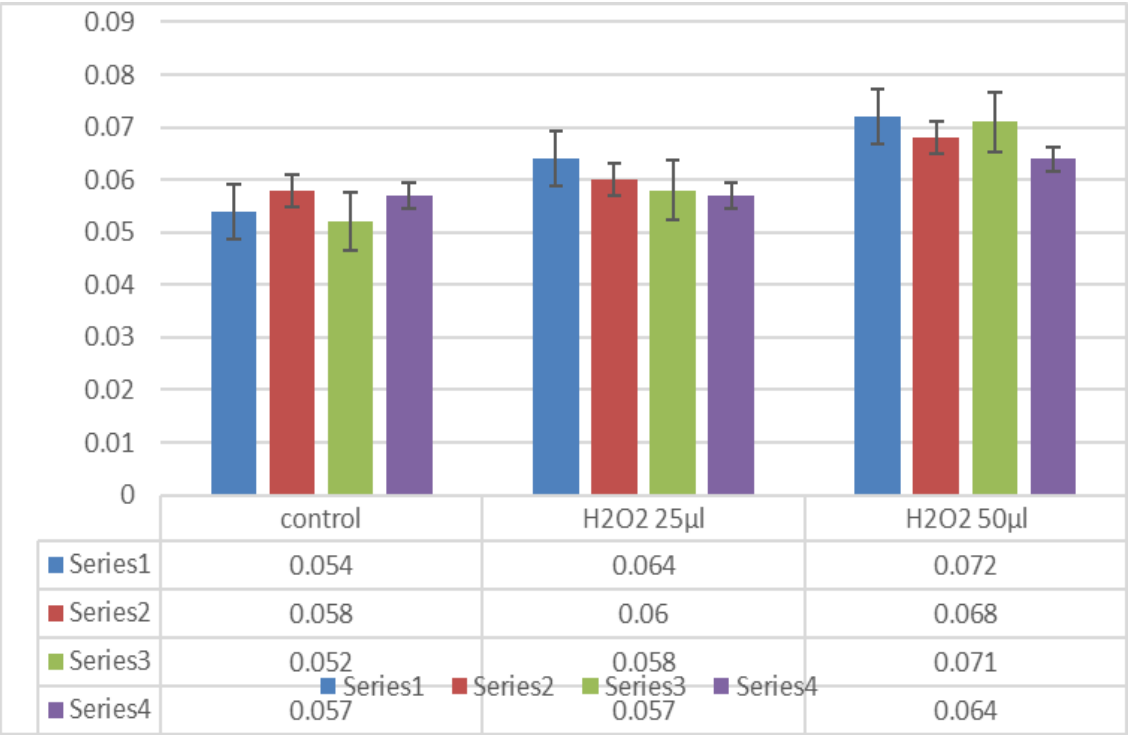
ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბაციის დროს NO-ს შემცველობა 18%-ით და 33%-ით იზრდებოდა საშუალო ინტენსივობისა ((H_2O_2 25 μლ) და ძლიერი (H_2O_2 50 μლ) ოქსიდაციური სტრესის პირობებში.

ჩაის მთლიანი ექსტრაქტის ზემოქმედებით NO-ს შემცველობა Jurkat უჯრედებში უმნიშვნელოდ მცირდებოდა, მწვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედების დროს NO-ს შემცველობა Jurkat უჯრედებში მცირდებოდა 11%-12%-ით როგორც საშულ;ო ინტენსივობის, ასევე ძლიერი ოქსდაციური სტრესის პირობებში.

Jurkat უჯრედებზე მწვანე ჩაის პექტინის ზემოქმედებისას NO-ს შემცველობა სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ იცვლებოდა არც ინტაქტურ, და არც საშუალო და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში.

აზოტის ჟანგი (NO) ორ-ელექტრონიანი თავისუფალი რადიკალია, მახასიათებელი ბიოლოგიურ სისტემებში ძალიან მოკლე სიცოცხლის ხანგრძლივობით.

NO-ს და მისი ბიოფარდაქმნის პროდუქტების წარმოქმნის მექანიზმები და ეფექტები, მისი NO-სინათაზას მიერ წარმოქმნით დაწყებული, ხსნადი გუანილატციკლაზას აქტივაციით და ნიტრიტად (NO^-_2)/ნიტრატად (NO^-_3) შესაძლო დაჟანგვით დამთავრებული, შესაძლოა წარმოადგენს in vivo NO-ს ეფექტების მხოლოდ მცირე ნაწილს. NO-სა და მისი წარმოებული მეტაბოლიტების ცილოვან თიოლებთან, მეორეულ ამინებთან და მეტალებთან ურთიერთქმედების ფონზე ბისას S-ნითროზოთიოლების (RSNO), N-ნითროზოამინებისა - (RNNO) და ნიტრო-



ფიგურა 20

NO-ს შემცველობა ინტაქტურ და სხვადასხვა ოქსიდაციური სტრესის რეჟიმების პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში (1 - ინტაქტური Jurkat უჯრედები, 2 - Jurkat უჯრედები + მწვანე ჩაი, 3 - Jurkat უჯრედები + მწვანე ჩაის პექტინი, 4 - - Jurkat უჯრედები + მწვანე ჩაი კატექინები)

ზილ-ჰემის წარმოქმნა წარმოადგენს NO-ს ცგმფ-ზე დამოუკიდებელი ეფექტების გამოვლინებას, რომლებსაც, სავარაუდოა, გააჩნია არანაკლები ფიზიოლოგიური დატვირთვა, ვიდრე NO-ს მიერ ხსნადი გუანილატციკლაზას აქტივაციას.

ახალი მექანიზმებისა და სასიგნალო გზების გამოვლინება, რომელიც ხორციელდება NO-ს მონაწილეობით, დაკავშირებულია ცოცხალი ორგანიზმის სპეციფიური, შერჩევითი, ძალიან მაღალი ხარისხის მგრძნობელობასთან NO-სა და მისი საბოლოო პროდუქტებისა და მეტაბოლიტების რთულ ბიოლოგიურ მატრიცებში რაოდენობრივი ცვლელების მიმართ.

როგორც ჩვენი კვლევებითან გამომდინარეობს, მწვანე ჩაის კატექინების ექსტრაქტებს Jurkat უჯრედებში ინკუბაციის სხვადასხვა პირობებში NO-ს შემცველობის სტაბილიზაციის შედარებით მაღალი უნარი გამოვლინდა, რაც უკავშირდება ამ ნაეთების მაღალ ანტიოქსიდანტურ პოტენციალთან.

3.11 მწვანე ჩაის ექსტრაქტის გამოყენება სხეულის მასის კორექციის მიზნით

ცხრილში 7 მოყვნილია მონაცემები შესწავლილ ქალებში სხეულის მასის ცვილებების შესაცებ მწვანე ჩაის ექსტრაქტის ზემოქმედებით. როგორც ცხრილში მოყვანილი მონაცემებიდან გამომდინარეობს, ქალები, რომებიც იღებდნენ მწვანე ჩაის ექსტრაქტის თითო აბს დღეში გამოვლინდა ჯანმრთელობის საერთო მდგომარეობის გაუმჯობესობა. დაფიქსირდა სხეულის მასის 1-1.9 კგ-ით დაქვეითება (მათ შორის 4 ქალს - 1 კგ-ით, 3 ქალს - 1.5 კგ-ით, 1 ქალს - 1.9 კგ-ით, 3 პაციენტს სხეულის მასის დაქვეითება არ დაფიქსირდა) (ცხრილი 4).

აგრეთვე შესწავლილ პაციენტებში დაფიქსირდა არტერიული წნევის დაქვეითება - სისტოლური წნევა ქვეითდებოდა 8 - 10 ერტეულით, მაშინ როდესაც დიასტოლური წნევა ქვეითდებოდა - 3 - 5 ერთეულით. არტერიუი წნევის დაქვეითება ერთის მხრივ განპირობებული შეიძლება იყოს სხეულის მასის დაქვეითებით, ხოლო მეორეს მხრივ - მწვანე ჩაის ჰიპოტენზიური ეფექტით, რაც განაპირობებულია მწვანე ჩაის ანტიოქსიდანტური, ანტიანთებითი აქტივობით და ლიპიდური ცვლის რეგულაციის უნარით.

საკონტროლო ჯგუფის ქალებში სხეულის მასის დაქვეითება და არტერიული წნევის ცვლილებები დაფიქსირებული არ იყო.

ლიტერატურის მონაცემების თანახმად დიეტ-ინდუცირებული სიმსუქნის მქონე ადამიანებისათვის დამახასიათებელია პათოლოგიური ჰიპერგლიკემიის განვითარება, რაც ასოცირდება ტრიგლიცერიდების კატაბოლიზმის დაქვეითებასთან და ლიპოპროტეინების კატაბოლიზმის ფუნქციურ და რაოდენობრივ ცვლილებებთან. კერძოდ, რაოდენობრივი ცვლილებებიდან აღსანიშნავია ხილომიკრონების, ტრიგლიცერიდებისა და ძალიან დაბალი სიმკვრის ლიპოპროტეინების (VLDL) კონცენტრაციის შემცირება (Чазова И.Е., Мычка В.Б., 1999, Мкртумян А.М., и др., 2004) და ქოლესტეროლის შემცველობის მკვეთრი დაქვეითება, გამოწვეული ღვიძლის მეტაბოლიზმის პათოლოგიური ცვლილებებით (ჰეპატოცოტებში ტრიგლიცერიდებისა და ქოლესტეროლის ჭარბი

ცხრილი 7

სხეულის მასის ცვლილებების დინამიკა მდედრობითი სქესის პაციენტებში მწვანე ჩაის ექსტრაქტის აბების მიღების ფონზე

(დაკვირვება ხორციელდებოდა 1 თვის განმავლობაში)

პაციენტების რაოდენობა	სხეულის მასის კლების სიდიდე (კგ)			
	1 კვირა	2 კვირა	3 კვირა	4 კვირა
1	0,5	0,3	0,2	0
2	0,5	0,2	0,1	0,2
3	0,7	0,2	0	0,1
4	0,3	0,3	0,4	0
5	0,7	0,5	0,2	0,1
6	0,5	0,3	0,4	0,3
7	0,4	0,6	0,3	0,2
8	0,8	0,7	0,1	0,3
9	0,1	0	0	0
10	0	0	0,2	0
11	0,3	+0,2	0	0
12	0	+0,3	0	0

დაგროვება, ღვიძლის ლიპოპროტეიდლიპაზას ინაქტივაცია) (Перова Н.В., и др., 2001), ჰიპერგლიკემიის ფონზე ლიპლიოპროტეინების ცილოვანი ფრაქციის გლიკირებით და ლიპოპროტეინების ლიპიდების ზეჯანგური დაჟანგვით ოქსიდაციური სტრესის პირობებში (Syvänne M, Taskinen MR., 1997). ასეთი მოდიფიკაციის შედეგად ენდოთელიაციტებსა და ჰეპატოციტებში ექსპრესირებული ლიპოპროტეიდლიპაზას არ ძალუძს სახეშეცვლილი ლიპოპროტეიდების გარდაქმნა, ისინი გროვდება სისხლის მიმოქცევის სისტემაში, და გარდაიქმნება ქსოვილებში მიმართული ლიპიდების გაძლიერებული ნაკადის წყაროდ.

სისხლის იმუნოკომპეტენტური უჯრედები ავლენენ ფაგოციტარულ აქტივობას სისხლის მიმოქცევის სისტემაში დაგროვებული ლიპიდური ნაწილაკების მიმართ, რაც წარმოადგენს ათეროსკლეროზის განვითარების წამყვანი მექანიზმის საფუძველს (Pipeng L. 2005).

ფიზიოლოგიურ პირობებში ექზოგენური ლიპიდების ჭარბი ნაკადის საპასუხოდ (ჰიპერტრიგლიცერენემია, ექზოგენური ჰიპერქოლესტეროლემია) ორგანიზმში იზრდება ლიპიდების სინთეზის ინტენსივობას. ენერგეტიკული ნაკადის სიჭარბისას ლიპოგენეზის შეზღუდვის მიზნით ორგანიზმი ირთვება ლიპიდებისა და ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის კომპენსატორული გზები. სიმსუქნისას, მეტაბოლიზმის სტრესული სტიმულაციის შედეგად ერთის მხრივ ვლინდება ლიპიდური მეტაბოლიზმის შუალედური პროდუქტების, დიაცილგლიცეროლის, აცილ-КоА-სა და მალონილ--КоА-ს, ასევე გლუკოზის მეტაბოლიზმის პროდუქტის UDP-GlcNA-ს შიგაუჯრედული კონცენტრაციის ზრდა, რაც განაპირობებს სერინ-ტრეონინ-კინაზური მეტაბოლური გზების აქტივაციას (Zick Y., 2003) და ინსულინორესისტენტობის განვითარებას. ინსულინორეზისტენტობის პირობებში ადგილი აქვს ბირთვული ტრანსკრიპციული ფაქტორის NF-κB-ს აქტივაციას და ციტოკინების (TNF-α, IL-1β) ექსპრესიის გაძლიერებას (Hansen MJ, t al., 2001), რომელთა კონცენტრაცია სისხლში დადებითად კორელირებს სიმსუქნის ხარისხთან და სისხლში ლეპტინის კონცენტრაციასთან (Boden G, et al., 2005).

მწვანე ჩაის შემადგენლობაში შემავალი ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთები (ფლავონოიდებისა და ჩაის კატეხინების ნაკრები - P ჯგუფის ვიტამინები, კოფეინი, ამნმჟავები (ჩაის თეანინი და სხვ.) ხასიათდებიან დეზინტეგრაციული, ანტიოქსიდანტური, კონსერვირებადი აქტივობით, თავისუფალი რადიკალების

შეკავშირებისა და ლიპიდური პეროქსიდაციის ინტენსივობის დაქვეითების უნარით. მაშასადამე, მწვანე ჩაის ექსტრაქტი უზრუნველყოფს სისხლის მიკროცირკულაციის ნორმალიზაციას, სისხლძარღვების ელასტიურობის გაუმჯობესობას, ორგანიზმიდან ქოლესტეროლის განდევნას, რაც განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია ათეროსკლეროზისა და მიოკარდიუმის ინფარქტის პრევენციისათვის.

შედეგების განხილვა

განვითარებულ ქვეყნებში არაგადამდები დაავადებები (აგდ) სიკვდილიანობისა და ინვალიდობის ძირითადი მიზეზია და დაახლოებით მის 63%-ს შეადგენს. აშშ-ში 10-დან 7 ლეტალური შემთხვევა არაგადამდები დაავადებით არის გამოწვეული. უფრო მეტიც, ყოველწლიურად 36 მილიონი ადამიანი იღუპება არაგადამდები დაავადებებით, მათ შორის 9 მილიონი 60 წლამდე ასაკში, რაც დიდ სოციალურ-ეკონომიკურ ზიანს აყენებს თითოეულ ქვეყანას, განსაკუთრებით კი განვითარებად ქვეყნებს. საქართველოში სიკვდილობის 96% განპირობებულია არაგადამდები დაავადებებით და ტრავმებით, ხოლო სიკვდილობის მიზეზთა შორის 75% გულ–სისხლძარღვთა დაავადებებია.

ჯანმრთელობის მსოფლიო ორგანიზაციის შეფასებით უახლოესი 10 წლის განმავლობაში არაგადამდები დაავადებებით გარდაიცვლება 388 მილიონი ადამიანი. 2020 წლისთვის აგდ-ების შედეგად გამოწვეული სიკვდილობის წილი კიდევ უფრო გაიზრდება და შეადგენს მსოფლიოში 60% -ს და ევროპაში კი - 80%-ს.

ქრონიკულ არაგადამდებ დაავადებები ვითარდება ქრონიკული ანთების შედეგად. მე–20 საუკუნის 80-იანი წლებიდან ცხოვრების სტილის ნახტომისებური ცვლილება, რაც კვების წესის ცვლილებით, ანტიბიოტიკებისადმი და კორტიკოსტეროიდებისადმი გაიოლებული წვდომით, მუდმივ სტრესითა და შეცვლილი საარსებო გარემოთი გამოიხატება, განაპირობებს ორგანიზმის ჰომეოსტაზის დარღვევას, რაც შეიძლება მწვავე ანთების ქრონიკულ ფორმაში გადასვლის საფუძველი გახდეს. ანთების ალაგება ანტი-ანთებითი პრეპარატების უკონტროლო გამოყენებით ვერ ხერხდება და ამით კიდევ უფრო მეტად მძიმდება მდგომარეობა. პირიქით, ეს უკანასკნელნი მნიშვნელოვან საფრთხეს წარმოადგენს ორგანიზმისთვის, რადგან მოქმედებს როგორც სტრესის ქრონიკული, დროში ხანგრძლივად მოქმედი აქტივატორი.

ანტიოქსიდანტური თერაპიის მრავალწლიანმა გამოცდილებამ აჩვენა მისი ეფექტურობა მრავალი პათოლოგიური პროცესების მკურნალობის დროს, რაც დამტკიცებულ იქნა უჯრედული და ქსოვილოვანი მეტაბოლიზმის პარამეტრების

შესწავლით. ნაჩვენებია ანტიოქსიდანტური თერაპიის დადებითი როლი ქრონიკული ანთებითი პროცესის დროს ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის პროცესების კორექციასა და პრევენციისათვის. ანტიოქსიდანტების დეფიციტთან ასოცირებული იმუნოგლობულინების, მოცირკულირე იმუნური კომპლექსების (ლიზოციმის კონცენტრაციის მკვეთრი დაქვეითება, კომპლემენტის აქტივობის, ლიმფოციტების ბლასტ-ტრანსფორმირებული ფორმების შემცირების) და ჰომეოსტაზის სხვა პარამეტრები ნორმალიზებით ანტიოქსიდანტური თერაპიის ფონზე.

ანტიოქსიდანტური თვისებების მქონე ეგზოგენური ნაერთების ბიოლოგიური აქტივობის გამოვლინება ხორციელდება თავისუფალი რადიკალების უშუალო ინაქტივაციისა და/ან სხვა, ენდოგენური, ანტიოქსიდანტების აქტივობის აღდგენის გზით. ეს მექანიზმები ორივე შემთხვევაში განაპირობებს თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნის პროცესის შეჩერებას. ამ დროს სამედიცინო პრაქტიკაში ანტიოქსიდანტური თვისებების მქონე სინთეზური ნაერთის დანერგვა ხშერად წარუმატებლად თავდება მათი არამდგრადობის, გვერდითი ეფექტის გამოვლინების, ან ორგანიზმის მიერ მათი შეთვისების უუნარიბის გამო.

უძველესი დროიდან მცენარეული მედიკამენტები გამოიყენება სხვადასხვა დაავადების მკურნალობისათვის [Maqsood S, et al., 2010]. უკანასკნელი, ათწლეულების მანძილზე თანამედროვე მედიცინაში დიდი მიღწევების მიუხედავად, განაპირობებს მცენარეების (პროპოლისის ექსტრაქტი, ციტრუსების ჰესპერიდინი, ჩაის პოლიფენოლური ნაერთები, წითელი ყურძნის ექსტრაქტი და ა.შ.) მნიშვნელოვანი წვლილს ჯანდაცვის სფეროში.

სამკურნალო მცენარეების მიმართ დიდი ინტერესი განპირობებულია თუნდაც, მათი ხალხურ მედიცინაში ხანგრძლივი გამოყენებით როგორც სამკურნალო, ასევე პროფილაქტიკური მიზნებით (განსაკუთრებით განვითარებად ქვეყნებში), რაც მეტყველებს მათი სასარგებლო თვისებებისა და ტოქსიკური ეფექტების სიმცირის შესახებ. კვლევები ფოკუსირდება ახალი ეფექტური ფარმაკოლოგიური თვისებების მქონე ნაერთების იდენტიფიკაციაზე და მათი მოქმედების მოლეკულური მექანიზმების შესწავლაზე.

მცენარეებში ფიტოქიმიურ ნივთიერებათა ფართო სპექტრი სინთეზირდება, მათ შორის, პოლიფენოლების წარმომადგენლები ფლავონოიდების (კატეხინები,

ანტოციანები და სხვა) და ფენილპროპანოიდების (ქლოროგენის მჟავა და სხვა) სახით. ფიტოქიმიური ნაერთების დიფერენცირებული ზემოქმედება ნორმალურ და დაავადებულ უჯრედებზე განპირობებულია მათ მაღალი რედოქს-მგრძნობელობით, მათი ოქსიდაციური მეტაბოლიზმის რეგულაციისა და დეტოქსიკაციური სისტემების აქტივობაზე ზემოქმედიბის უნარით (Kahle KA, Foley JP., 2007; Kahle KA, Foley JP., 2006; Tabernero M, Serrano J, Saura-Calixto F., 2007; Fini L, et al., 2007; Fini L, et al., 2008; Rudolf E, et al., 2007; Corona G, et al., 2007; Linsalata M, Russo F., 2008; Spencer JP, et al., 2009; Spencer JP., 2009; Spencer JP., 2010; Spencer JP., 2007).

ბუნებრივი პოლიფენოლები ფართოდ გავრცელებულია მცენარეულ სამყაროში და განისაზღვრება როგორც ორგანული ქიმიური ნივთიერებები, რომლებიც ხასიათდება ერთი ან მეტი ფენოლური ერთეულის შემცველობით. პოლიფენოლები ჩვეულებრივ იყოფა რამდენიმე კლასად, მათი ძირითადი ქიმიური სტრუქტურების მიხედვით: ფენოლურ მჟავები, სტილბენები, ლიგნანები და ფლავონოიდები. ფლავონოიდები წარმო-ადგენს მცენარეული ანტიოქსიდანტური ნაერთების ყველაზე მნიშვნელოვან ოჯახს. ჯერჯერობით გამოვლენილია დაახლოებით 6000 ფლავონოიდების მოლეკულა. ეს ნაერთები, მცენარეების მეორადი მეტაბოლიტებია, მონაწილეობენ სოცოცხლისათვის მნიშვნელოვან მეტაბოლურ პროცესებში (ზრდა-პროლიფერაცია, ულტრაიისფერი გამოსხივებიდან დაცვა და ა. შ.), ჩართულია ყვავილების გამტვერიანობის პროცესების რეგულაციაში ანთოციანინის პიგმენტების მკვეთრი შეფერილობის გამო.

ბოლო 15 წლის განმავლობაში მეცნიერების ყურადღებას იპყრობს ანტიოქსიდანტური თვისებების მქონე ნატურალური ნაერთები (პროპოლისის ექსტრაქტი, სხვადასხვა მცენარეული პროდუქტები – ციტრუსების ჰესპერიდინი, ჩაის პოლიფენოლური ნაერთები, წითელი ყურძნის ექსტრაქტი და ა.შ. (Hosseinimehr SJ, 2009, Guo S, 2010)), რომლებსაც შესწევთ იმუნური უჯრედების აქტივობის რეგულაციის უნარი. მცენარეული ნაერთების პროტექტორული აქტივობა განპირობებულია მათში ბიოაქტიური ანტიოქსიდანტური, იმუნომოდულატორული აქტოვობის მქონე ნივთიერებების მაღალი შემცველობით. ნატურალური პრეპარატების შედარების საფუძველზე შესაძლებელია ახალი მაღალეფექტური

კომპლექსების შერჩევა, რომლებიც უზრუნველყოფენ ჯანმრთელი ქსოვილების დაზიანებისაგან დაცვას.

ჩვენი ყურადღება მიიპრყო ქართული წარმოშობის ჩაის ნატურალურმა ექსტრაქტებმა. ამ ექსტრაქტებიდან გამოყოფილი ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებები ხასიათდებიან ანტიოქსიდანტური, იმუნომოდულატორული, ანტიბაქტერიული, ანტივირუსული, ანტიკანცეროგენული თვისებებით, გამოიყენება სხვადასხვა ქრონიკული დაავადებების სამკურნალოდ (Hosseinimehr SJ, et al., 2009, Yang M, 1997, Tanaka T, 2000 Tanaka T, 1997, Tirkey N, 2005). მანდარინის ექსტრაქტი, მაგალითად, ავლებს ნახშირწყლოვანი, ლიპიდური და ოქსიდაციური მეტაბოლიზმის კორექციის, აბდომინალური ცხიმის და სხეულის მასისის შემცირების უნარი (ექსპერიმენტული და კლინიკური კვლევები) (Сихарулидзе М, და სხვ, 2005. Сихарулидзе М.Д, და სხვ., 2006, T. Chanadiri, 2005, Dabrundashvili N. G., et al.,.2010). ბუნებრივი პოლიფენოლები ფენოლური სტრუქტურების შემცველი ფართოდ გავრცელებული მცენარეული წარმოშობის ნაერთებია. ფლავონოიდები წარმოადგენს პოლიფენოლების ყველაზე მნიშვნელოვან ოჯახს, ფართოდ გამოიყენება ტრადიციულ მედიცინაში, ანებითი, კარდიოვასკულური, კიბოს და სხვა დაავადებებისაგან პროტექციის დროს [Di Carlo, et al., 1999; Peterson, J., et al., 2003; Gates, M.A., et al., 2007; Arts, I.C., 2008; Asensi, M., et al., 2011].

მეცნიერების განსაკუთრებულ ინტერესს იბყრობს ჩაის ბუნებრივი პოლიფენოლების ჯგუფი, რომლითაც მდიდარია მცენარის ფოთოლი, - ჩაის ფლავინები, ტანინები და ფლავონოიდები. მწვანე ჩაი ხასიათდება მისი ჯანმრთელობისთვის სასარგებლო თვისებებისა და სხვადასხვა დარღვევებისაგან (კანცერი, სიმსუქნე და ა. შ.) პრევენციის უნარით.

მწვანე ჩაის პოლეფონოლები - ფლავანოლები, ფლავონდიოლები, ფლავონოიდები და ფენოლურო მჟავებიa (მშრალი წონის 30%). მწვანე ჩაის პოლიფენოლების უმრავლესობა - ფლავონოლებია, ცნობილი კატეხინების სახელწოდებით. კატეხინები ხასიათდებიან ანტიკანცეროგენული, სიმსუქნის საწინააღმდეგო, ანტიათეროსკლეროზული, ანტი-დიაბეტური, ანტი-ბაქტერიული, ანტივირუსული და ანტი-ანტებითი ეფექტით [Yang, C.S., et al., 2014; Suzuki, T., et al., 2016; Miyoshi, N., et al., 2015; Yang, C.S., et al., 2016].

თავისი მაღალი გამაჯანსაღებელი თვისებების მიუხედავად, ფენოლური ნაერთების მიღება მხოლოდ საკვებ პრუდუქტების სახით არ უზრუნველყოფს ორგანიზმში მათი საკმარის კონცენტრაციას, აუცილებელი სისტემური თერაპიული ეფექტების გამოვლინებისათვის. წყალში დაბალი ხსნადობა, ცუდი შთანთქმის და ფართო და სწრაფი მეტაბოლიზმის უნარი განაპირობებს პერორალურად მიღებული პოლიფენოლების დაბალ სიცოცხლისუნარიანობას და თერაპიულ ეფექტურობას [Chen, J, Lin, H., Hu, M., 2003]. ამ პრობლემების მოგვარება და ფენოლური ნაერთებისაგან სხვადასხვა ფარმაცევტული პრეპარატების შექმნა შესაძლებელია სხვადასხვა მიდგომების დანერგვით, რომლებიც უზრუნველყოფენ მათ სტაბილიზაციას და გაზრდიან ბიოშეღწევადობას.

რიგი კვლევები მიძღვნილია ნანოტექნოლოგიების გამოყენებას პოლიფენოლის ეფექტურობის გაზრდის მიზნით [Khushnud, T., Mousa, S.A., 2013, Nathalie Mignet, et al., 2013]. მაგალითად, შემოთავაზებულია ციკლოდექსტრინთან კომპლექსების ფორმირება [Mulholland, P.J., et al., 2001; Pralhad, T., Rajendrakumar, K., 2004], მარტივი ემულსიების, თვით-ემულსიური სისტემების, გელების, ლიპიდური ნანონაწილაკების [Barras, A., et al., 2009], ნანოემულდიების [Ragelle, H., et al., 2012] ან ლიპოსომების [Yuan, Z.P., et al., 2006, Seguin, J., et al., 2013] შექმნა.

ლიპოსომები შესანიშნავი კანდიდატები არიან სხვადასხვა პოეპარატების ტრანსპორტისა და მიწოდებისათვის მათი ფიზიკურ-ქიმიური თვისებებისა და მათი ზედაპირული შემადგენლობის და მისი შეცვლის უნარის გამო. ეს ნაწილაკები მიღებულია ბუნებრივი ან სინთეზური ფოსფოლიპიდებისაგან ორგანიზებული თხევადი ბირთვის გარშემო. ლიპოსომები პირველად შემოთავაზებულია გრეგორიადის მიერ (Gregoriadis, G., Florence, A.T., 1993, Gregoriadis, G., et al., 1993] და 2008 წლამდე წარმოადგენდნენ ნანონაწილაკების ერთერთ სახეობას. ლიპოსომების გრძელვადიანი კომერციალიზაცია სხვადასხვა მოლეკულების კლასებთან, როგორიცაა დოქსორუბიცინი, ამფოტერცინი B, ვერტეროპარფინი, ციტარაბინი, ვინკრისტინი ან ინაქტივირევული ჰეპატიტის B ვირუსი, ანიჭებს მათ უპირატესობას და პროტექციული და ეფექტური აქტივობის გამო [Chang, H.I., Yeh, M.K., 2012; Immordino, et al., 2006].

სტრუქტურულად ლიპოსომები არიან ერთმანეთში ჩაწყობილი კონცენტრული ვეზიკულები, რომელისთვის აუცილებელია წყლიანი გარემო, რადგან ლიპიდები

წყალში დამატებისას სპონტანურად წარმოქმნიან ლიპიდურ მონოშრეს. ეს ფენომენი ცნობილია ჰიდროფობული ეფექტის სახელწოდებით. ვინაიდან წყალის მოწესრიგებულ სტრუქტურაში ლიპიდების ცხიმოვანი მჟავეების ნახშირბადური ჯაჭვების ლოკალიზაცია ენერგეტიკულად არ არის მომგებიანი, ლიპიდების ჰიდროფობული კუდები განიდევნებიან წყლის მიერ, მაშინ როდესაც ლიპიდების ჰიდროფილური თავები მიიზიდავენ წყლის მოლეკულებს. წყლიანი გარემოს შემთხვევაში ჰიდროფილური თავები განლაგდებიან ერთმანეთის პარალელურად და წარმოქმნიან ზედაპირს, რომელიც წყალბადური ბმებით არის დაკავშირებული წყლის მოლეკულებთან. რადგანაც ლიპიდური კუდები განიზიდავენ წყლის მოლეკულებს, თითოეული ცხიმოვანმჟავური ჯაჭვი განლაგდება ბიშრის შიგნით და წარმოქმნის ჰიდროფობულ ფაზას, რომელიც წყლის მოლეკულებთან არ ურთიერტქმედებს.

ყველაზე გავრცელებული ლიპოსომები შედგებიან ფოსფოლიპიდებისაგან, რომლის შემადგენლობა წარმოდგენილია ფოსფატიდილქოლინის ამფიფილური მოლეკულებისაგან. მისი სტრუქტურისთვის დამახასიათებელია ორი წყვილი ჰიდროფობური აცილური ნახშირწყალბადური ჯაჭვი, რომლებიც გლიცეროლის ხიდაკით უკავშირდება ფოსფოქოლინის პოლარულ, ჰიდროფილურ თავაკს [Cullis Pt, B. De Kruijff, 1979; R. Yang, X. et al., 2013; M. Kepczynski, et al., 2008. Nagle, J.F., 2000; Vemuri S, Rhodes CT., 1995].

წინამდებარე ნაშრომის მიზანს შეადგენდა ნატურალური წარმოშობის ექსტრაქტების ეფექტურობის შეფასება და ოპტიმალური პროტექტორული აქტივობის მქონე ნაერთთა კომპლექსის შექმნა და შესწავლა ექსპერიმენტულ უჯრედულ მოდელურ სისტემებში.

Jurkat ტიპის ადამიანის ლიმფობლასტოიდური T უჯრედები ფართოდ დამკვიდრებულ მოდელს წარმოადგენს აპოპტოზური მექანიზმების შესასწავლად და აპოპტოზზე პრეპარატების მაინდუცირებელი ან დამათრგუნველი ზემოქმედების საანალიზოდ.

აპოპტოზის მაინდუცირებელი სიგნალები ორ ძირითად ჯგუფად შეიძლება დაიყოს: პირველნი იწვევენ სიკვდილის მაინდუცირებელი სასიგნალო კომპლექსის ფორმირებას სიკვდილის რეცეპტორების ციტოპლაზმურ ნაწილში, რასაც უჯრედის სიკვდილზე პასუხისმგებელი პროტეოლიზური კასპაზების კასკადის პირდაპირი

აქტივაცია მოჰყვება, მეორენი დასაწყისში მიტოქონდრიებიდან აპოპტოგენური ცილების (ციტოქრომი C) გამოთავისუფლებას ახდენენ, თუმცა გამონაკლისის სახით არსებობს უჯრედები, რომლებშიც სიკვდილის რეცეპტორებით ინიცირებული აპოპტოზური სიგნალებიც კი მიტოქონდრია-დამოკიდებული გზით აინდუცირებს უჯრედის სიკვდილს. Jurkat უჯრედები სწორედ ამ უნიკალურ კატეგორიას მიეკუთვნება (Song R. et al., 2004). ოქსიდაციური სტრესით ინდუცირებული აპოტოზის მექნიზმები კი, როგორც გამოკვლევებმა აჩვენა, პირდაპირ კავშირშია მიტოქონდრია-ინდუცირებული აპოპტოზის მექანიზმებთან.

ამგვარად, Jurkat უჯრედების მოდელი საშუალებას გვაძლებს ვაწარმოოთ პოტენციურად პროტექტურული მოქმედების მქონე ნაერთების ერთდროული გაფართოებული სკრინინგი და პირველადი შერჩევა. საშუალება იქმნება დავადგინოთ ამ ნაერთების ეფექტის დამოკიდებულება მათ კონცენტრაციაზე, რაც ძალზე მნიშვნელოვანია, რადგან აპოპტოზის ინტენსივობის მარეგულირებელი ნაერთების კონცენტრაციის გაზრდასთან ერთად, როგორც წესი, უჯრედთა კულტურაში იცვლება აპოპტოზური უჯრედთა ხვედრითი წილი, მაგრამ გარკვეული კრიტიკული ზღვარის ზემოთ დოზის ზრდა ნეკროზული უჯრედების სიჭარბეს განაპირობებს. ასევე უნდა აღინიშნოს, რომ, როგორც Jurkat უჯრედულ კულტურაში დოზა-დამოკიდებული პასუხის ანალიზმა აჩვენა, აქტიური ნაერთების ის კონცენტრაციები, რომლებიც in vitro აპოპტოზის ინდუცირებისათვისაა საკმარისი, in vivo აპოპტოზის ინდუცირებისათვის ოპტიმალურ კონცნენტრაციებს შეესაბამება (Meyn RE, 1995).

ჩვენი კვლევა ჩატარდა მწვანე ჩაის ექსტრაქტებზე. მცენარეული ექსტრაქტების პროტექტორული აქტივობის შეფასების მიზნით Jurkat უჯრედების ოქსიდაციური სტრესის ექსპერიმენტულ მოდელებზე შესწავლილი იყო მწვანე ჩაის სხვადასხვა ექსტრაქტების ზემოქმედება Jurkat უჯრედების სიცოცხლიუნარიანობაზე, ანტიოქსიდანტური ფერმენტების (კატალაზას და სოდ) აქტივობაზე, თვისუფალი აზოტის ჟანგის შემცველოაზე აპოპტოზის ინტენსივობაზე. მიღებული შედეგების საფუძველზე შეფასდა სხვადასხვა ექსტრაქტის ციტოპროტექტორული პოტენციალი. ჩვენ კვლევებში მწვანე ჩაის ექსტრაქტების პროტექტორული აქტივობა შედარებული იყო საყოველთად ცნობილი ანტიოქსიდანტების ვიდამინი C და E აქტივობას.

სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში სხვადასხვა დროის (4 საათის, 6 საათის, 8 საათის, და 24 საათის) განმავლობაში ინკუბირებული Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობის შესწავლისას დადგინდა, რომ ინტაქტური Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა პირველი 6 საათის განმავლობაში მკვეთრად იზრდება, რაც დაკავშირებულია უჯრედების გამრავლებასთან. შემდგომში ინკუბაციის ვადის გახანგრძლივებასთან ერთად (24 საათის ჩათვლით) უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა მერყრობს და სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ განსხვავდება 6 საათისათვის დამახასიათებელი დონისაგან (ფიგურა 9).

სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის (H_2O_2-ს კონცენტრაციით 100 μლ და 50 μლ) პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობა ინკუბციის გახანგრძლივებასთან ერთად თანდათან მცირდება და 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ დოზადამოკიდებულად მცირდება (30%-ით H_2O_2-ს კონცენტრაციისას 50 μლ, ან აღწევს ნოლს (ყველა უჯრედი გვდება) H_2O_2-ს კონცენტრაციისას 100 μლ) (ფიგურა 9). ეს შედეგები განპირობებულია წყალბადის ზეჟანგის ციტოტოქსიკური აქტივობით. აღსანიშნავია, რომ დაბალი ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში (H_2O_2-ს კონცენტრაციით 25 μლ. და 10 μლ) ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობა პირველი 8 საათის განმავლობაში უმნიშვნელოდ მცირდება, ხოლო შემდეგ იწყებს კლებას და 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ საკონტროლო მაჩვენებლების დონეზე 43%-ით და 56%-ით დაბალია (ფიგურა 9). ანუ, წყალბადის ზეჯანგის დაბალი დოზები (10 μლ, 25 μლ H_2O_2) ავლენს ციტოტოქსიკურობას 8 საათიანი ზემოქმედების შემდეგ.

შემდგომში ჩვენ შევისწავლეთ ჩვენს მიერ შერჩეული ნაერთების პროტექტორული აქტივობა საშუალო ინტენსივობისა და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში (H_2O_2 25 μლ, 50 μლ) ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე.

Jurkat უჯრედების წყალნადის ზეჟანგთან (დოზებით 25 μლ და 50 μლ) ინკუბაციის პირობებში იზრდებოდა დაბალი პროლიფერაციის უნარის მქონე უჯრედების პროცენტული შემცველობა (40% და 57%-ს, შესაბამისად) (ცხრილი 5), რაც მეტყველებს ოქსიდაციური სტრესის ამ რეჟიმებში აპოპტოზის ინტენსიფიკაციის შესახებ.

ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედებზე მწვანე ჩაის ექსტრაქტებისა და ვიტამინების პროტექტორული აქტივობის შეფასების მიზნით ჩვენ პირველ რიგში შევისწავლეთ მათი ზემოქმედება ინტაქტურ Jurkat უჯრედების სიცოცხლის უნარიანობაზე (MTT ტესტის შედეგები).

როგორც კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, C, E ვიტამინები ავლენენ სუსტ ციტოტოქსიკურ ეფექტს, ხოლო C+E ვიტამინური კომპლექსი არ ავლენდა ციტოქსიკურ ეფექტს ინტაქტურ Jurkat უჯრედებზე, რაც ვლინდება უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის და დაბალი პროლიფერაციის უნარის (აპოპტოზური) უჯრედების უმნიშვნელო ცვლილებებით (ფიგურა 5, 10).

საშუალო ინტენსივობისა და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში (H_2O_2 50 µl) ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების საინკუბაციო არეში C და E ვიტამინების ცალცალკე დამატებისას, C და E ვიტამინების პროტექციული ეფექტი Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე არ დაფიქსირდა, ხოლო C და E ვიტამინის კომპლექსის დამატებისას დაფიქსირდა ამ კომპლექსის სუსტი პროტექციული ედექტი ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის ინკუბაციის პირობებში (ფიგურა 11). ამასთან, Jurkat უჯრედების წყალნადის ზეჟანგთან (25 µლ და 50 µლ) ინკუბაციის პირობებში C, E და C+E ვიტამინის დამატებისას აპოპტოზური (დაბალი პროლიფერაციის უნარის მქონე) უჯრედების პროცენტული შემცველობა ქვეითდებოდა (განსაკუთრებით, C+E ვიტამინების კომპლექსის დამატების პირობებში) (ცხრილი 5), რაც მეტყველებს იმის შესახებ, რომ ანტიოქსიდანტური თვისებების მქონე ვიტამინებს გააჩნია Jurkat უჯრედებზე ოქსიდაციური სტრესის დამაზიანებელი ზემოქმედებისაგან სუსტი პროტექციული ეფექტი.

E ვიტამინის ანტიოქსიდანტური აქტივობა დაკავშირებულია მის თავისყფალრადიკალური რეაქციების შეწყვეტის უნართან. შედეგად, E ვიტამინის ,ანტიოქსიდანტური აქტივობის დროს წარმოიქმნება ტოკოპერილის თავისუფალი რადიკალი [Feron O, Kelly RA., 2001], რომელსაც განსაზრვრულ პირობებში თავისუფალრადიკალური პროცესების ინტენსიფიკაციის უნარი გააჩნია [van Tits LJ, et al., 2001] და, შესაბამისად, შეუძლია Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანიბის დაქვეითება. C ვიტამინი - სუსტი ანტიოქსიდანტია, მას შეუძლია E ვიტამინის ანტიოქსიდანტური აქტივობის გაძლიერება ტოკოფერილ რადიკალის

ტოქკოფეროლამდე რეგენერაციის გზით [Zhongguo Zhong Yao Za Zhi., 2010; Hosseinimehr SJ, et al., 2009] და, მაშასადამე, ამ მექანიზმის საშუალებით Jurkar უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის გაზრდა.

მწვანე ჩაის ექსტრაქტები (მწვანე ჩაის საერთო ექსტრაქტი, მწვანე ჩაის კატეხინები, მწვანე ჩაის პექტინი) გამოავლინეს განსხვავებული ეფექტი ინტაქტურ Jurkat უჯრედებზე (ფიგურა 10). მწვანე ჩაის საერთო ექსტრაქტი და მწვანე ჩაის კატეხინების ექსტრაქტი არ ავლენენ ციტოტოქსიკურ თვისებებს, უფრო მეტიც, მწვანე ჩაის კატეხინების ექსტრაქტი ავლენს მასტიმულირებელ ეფექტს Jurkat უჯრედების პროლიფერაციის ინტენსივობაზე მნიშვნელოვნად ზრდის უჯრედების პროლიფერაციის დონეს, მაშინ, როდესაც მწვანე ჩაის პექტინი ავლენდა სუსტ ციტოტოქსიკურ ეფექტს და იწვევდა Jurkat უჯრედების პროლიფერაციის ინტენსივობის დაქვეითებას და აპოპტოზის ინტენსიფიკაციას (ხელს უწყობდა დაბალი პროლიფერაციის მქონე უჯრედების რაოდენობის 30%-ით ზრდას).

საშუალო ინტენსივობისა და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში (H_2O_2 25 μლ, 50 μლ) ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების საინკუბაციო არეში მწვანე ჩაის საერთო ექსტრაქტის დამატებისას გამოვლინდა სუსტი ციტოპროტექტორული, პროლიფერაცია მასტიმულირებელი ეფექტი საშულაო ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში (H_2O_2 25 μლ) ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე. მწვანე ჩაის კატეხინების ექსტრაქტი ავლენდა მკვეთრად გამოხატულ ციტოპროტექტორულ ეფექტს საშულაო და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის (H_2O_2 25 μლ, 50 μლ) პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე, ხოლო მწვანე ჩაის პექტინი არ ახდენდა ზემოქმედებას სუსტი და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების პროლიფერაციის დომეზე, მაგრამ ავლენდა სუსტ ანტიაპოპტოზურ აქტივობას - მის ზემოქმედებით აპოპტოზური უჯრედების რაოდენობა მცირდებოდა 10% და 25%-მდე, 40%-სა და 57%-ს ნაცვლად (ფიგურა 12, ცხრილი 5).

მმაშასადამე, შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ მწვანე ჩაის საერთო ექსტრაქტს გააჩნია სუსტი, ხოლო მწვანე ჩაის კატეხინებს - ძლიერი პროლიფერაცია-მასტიმულირებელი, ანტიაპოპტოზური აქტივობა. წვანე ჩაის პეკტინი, თუმცა არ ხასისათდება პროლეფერაცი-მასტიმულირებელი ეფექტურობით, მაგრამ ავლენს

სუსტ ანტიაპოპტოზურ ეფექტს ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე.

ეს დასკვნა დასტურდება გამდინარე ციტომეტრიის მეთოდით ჩატარებული კვლევების შედეგებით. მწვანე ჩაის ექსტრაქტების (საერთო ექსტრაქტის და კატეხინების ექსტრაქტის) Jurkat უჯრედების საინკუბაციო არეში დამატებისას (როგორც ინტაქტური, ასევე სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის ინკუბაციის პირობებში) ხელს უწყობდა უჯრედების პროლიფერაციის დონის ზრდას (ჩაის კატეხინების ექსტრაქტი აღადგენდა დაბალი ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედების პროლიფერაციას 98%-მდე). მწვანე ჩაის პექტინის ექსტრაქტის დამატება იწვევდა ინტაქტური Jurkat უჯრედების პროლიფერაციის უნარის 30%-ით შემცირებას; ამავე დროს პექტინმა გამოავლინა უჯრედების დაცვითი აქტივობა ორივე რეჟიმის ოქსიდაციური სტრესის ინკუბაციის პირობებში (ცხრილი 6).

ჩატარებული კვლევების ანალიზი საფუძველს გვაძლევს გავაკეთოთ დასკვნა, რომ მწვანე ჩაის ექსტრაქტებს გააჩნის დიფერენცირებული ზემოქმედება ინტაქტურ და სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე. მწვანე ჩაის საერთო ექსტრაქტი და მწვანე ჩაის კატექინების ექსტრაქტი ავლენენ მკვეთრად გამოხატულ ანტიაპოპტოზურ, პროლიფერაცია-მასტიმულირებელ ეფექტს, როგორც ინტაქტურ, ასევე ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე, მაშინ როდესაც მწვანე ჩაის პექტინი ავლენს ციტოტოქსიურობას ინტაქტურ და სუსტ ციტოპროტექტორულ, ანტიაპოპტოზურ ეფექტს ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ მწვანე ჩაის კომპონენტების (კატეხინების) ეფექტი იყო მნიშვნელოვნად უფრო ძლიერი, ვიდრე C, E ვიტამინების და C+E ვიტამინების კომპლექსის ეფექტი.

იმისათვის, რომ დაგვედგინა მწვანე ჩაის ექსტრაქტების პროტექციული ზემოქმედების მექანიზმები, ჩვენ შევისწავლეთ Jurkat უჯრედების ანტიოქსიდანტური დაცვის სისტემის ცვლილებები სხვადასხვა სიძლიერის ოქსიდაციური სტრესი ინკუბაციის პირობებში სხვადასხვა ექსტრაქტების და ანტიოქსიდანტური ვიტამინების ზემოქმედების ფონზე.

პირველ რიგში ჩვენ შევისწავლეთ მწვანე ჩაის და ვიტამინების ეფექტები ინტაქტურ Jurkat უჯრედებზე. როგორც კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, მწვანე ჩაის შემადგენელი კომპონენტები ზომიერად ზრდიან Jurkat უჯრედების ანტიოქსიდანტრ პოტენციალს (სოდ-ისა და კატალაზას აქტივობას) (ფიგურა 13).

C ვიტამინი არ ახდენდა ზემოქმედებას Jurkat უჯრედების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობაზე, E ვიტამინი ხელს უწყობდა ანტიოქსიდანტური ფერმენტების სწრაფ აქტივაციას (განსაკუთრებით სუპეროქსიდდისმუტაზას), რაც გაპირობებულია E ვიტამინის ტოკოფერილის რადიკალის წარმოქმნის და, შესაბამისად, ოქსიდაციური სტრესის ინტენსიფიკაციის უნარით, რაც იწვევდა სოდ-ის კომპენსატორული გააქტივებას. Jurkat უჯრედების C+E ვიტამინების კომპლექსთან ერთდროული ინკუბაციისას სოდ-ის აქტივობა ქვეითდებოდა, რაც შეიძლება აიხსნას C ვიტამინის გამანეიტრალებელი ეფექტით ტოკოფერილ რადიკალებზე, წარმოქმნილი E ვიტამინის დაშლის შედეგად.

კვლევების შედეგად დადგინდა, რომ ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობა იცვლება: დაბალი ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში სოდ-ისა და კატალაზას აქტივობა იზრდება, ხოლო ძლიერე ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობა ქვეითდება (ფიგურა 14). აღნიშნული განპირობებული უნდა იყოს უჯრედების ანტიოქსიდანტური სისტემის კომპენსაციური აქტივაციით საშუალო ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში და წყალბადის ზეჟანგის დამათრგუნებელი ზემოქმედებით კატალაზას აქტივობაზე რაც, შემდგომში სოდ-ის ინაქტივაციას განაპირობებს, ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში.

მწვანე ჩაის საერთო და კატექინების ექსტრაქტები ხელს უწყობდნენ Jurkar უჯრედებში ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის დაქვეითებას საკონტროლო მავენებლების დონემდე, რაც განპირობებული უნდა იყოს ამ ექსტრაქტების შემადგენლობაში შემავალი პოლიმენოლების ანტირადიკალური აქტივობით. შედეგად, ოქსიდაციურ სტრესის ინტენსივობა უჯრედებში მცირდებოდა, რაც თავისთავად იწვევდა ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის ნორმამდე შემცირებას.

კატექინების ანტიოქსიდანტური ეფექტი ვლინდება თავისუფალი რადიკალების პირდაპირი დეტოქსიკაციით, და არაპირდაპირი ანტიოქსიდანტურ აქტივობით ტრანსკრიპციული ფაქტორებისა და ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივაციის გზით (Higdon J.V., Frei B. 2003). შეიძლება ითქვას, რომ პირდაპირი ეფექტის გამოვლინებისას მწვანე ჩაის კატეხინები, როგორც ანტიოქსიდანტური ანიონები, ბოჭავენ რადიკალებს პროტონების დისოციაციის გზით (Wang LF, Zhang HY. 2005).

დადგენილ იქნა, რომ კატექინები ახდენენ UF-1 ლეიკემიური უჯრედების კულტურის დაცვას აპოპტოზისაგან [Doss MX, et al., 2005), რაც განაპირობებული მათი მიტოქონდრიის მემბრანული პოტენციალის ნორმალური მნიშვნელობის შენარჩუნების უუნარით (Nakazato T, შ et al. 2005).

ჩაის პოლიფენოლებს გააჩნია მკვეთრად გამოხატული ფარმაკოლოგიური აქტივობა. საყოველთაოდ მიღებულია და გავრცელებულია აზრი, რომ პოლიფენოლებით გამდიდრებული კვებითი რეჟიმი მნიშვნელოვანია ორგანიზმის ენდოგენური ანტიოქსიდანტური სისტემის შემადგენელი კომპონენტების დეფიციტის შევსებისათვის, განსაკუთრებით ხანდაზმულ ასაკში. აქედან გამომდინარე, მწვანე ჩაის პოლიფენოლები განიხილება როგორც თერაპიული ეფექტის მქონე აგენტები, რომელთაც შესწევთ უნარი მოახდინონ მრავალი დაავადების პრევენცია.

მწვანე ჩაიდან გამოყოფილი პექტინის ზემოქმედებით წყალბადის ზეჟანგთან ინკუბირებული Jurkar უჯრედების კულტურაში ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობა კიდე უფრო იზრდებოდა (რაც ვლინდებოდა სოდ-ის და კატალაზას კომპენსატორული აქტივაციით).

ცნობილია, რომ პექტინი შეიცავს პოლისახარიდების კომპლექსებს, რომლებიც წარმოადგენენ უჯრედული კედლების მნიშვნელოვან კომპონენტს. ცნობილია, რომ პეკტინის პოლისახარიდები სხვადასხვა ნაერთების სატრანსპორტო ფუნქციის გარდა ხასიათდებიან დამატებითი, მიტოგენური აქტივობით და გააჩნია სისტემური იმუნური სისტემის მოდულაციის უნარი (Sakurai M H, et al., 1999). შესაბამისად, ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkar უჯრედების კულტურაში პექტინის ზემოქმედებით ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობის გაძლიერება განპირობებული უნდა იყოს ამ ნაერთის სუსტი მიტოგენური აქტივობით (ფიგურა 15, 16).

C ვიტამინი ხელს უწყობდა ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობას ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkar უჯრედების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის დაქვეითებას (და მაშასადამე, ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობას) რაც განპირობებული უნდა იყოს C ვიტამინის სუსტი ანტიოქსიდანტური (ანტირადიკალური) აქტივობით.

E ვიტამინი ხელს უწყობდა ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის ზრდას, რაც დაკავშირებული უნდა იყოს ამ ვიტამინის დამატებითი ტოკოფერილ-რადიკალების წარმოქმნის უნარით. C და E ვიტამინების კომპლექსის ანტიოქსიდანტური ზემოქმედება უფრო ეფექტური აღმოჩნდა, ვინაიდან C ვიტამინი ანეიტრალებს E ვიტამინის დაჟანგვის დროს წარმოქმნილ ტოქოფერილის რადიკალებს, რაც უზრუნველყოფს ორივე ვიტამინის სინერგიული ანტირადიკალური ეფექტის გამოვლინებას. შესაბამისად, Jurkar უჯრედების სუპერნატანტში ანტიოქსიდანტური ფერმენტების (სოდ, კატალაზა) აქტივობა ქვეითდებოდა.

მწვანე ჩაის და მწვანე ჩაის კატექინების ექსტრაქტები ხელს უწყობს Jurkar უჯრედებში ოქსიდაციურ სტრესის ინტენსივობის დაქვეითებას, რაც ვლინდება ანტიოქსიდანტური ფერმენტების საკონტროლო მაჩვენებლების მიმართულებით შემცირების ტენდენციით.

აღსანიშნავია, ცოცხალ სისტემებში (ცოცხალ უჯრედებში) ენდოგენური თავისუფალი რადიკალის, თავისუფალი აზოტის ჟანგის (NO), როლი ამ სისტემების ჰომეოსტაზის რეგულაციის მექანიზმებში. NO - ძალზე რეაქციული, ხანმოკლე სიცოცხლის მქონე თავისუფალი რადიკალია, რომელიც ასრულებს ბიოლოგიურ სისტემებში რეტროგრადული მესენჯერის როლს, მონაწილეობს უჯრედის პროლიფერაციის, დიფერენციაციის, ფერმენტების აქტივობის და სხვა პროცესების რეგულაციაში.

NO წარმოიქმნება NO-სინათაზების (კონსტიტუციური (ენდოთელური (eNOS) და ნეირონალური (nNOS)) და ინდუციბელური (iNOS)) მიერ უჯრედის ჰომეოსტაზის ცვლილებების (ოქსიდაციური სტრესი, ანთებითი ფაქტორები, კალციუმის იონების შემცველობა და ა.შ.) საპასუხოდ. NO-სა და მისი წარმოებული მეტაბოლიტების ცილოვან თიოლებთან, მეორეულ ამონებთან და მეტალებთან ურთიერთქმედებისას

S-ნიტროზოთიოლების (RSNO), N-ნიტროზოამინებისა (RNNO) და ნიტროზილ-ჰემის წარმოქმნა წარმოადგენს NO-ს ცგმფ-ზე დამოუკიდებელი ეფექტების გამოვლინებას, რომლებსაც, სავარაუდოა, გააჩნია არანაკლები ფიზიოლოგიური დატვირთვა, ვიდრე NO-ს მიერ ხსნადი გუანილატციკლაზას აქტივაცია. ახალი მექანიზმებისა და სასიგნალო გზების გამოვლინება, რომელიც ხორციელდება NO-ს მონაწილეობით განპირობებულია ცოცხალი ორგანიზმის სპეციფიური, შერჩევითი, მგრძნობელობით რთულ ბიოლოგიურ სისტემებში NO-სა და მისი დაშლის საბოლოო პროდუქტებისა და მეტაბოლიტების რაოდენობრივი ცვლილებების მიმართ.

NO-ს თავისუფალ-რადიკალური ბუნების გამთვალისწინებით არ შეიძლება მისი იგნორირება უჯრედულ სისტემებში თავისუფალ-რადიკალური პროცესების განხილვისას. ამის გამო ჩვენ შევისწავლეთ NO-ს შემცველობა ინტაქტურ და ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkar უჯრედებში სხვადასხვა ექსტრაქტებისა და ვიტამინების ზემოქმედების ფონზე.

კვლევების შედეგებიდან გამომდინარეობს, მწვანე ჩაის ექსტრაქტები არ ახდენენ ზემოქმედებას NO-ს შემცველობაზე ინტაქტურ Jurkat უჯრედებში.

Jurkar უჯრედების ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბაციის დროს NO-ს შემცველობა 18%-ით და 33%-ით იზრდებოდა საშუალო ინტენსივობისა ((H_2O_2 25 μლ) და ძლიერი (H_2O_2 50 μლ) ოქსიდაციური სტრესის პირობებში, რაც დაკავშირებული უნდა იყოს iNOS (NO-სინთაზას ინდუციბელური ფორმა) მაღალი მგრძნობელობით ოქსიდაციური სტრესის მიმართ.

ჩაის მთლიანი ექსტრაქტის ზემოქმედებით NO-ს შემცველობა Jurkat უჯრედებში უმნიშვნელოდ მცირდებოდა, მწვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედების დროს NO-ს შემცველობა Jurkat უჯრედებში მცირდებოდა 11%-12%-ით როგორც საშუალო ინტენსივობის, ასევე ძლიერი ოქსდაციური სტრესის პირობებში. Jurkat უჯრედებზე მწვანე ჩაის პექტინის ზემოქმედებისას NO-ს შემცველობა სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ იცვლებოდა არც ინტაქტურ, და არც საშუალო და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში (ფიგურა 20).

როგორც ჩვენი კვლევებითან გამომდინარეობს, სხვადასხვა პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში მწვანე ჩაის კატექინების ექსტრაქტებს NO-ს

შემცველობის სტაბილიზაციის შედარებით მაღალი უნარი გააჩნია, რაც უკავშირდება ამ ნაეთების მაღალ ანტიოქსიდანტური პოტენციალთან.

მასასადამე, ჩატარებული კვლევის შედეგების ანალიზის საფუძველზე გამოვლინდა სხვადასხვა ვიტამინებისა და მცენარეული ექსტრაქტების ინდივიდუალური და კომპლექსური ანტიოქსიდანტური აქტივობა, რაც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ამ ექსტრაქტების და ვიტამინების ანტიაპოპტოზური, პროლიფერაცია-მასტიმულირებელი აქტივობის გამოვლინებისას და გათვალისწინებული უნდა იყოს მათი სამკურნალო და პროფილაქტიკური გამოყენების დროს.

მწვანე ჩაის ექსტრაქტების ინტაქტური და სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkar უჯრედებზე ანტიოქსიდანტური, პროლიფერაცია-მარეგულირებელი და ანტიაპოპტოზური ეფექტების გათვალისწინებით ჩვენ შეგვიძლია გაუწიოთ რეკომენდაცია (განსაკუთრებით, მწვანე ჩაის კატეხინების ექსტრაქტს) მათ გამოყენებას სხვადასხვა ქრონიკული პროცესებისა და დაავადებების მკურნალობისა და პროფილაქტიკის დროს.

ჩაი შედის ჩვენი ყოველდღიური კვებითი რაციონის შემადგენლობაში, რაც საკვები პროდუქტებთან (მწვანე ბოსტნეული, ხილი, სოიო ლობიო) და სასმელებთან (ყავა, შავი ჩაი, ლუდი და წითელი ღვინო) ერთად ხელს უწყობს პოლიფენოლების მონაწილეობას ჩვენი ორგანიზმის მეტაბოლიზმში [Manach, C., et al., 2004; http://www.ars.usda.gov/nutrientdata]. პოლიფენოლების ყოველდღიური მოხმარება მნიშვნელოვნად ვარიერებს სხვადასხვა ქვეყნებში [Scalbert, A., Williamson, G., 2000, Brat, P., et al., 2006], დამოკიდებულია კვებით ტრადიციებზე და ადამიანების გემოვნებაზე, აგრეთვე მცენარეთა მოსავალზე, გადამუშავების მეთოდებზე, გადამამუშავებული პროდუქტების შენახვის პირობებზე, ფენოლური ნაერთების ექსტრაქტში არსებულ სხვა ნაერთებთან ურთიერთქმედებაზე, და აგრეთვე მომხმარებელი/პაციენტის ფიზიოლოგიურ მდგომარეობაზე (ისეთ ფაქტორებზე, როგორიცაა სქესი, ასაკი ან ჯანმრთელობის მდგომარეობა) [D’Archivio, M.; et al., 2010; Haslam, E.; Cai, Y., 1994]. აქედან გამონდინარე, მხოლოდ საკვები პრუდუქტების სახით ფენოლური ნაერთების მიღება არ უზრუნველყოფს ორგანიზმში მათი

საკმარის კონცენტრაციას, აუცილებელი სისტემური თერაპიული ეფექტების გამოვლინებისათვის.

წყალში დაბალი ხსნადობა, ცუდი შთანთქმის და ფართო და სწრაფი მეტაბოლიზმის უნარი განაპირობებს პერორალურად მიღებული პოლიფენოლების დაბალ სიცოცხლისუნარიანობას და თერაპიულ ეფექტურობას [Chen, J, Lin, H., Hu, M., 2003]. ამ პრობლემების მოგვარება და ფენოლური ნაერთებისაგან სხვადასხვა ფარმაცევტული პრეპარატების შექმნა შესაძლებელია სხვადასხვა მიდგომების დანერგვით, რომლებიც უზრუნველყოფენ მათ სტაბილიზაციას და გაზრდიან ბიოშეღწევადობას.

მცენარეული წარმოშობის პოლიფენოლურ ნაერთების, კატეხინების გამაჯანსაღებელი ეფექტების ფართე სპექტრი ახასიათებს (in vitro, in vivo კვლევების შედეგები). კატეხინების გამაჯანსაღებელი აქტივობა განპირობებულია ამ ნაერთების ანტიოქსიდანტური, ანტირადიკალური თვისებებით. მრავალი კვლევები მოწმობს კატეხინებისა და მათი მეტაბოლიტების პოტენციურ ენდოგენურ ანტიოქსიდანტებზე, მრავალრიცხოვან ბირთვულ ფაქტორებზე, აპოპტოზის, გენების ექსპრესიის ინტენსივობაზე და ა. შ. მრავალმხრივი მოქმედების მექანიზმების შესახებ იშემიისა და ანთების დროს [Brad A. Et al., 2006]. ნაჩვენები იქნა, რომ მწვანე ჩაის კატეხინები (დოზით 10 μლ) ავლენენ ციტოტოქსიკურობას და ამცირებენ Jurkat უჯრედების პროლიფერაციის დონეს პოლიფენოლების აუტოოქსიდაციის პროცესში წყალბადის ზეჟანგის განთავისუფლების შედეგად (ეს ეფქტი თითოეული კატეხინისათვის სტეხიომეტრულია) [Mitsugu AKAGAWA, et al., 2003], ხოლო 10-ჯერადი დოზების შემთხვევაში (100 μლ) სტრესორული სიგნალების (მიტოგენ-აქტივირებული პროტეინკინაზები (MAPKs)) აქტივაციას და H_2O_2-დამოუკიდებელი აპოპტოზის განვითარებას ზოგიერთ სიმსივნურ უჯრედებში [Yue Tang, et al., 2014]. აღნიშნული კატეხინების დოზადამოკიდებულ ციტოპროტექცი-ულ/ციტოტოქსიურ აქტივობაზე მიუთითებს - მაღალ დოზებში (100 μლ) ისინი იწვევენ უჯრედების აპოპტოზს H_2O_2-დამოუკიდებელი სტრესორული სიგნალების, ბირთვული ფაქტორებისა და H_2O_2-ინდუცირებული ოქსიდაციური სტრესის აქტივაციის მეშვეობით (რაც კატეხინების მაღალი დოზების ანტისიმსივნურ აქტივობაზე მიუთითებს), ხოლო დაბალი დოზებში (10 μლ) თავს იჩენს კატეხინების H_2O_2-

დამოკიდებული ციტოტოქსიურობის მექანიზმი. კატექინების დოზების შემდგომი შემცირებასთან ერთად (1 - 2 μლ) ციტოტოქსიური ეფექტის ნაცვლად ვლინდება ამ ნერთების დოზადამოკიდებული ციტოპროტექტორული, პროლიფერაციის მასტიმულირებელი ეფექტი. აღსანიშნავია, რომ ჩვენ კვლევეში მწვანე ჩაის კატექინები დოზით 2 μლ ავლენდნენ მკვეთრად გამოხატულ პროლიფერაციის მასტიმულირებელ, ციტოპროტექტორულ ეფექტს როგორც ინტაქტურ, ასევე ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე.

ადამიანები ყოველდღიურად ღებულობენ პოლიფენოლებს მწვანე ბოსტნეულის, სოიოს, ლობიოს და სხვა პროდუქტების და სასმელების სახით.

ვინაიდან ხილი, ბოსტნეული, ჩაი, ყავა და წითელი ღვინო მდიდარია პოლიფენოლებით, ეს პროდუქტები წარმოადგენენ მეცნიერების ინტენსიური კვლევების ობიექტს. კვლევები ფოკუსირდება ახალი ეფექტური ფარმაკოლოგიური თვისებების მქონე პოლიფენოლების იდენტიფიკაციაზე, მათი ეფექტურობის გაუმჯობესობაზე და მათი მოქმედების მოლეკულური მექანიზმების შესწავლაზე.

დადგენილია, რომ მწვანე ჩაის პოლიფენოლების ხანგრძლივი მიღების დროს სისხლში და ქსოვილებში კატეხინების შემცველობა 1 μლ-ზე დაბალია. სწორად ამიტომ წინმდებარე ნაშრომში ჩვენ შევარჩიეთ მწვანე ჩაის კატექინების დაბალი დოზა. როგორც კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს კატეხინების დოზის შემცირებასთან ერთად ქვეითდება ექსტრაქტების პროლიფერაცია-მასტიმულირებელი აქტივობა, მცირდება მისი ციტოპროტექტორული პოტენციალი.

რიგ კვლევებში, მიძღვნილი ნანოტექნოლოგიების გამოყენებას პოლიფენოლის ეფექტურობის გაზრდის მიზნით შემოთავაზებულია სხვადასხვა ფარმაკოლოგიური კომოლექსები, ემულსიები [Khushnud, T., Mousa, S.A., 2013, Nathalie Mignet, et al., 2013, Mulholland, P.J., et al., 2001; Pralhad, T., Rajendrakumar, K., 2004], ლიპიდური ნანონაწილაკები [Barras, A., et al., 2009], და ლიპოსომები [Yuan, Z.P., et al., 2006, Seguin, J., et al., 2013], რომლებსაც შეუძლია ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების სტაბილობის, სიცოცხლის ხანგრძლევობისა და ეფექტურობის ზრდის უზრუნველყოფა.

დადგენილია, რომ მწვანე ჩაის პოლიფენოლების ხანგრძლივი მიღების დროს სისხლში და ქსოვილებში კატეხინების შემცველობა 1 μl-ზე დაბალია [Kim, Set al.,

2000]. სწორედ იმოტომ ჩვენ შევისწავლეთ ლიპოსომურ კომპლექსში მოთავსებული მწვანე ჩაის ექსტრაქტების ზემოქმედება ინტაქტური და სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე, რათა დაგვედგინა ლიპოსომების (დიპალმიტოილფოსფატიდილქოლინ (DPPC) და 1,2-პალმიტოილ-ფოსფათიდური მჟავის (DPPA)) ამ ექსტრაქტების ეფექტურობის გაზრდის შესაძლებლობა სამიზნე ქსოვილამდე მიყვანის და სიცოცხლისუნარიანობის სტაბილიზაციის გზით.

ლიპოსომები - ნანონაწილაკებია, რომელსაც გააჩნია განსაკუთრებით მაღალი კომერციალიზაციის პოტენციალი. ლიპოსომების უპირატესობა განპირობებულია მათი მაღალი სტაბილობით, რაც უზრუნველყოფს სამკურნალო პრეპარატების სტაბილობის
შენარჩუნებას და ბიოაქტივობის ზრდას.

თუმცა პოლიფენოლების ლიპოსომებში ინკაპსულაციის სიჩქარე ჯერ კიდე საკმაოდ დაბალია, ამ ნაერთების მომატებული ხსნადობა და ეფექტურობა ლიპოსომებთან კომპლექსში ხელს შეუწყობს პოტენციურად ეფექტური კლინიკური ეფექტების გამოვლინებას. მედიცინაში ნატურალური პროტექტორების გამოყენებისადმი მეცნიერების მზარდი ინტერესის გათვალისწინებით, არსებობს მაღალი ალბათობა იმისა, რომ ლიპოსომების გარდა ფარმაცევტულ ბაზარზე გამოჩნდება ახალი, პოლიფენოლშემცველი ნანონაწილაკები, მიკროემულსიები, პოლიმერული იმპლანტანტები.

ჩვენი კვლევებით დადგინდა, რომ DPPC და DPPA ლიპოსომები არ ახდენენ ზემოქმედებას ინტაქტური Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნაეიანობაზე (ფიგურა 17). DPPC და DPPA ლიპოსომები მნიშვნელოვნად არ ცვლიდენ ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობას (ფიგურა 18).

მწვანე ჩაის კატეხინების ექსტრაქტი ავლენდა სუსტ ანტიოქსიდანტურ ეფექტს - საშუალო ინტენსივობის და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში 11%-12%-ით ზრდიდა Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობას. DPPC და DPPA ლიპოსომები მნიშვნელოვნად არ ცვლიდენ Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობას საშუალო ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის და

პირობებში. მწვანე ჩაის კატეხინების DPPC ლიპოსომებთან კომპლექსი 14%-ით აძლიერებდა კატეხინების ანტიოქსიდანტურ ეფექტს, ხოლო DPPA ლიპოსომებთან კომპლექსი არ ცვლიდა ამ ექსტრაქტის ეფექტს საშუალო და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე.

მაშასადამე, ჩვენი კვლევებით დადგინდა, რომ მწვანე ჩაის კატექინების ექსტრაქტი ავლენს ციტოპროტექტორულ აქტივობას ინტაქტურ და ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე; ჩაის კატექინების შემცველი DPPC და DPPA ლიპოსომების Jurcat უჯრედებთან ურთიერთქმედების შედეგად მათი დაშლის, ან უჯრედული მემბრანის ჰიდროფობულ უბნებთან შერწყმის (ინტეგრირების) და ჩაის კატექინების ლიპოსომებისაგან გამონთავისუფლების (სხვადასხვა მემბრანული ფერმენტების ზემოქმედებით) შემთხვევაში მოსალოდნელი იყო კატექინების უჯრედებზე დადებითი ეფექტის გაზრდა.

დიპალმიტოილფოსფატიდილქოლინ (DPPC) და 1,2-პალმიტოილფოსფათი-დური მჟავის (DPPA) ლიპოსომებს მსგავსი სტრუქტურული ორგანიზაცია ახასიათებს (სტრუქტურა სტაბილიზდება ძლიერი ჰიდროფობული ურთიერთქმედებით ლიპიდური კუდებს შორის და წყალბადური-ელექტროსტატიკური ურთიერთქმედებით ჰიდროფილური თავებს შორის), თუმცა მნიშვნელოვანი განსხვავებები გააჩნია - DPPC-ის მრავალშრიანი, ხოლო DPPA-ს მონოშრიული სტრუქტურა ახასიათებს. კომპლექსური DPPA ლიპოსომების ზედაპირული მუხტი წყალხსნარ გარემოში უარყოფითია (-P-COO^-), ხოლო DPPC ლიპიდის თავაკში არსებული ქოლინის ნაშთი შეიცავს როგორც უარყოფით (-P-COO^-) ასევე დადებით (N^+) უბნებს. შესაბამისად, დადებითი ჯგუფის მატარებელი DPPC ლიპოსომები უფრო ადვილად ურთიერთქმედებენ უარყოფიტად დამუხტულ (Z პოტენციალი) Jurcat უჯრედების მემბრანებთან, რაც დასტურდება მწვანე ჩაის კატეხინების DPPC ლიპოსომებთან კომპლექსში ანტიოქსიდანტური ეფექტის გაძლიერებით (მაშინ როდესაც DPPA ლიპოსომები ხელს უწყობენ კატეხინების ეფექტის შესუსტებას).

თუ გავითვალისწინებთ, რომ Jurcat უჯრედებს შედარებით მაღალი ზედაპირული უარყოფითია მუხტი ახასიათებს, გასაგებია, რომ DPPC ლიპოსომები უფრო ადვილად ურთიერთქმედებენ Jurcat უჯრედებტან, ვიდრე DPPA ლიპოსომები.

ჩვენი კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ DPPC ლიპოსომებთან კომპლექსი ზრდის მწვანე ჩაის კატეხინების აქტივობას ინტაქტურ Jurkat უჯრედებში (12%-ით), ხოლო DPPA ლიპოსომებთან კომპლექსი სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ ცვლის მწვანე ჩაის კატეხინების ეფექტს ინტაქტურ Jurkat უჯრედებზე. სხვადასხვა რეჟიმის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში მწვანე ჩაის კატეხინების ეფექტი 10%-12%-ით იზრდება DPPC ლიპოსომებთან კომპლექსში და სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ იცვლება DPPA ლიპოსომებთან კომპლექსში.

ჩვენი კვლევის შედეგებიდან გამომდინარეობს, რომ ლიპოსომებს შეუძლია წვანე ჩაის კატეხინების ბიოშეღწევადობის და თერაპიული ეფექტის გაუმჯობესობა.

კვლევის შემდეგ ეტაპზე ჩვენ შევისწავლეთ მწვანე ჩაის კატეხინების ექსტრაქტის ექტურობა კლინიკაში, რისთვისაც გამოვიყენეთ მწვანე ჩაის Camellia sinensis L ფოთლებიდან საქართველოში დამზადებული სტანდარტიზირებული ექსტრაქტი „კამელტინი“, რომელიც შეიცავს კატეხინების 30%-ს. „კამელტინის“ ერთი აბი შეიცავს მწვანე ჩაის Camellia sinensis L ფოთლებიდან დამზადებულ 100 მგ-ს მშრალ ექსტრაქტს. კლინიკური დაკვირვევებიდის საფუძელზე დადგინდა, რომ „კამელტინი“ არეგულირებს ლიპიდების ცვლას, ამცირებს ქოლესტეროლის, დაბალი სიმკრივის ლიპოპროტეიდების და ტრიგლიცირიდების შემცველობას სისხლში, ზრდის თერმოგენეზის ინტენსივობას და ხელს უწყობს სხეულის მასის შემცირებას. ჩვენ შევისწავლეთ „კამელტინის“ ეფექტურობა სხეულის მასის მაჩვენებლებზე სიმსუქნით დაავადებულ ქალებში.

დაკვირვებას ვაწარმოებდით 20 პოსტმენოპაუზური პერიოდის ქალზე (48 - 60 წლის ასაკით) I ხარისხის სიმსუქბით (სხეულის მასის ინდექსი შეადგენდა 30-35.9 კგ/მ^2). ქალები იმყოფებოდნენ ნორმალური კვების რაციონზე, რაიმე შეზღუდბის გარეშე; კვირაში ერთხელ ვაწარმოებდით პაციენტების წონის კონტროლს.

პაციენტები გაყოფილ იყო 2 ჯგუფად. პაციენტების I ჯგუფში (ექსპერიმენტული ჯგუფი) იყო 12 ქალი 48 - 60 წლის ასაკით სიმსუქნის I ხარისხით; მათ შორის 5-ს ჰქონდა არტერიული ჰიპერტენზია (I სტადია - არტერიული წნწვა მერყეობდა 140-159/ 0-99 მმ Hg ფარგლებში). ექსპერიმენტული ჯგუფის (I ჯგუფის)

პაციენტები ღებულობდნენ „კამელფინს“ (თითო აბს (300 მგ/კგ) 2 ჯერ დრეში) საჭმელის მიღებამდე 20-30 წუთით ადრე 4 კვირის განმავლობაში.

საკონტროლო ჯგუფი (II ჯგუფი) წარმოდგენილი იყო 12 ქალით 50 - 68 წლის ასაკით I ხარისხის სიმსუქნით, მათ შორის 6-ს გამოუვლინდა არტერიული ჰიპერტენზია (I სტადია - არტერიული წნწვა მერყეობდა 140-159/ 0-99 მმ Hg ფარგლებში).

კვლევის მონაცემებიდან გამომდინარეობს, რომ შესწავლილ ქალებში, რომლებიც იღებდნენ მწვანე ჩაის ექსტრაქტს „კამელტინის“ სახით (თითო აბს დღეში) გამოვლინდა ჯანმრთელობის საერთო მდგომარეობის გაუმჯობესობა, სხეულის მასის დაქვეითება (მათ შორის 4 ქალს - 1 კგ-ით, 3 ქალს - 1.5 კგ-ით, 1 ქალს - 1.9 კგ-ით, 3 პაციენტს სხეულის მასის დაქვეითება არ დაფიქსირდა) (ცხრილი 7).

აგრეთვე შესწავლილ პაციენტებში დაფიქსირდა არტერიული წნევის დაქვეითება - სისტოლური წნევა ქვეითდებოდა 8-10 ერტეულით, მაშინ როდესაც დიასტოლური წნევა ქვეითდებოდა - 3-5 ერთეულით. არტერიუი წნევის დაქვეითება ერთის მხრივ განპირობებული შეიძლება იყოს სხეულის მასის დაქვეითებით, ხოლო მეორეს მხრივ - მწვანე ჩაის ჰიპოტენზიური ეფექტით, რაც განაპირობებულია მწვანე ჩაის ანტიოქსიდანტური, ანტიანთებითი აქტივობით და ლიპიდური ცვლის რეგულაციის უნარით.

საკონტროლო ჯგუფის ქალებში სხეულის მასის დაქვეითება და არტერიული წნევის ცვლილებები დაფიქსირებული არ იყო.

ლიტერატურის მონაცემების თანახმად დიეტ-ინდუცირებული სიმსუქნის მქონე ადამიანებისათვის დამახასიათებელია პათოლოგიური ჰიპერგლიკემიის განვითარება, რაც ასოცირდება ტრიგლიცერიდების კატაბოლიზმის დაქვეითებასთან და ლიპოპროტეინების კატაბოლიზმის ფუნქციურ და რაოდენობრივ ცვლილებებთან. კერძოდ, ლიპიდურ სპექტრში განვითარებული რაოდენობრივი ცვლილებებიდან აღსანიშნავია ხილომიკრონების, ტრიგლიცერიდებისა და ძალიან დაბალი სიმკვრვის ლიპოპროტეინების (VLDL) კონცენტრაციის შემცირება (Чазова И.Е., Мычка В.Б., 1999, Мкртумян А.М., и др., 2004. და ქოლესტეროლის შემცველობის მკვეთრი დაქვეითება, რაც განპირობებული შეიძლება იყოს ღვიძლის მეტაბოლიზმის პათოგენური ცვლილებებით (ჰეპატოცოტებში ტრიგლიცერიდებისა და

ქოლესტეროლის ჭარბი დაგროვებით, ღვიძლის ლიპოპროტეიდლიპაზას ინაქტივაციით) (Перова Н.В., и др., 2001), ჰიპერგლიკემიის ფონზე ლიპლიოპროტეინების ცილოვანი ფრაქციის გლიკირებით და. ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ლიპოპროტეინების ლიპიდების ზეჯანგური დაჟანგვით (Syvänne M, Taskinen MR, 1997). ლიპიდური მეტაბოლიზმის ასეთი მოდიფიკაციის შედეგად ენდოთელიაციტებსა და ჰეპატოციტებში ექსპრესირებული ლიპოპროტეიდლიპაზას არ ძალუძს სახეშეცვლილი ლიპოპროტეიდების გარდაქმნა, ისინი რჩებიან სისხლის მიმოქცევის სისტემაში, და გარდაიქმნება ქსოვილებში, რაც შემდგომში წარმოადგენს ლიპიდების გაძლიერებული ნაკადის წყაროდ. სისხლის იმუნოკომპეტენტური უჯრედები ავლენენ ფაგოციტარულ აქტივობას სისხლის მიმოქცევაში დაგროვებული ლიპიდური ნაწილაკების მიმართ, რაც წარმოადგენს ათეროსკლეროზის განვითარების წამყვანი მექანიზმის საფუძველს (Pipeng L., 2005).

ფიზიოლოგიურ პირობებში ექზოგენური ლიპიდების ჭარბი ნაკადის საპასუხოდ (ჰიპერტრიგლიცერენემია, ექზოგენური ჰიპერქოლესტეროლემია) ორგანიზმში იზრდება ლიპიდების მეტაბოლიზმის ინტენსივობა. ენერგეტიკული ნაკადის სიჭარბისას ლიპოგენეზის შეზღუდვის მიზნით ორგანიზმში აქტიურდება ლიპიდებისა და ნახშირწყლების მეტაბოლიზმის კომპენსატორული გზები. სიმსუქნის დროს მეტაბოლიზმის სტრესული სტიმულაციის შედეგად ერთის მხრივ ვლინდება ლიპიდური მეტაბოლიზმის შუალედური პროდუქტების, დიაცილგლიცეროლის, აცილ-КоА-სა და მალონილ-КоА-ს, ასევე გლუკოზის მეტაბოლიზმის პროდუქტის UDP-GlcNA-ს შიგაუჯრედული კონცენტრაციის ზრდა, რაც განაპირობებს სერინ-ტრეონინ-კინაზური მეტაბოლური გზების აქტივაციას (Zick Y., 2003) და ინსულინორესისტენტობის განვითარებას. ინსულინორეზისტენტობის პირობებში ადგილი აქვს ბირთვული ტრანსკრიპციული ფაქტორის NF-κB-ს აქტივაციას და ციტოკინების (TNF-α, IL-1β) ექსპრესიის გაძლიერებას (Hansen MJ, et al., 2001), რომელთა კონცენტრაცია სისხლში დადებითად კორელირებს სიმსუქნის ხარისხთან და სისხლში ლეპტინის კონცენტრაციასთან (Boden G, et al., 2005).

ბიოქიმიურ ჭრილში საკვები ნივთიერებების ჭარბი ნაკადი იწვევს უჯრედების ენერგეტიკული წონასწორობის მკვეთრ გადახრას ერთ მხარეს (ენერგიის მიწოდება) (Horton TJ, et al. 1995). ენერგიის ჭარბად მიწოდების პირობებში სწრაფი ადაპტაცია

თავდაპირველად მიიღწევა სუბსტრატების ოქსიდაციის და ენერგიის ხარჯვის პროცესების კომპენსატორული გააქტივებით (Bouchard C. et al, 1990), რაც ოქსიდაციური სტრესის განვითარებას განაპირობებს (Kathryn E, et al., 2003).

ლიტერატურული მონაცემები მოწმობენ იმის შესახებ, რომ ადიპოზურ და არაადიპოზურ ქსოვილებში ლიპიდების ჭარბი აკუმულაცია ზეგავლენას ახდენს ჟანგვითი მეტაბოლიზმის ინტენსივობაზე, ხელს უწყობს ჟანგბადის რეაქციული ნაერთების გაძლიერებულ წარმოქმნას (Talior I., et al., 2005), ორგანიზმში სისტემური ოქსიდაციური სტრესის განვითარებას (Olust S.O., 2002), სიმსუქნის დროს სისხლში ვლინდება ანტიოქსიდანტების შემცველობის დაქვეითება, პრო- და ანტი-ოქსიდანტურ სისტემებს შორის დისბალანსის განვითარება (Koruk M, et al.,. 2004) და უჯრედების მემბრანების შემადგენელი ფოსფოლიპიდების ოქსიდაციურ დაზიანებს (Cazzoa R., et al., 2004).

მრავალი მექანიზმი განხილული იყო მწვანე ჩაის კატეხინების სიმსუქნის და ჰიპერტენზიის საწინაამღდეგო ეფექტების ასახსნელად. ზოგიერთი კვლევებით გამოთქმულია მოსაზრება, რომ კატეხინების ეს ეფექტი განპირობებულია მათი ზემოქმედებით სუბსტრატის მეტაბოლიზმზე ნაწლავების ლორწოვან გარსზე და ღვიძლის მეტაბოლიზე ზემოქმედებით, რაც ხელს უწყობს ცხიმის გაძლიერებულ დაჟანგვას საკვების მიღების შემდეგ და ლიპიდების ქსოვილოვან უჯრედებში ჩართვის ინტენსივობის შემცირებას [Friedrich M., et al., 2012]. ცნობიია, რომ კატეხინებს შესწევთ პანკრეასის ლიპაზასა [Grove K.A., et al., 2012; Wang S., et al., 2014] და ტრიგლიცერიდების მეტაბოლიზმის ინჰიბიციის უნარი [Ikeda I., et al., 2005]. ამ ფენომენის მექანიზმის ასახსნელად გამოთქმული იყო მოსაზრება, რომ კატეხინების ჰიდროქსილურ ფრაგმენტები ურთიერთქმედებენ ლიპიდური ემულსიის ზედაპირზე განლაგებული ფოსფატიდილქოლინის ჰიდროფილურ ჯგუფთან წყალბადური ბმების წარმოქმნით, ეს ურთიერტქმედება კი შემდგომში შეიძლება გამოიწვიოს დამატებითი კავშირების წარმოქმნას და ემულსიური წვეტების შემდგომ გაერთიანებას [Shishikura Y., et al., 2006].

მეტაბოლური სინდრომის კომპონენტები, სიმსუქნე, ინსულინორეზისტენ-ტობა, ჰიპერტენზია, მჭიდროდ დაკავშირებულია ორგანიზმში ოქსიდაციური სტრესის ინტენსიფიკაციასთან და ენდოთელური დისფუნქციის განვითა-რებასთან. ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ მწვანე ჩაის კატექინებს ახასიათებს მკვეთრად

გამოხატული ანტიოქსიდანტური (Chen C., et al., 2000; Chen Ju-Hua, et al. 2004; Loest H.B., et al., 2002) და ლიპიდური ცვლის მარეგულირებელი (Murase T., et al., 2002; Raedestorff D.G., et al., 2003) აქტივობა. სწორედ კატეხინების ანტირადიკალური აქტივობა უზრუნველყოფს სისხლძრღვთა ენდოთელიუმში NO-ს ოქსიდაციური დეგრადაციის პრევენცია, რაც თავისთავად განაპირობებს მათი ანტიჰიპერტენზიულ ეფექტურობას. აგრეთვე, დადგენილია მწვანე ჩაის კატეხინების მაინჰიბირებელი ეფექტი რენინის აქტივობაზე [Li F., et al.,2013], მათი ენდოთელიუმში აზოტის ჟანგის სინთეზის სტიმულაციის უნარი [Potenza M.A., et al., 2007]. ეს მონაცემები ადასტურებენ მწვანე ჩაის კატეხინების ჩვენს მიერ გამოვლებილ ანტიჰიპერტენზიურ ეფექტურობას.

დასკვნები

1. მწვანე ჩაის ექსტრაქტები (მწვანე ჩაის საერთო ექსტრაქტი, მწვანე ჩაის კატეხინები, მწვანე ჩაის პექტინი) გამოავლინეს განსხვავებული ეფექტი ინტაქტურ Jurkat უჯრედებზე:

- მწვანე ჩაის საერთო ექსტრაქტი და მწვანე ჩაის კატეხინების ექსტრაქტი არ ავლენენ ციტოტოქსიკურ თვისებებს, უფრო მეტიც, მწვანე ჩაის კატეხინების ექსტრაქტი ავლენს მასტიმულირებელ ეფექტს Jurkat უჯრედების პროლიფერაციის ინტენსივობაზე და მნიშვნელოვნად ზრდის უჯრედების პროლიფერაციის დონეს;

- მწვანე ჩაის პექტინი ავლენს სუსტ ციტოტოქსიკურ ეფექტს და იწვევს Jurkat უჯრედების პროლიფერაციის ინტენსივობის დაქვეითებას და აპოპტოზის ინტენსიფიკაციას (ხელს უწყობს დაბალი პროლიფერაციის მქონე უჯრედების რაოდენობის ზრდას.

2. მწვანე ჩაის ექსტრაქტები (მწვანე ჩაის საერთო ექსტრაქტი, მწვანე ჩაის კატეხინები, მწვანე ჩაის პექტინი) გამოავლინეს განსხვავებული ეფექტი საშუალო ინტენსივობისა და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში (H_2O_2 25 μლ, 50 μლ) ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე: მწვანე ჩაის საერთო ექსტრაქტს გააჩნია სუსტი, ხოლო მწვანე ჩაის კატეხინების ექსტრაქტს - ძლიერი პროლიფერაცია მასტიმულირებელი, ანტიაპოპტოზური ეფექტი; წვანე ჩაის პექტინი, თუმცა არ ხასისათდება პროლეფერაცია-მასტიმულირებელი ეფექტურობით, მაგრამ ავლენს სუსტ ანტიაპოპტოზურ ეფექტს ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე.

3. მწვანე ჩაის ექსტრაქტების ციტოპროტექტორული, პროლიფერაცია-მასტიმულირებელი აქტივობა ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkat უჯრედებზე განპირობებულია ამ ექსტრაქტების ანტირადიკალური, უჯრედების ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივზციის უნარით.

4. მწვანე ჩაის ექსტრაქტების Jurkat უჯრედებში NO-ს შემცველობის კორექციის უნარი განპირობებულია მათი ანტირადიკალური აქტივობით: ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებში ჩაის მთლიანი ექსტრაქტის

და მწვანე ჩაის კატექინების ზემოქმედებისას NO-ს შემცველობა უმნიშვნელოდ მცირდებოდა, ხოლო მწვანე ჩაის პექტინის ზემოქმედებისას NO-ს შემცველობა სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ იცვლებოდა და რჩება ოქსიდაციური სტრესისათვის დამახასიათებელ დონეზე.

5. ლიპოსომები სელექციურად ზრდიან მწვანე ჩაის კატეხინების პროტექციულ ეფექტს ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედებზე: DPPC ლიპოსომები მწვანე ჩაის კატეხინების კომპლექსში 14%-ით აძლიერებდნენ კატეხინების ციტოპროტექტორულ ეფექტს; DPPA ლიპოსომები მწვანე ჩაის კატეხინებტან კომპლექსში არ ცვლიდნენ ამ ექსტრაქტის ეფექტს საშუალო და ძლიერი ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებულ Jurkat უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე.

6. ქართული წარმოშობის კატეხინების შემცვლელი მწვანე ჩაის ექსტრაქტი ხელს უწყობს სიმსუქნეს მქონე პაციენტების სხეულის მასის დაქვეითებას და ჰიპერტენზიის კორექციას.

რეკომენდაციები

4. მწვანე ჩაის ექსტრაქტების ინტაქტური და სხვადასხვა ინტენსივობის ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ინკუბირებული Jurkar უჯრედებზე ანტიოქსიდანტური, პროლიფერაცია-მარეგულირებელი და ანტიაპოპ-ტოზური ეფექტების გათვალისწინებით ჩვენ შეგვიძლია გაუწიოთ მათ რეკომენდაცია (განსაკუთრებით, მწვანე ჩაის კატეხინების ექსტრაქტს) მათ გამოყენებას სხვადასხვა ქრონიკული პროცესებისა და დაავადებების მკურნალობისა და პროფილაკტიკის მიზნით.
5. ლიპოსომების მწვანე ცაის კატეხინების ეფექტის გამაძლიერებელი სელექციური აქტივობის გათვალისწინებით რეკომენდაციას ვუწევთ მათი ეფექტური შერჩევის მიმართულებით კვლევების გაგრძელებას.
6. რეკომენდაციას ვუწევთ ქართული წარმოშობის კატეხინების შემცვლელი მწვანე ჩაის ექსტრაქტის „კამელტინის“ გამოყენებას სიმსუქნის მქონე პაციენტებში სხეულის მასის დაქვეითების და ჰიპერტენზიის კორექციის მიზნით.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Aherne, S.A.; O'Brien, N.M. Dietary flavonols: Chemistry, food content, and metabolism. Nutrition 2002, 18, 75–81.13
2. Ali, M.H.; Moghaddam, B.; Kirby, D.J.; Mohammed, A.R.; Perrie, Y. The role of lipid geometry in designing liposomes for the solubilisation of poorly water soluble drugs. Int. J. Pharm. 2013, 453, 225–232
3. Andreas W, Karola VU: Liposome technology for industrial purposes. J Drug Deliv 2011, (2011).
4. Arts, I.C. A review of the epidemiological evidence on tea, flavonoids, and lung cancer. J. Nutr. 2008, 138, 1561S–1566S.
5. Asensi, M.; Ortega, A.; Mena, S.; Feddi, F.; Estrela, J.M. Natural polyphenols incancer therapy. Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 2011, 48, 197–216
6. Atrooz OM: Effects of alkylresorcinolic lipids obtained from acetonic extract of Jordanian wheat grains on liposome properties. Int J Biol Chem , 5(5):314-321. (2011).
7. Atrooz, O.M. The incorporation effects of methanolic extracts of some plant seeds on the stability of phosphatidylcholine liposomes. Pak. J. Biol. Sci. 2007, 10, 1643–1648
8. Barras, A.; Mezzetti, A.; Richard, A.; Lazzaroni, S.; Roux, S.; Melnyk, P.; Betbeder, D.; Monfilliette-Dupont, N. Formulation and characterization of polyphenol-loaded lipid nanocapsules. Int. J. Pharm. 2009, 379, 270–277.
9. Belitz DH, Grosch W. Qu'mica de los Alimentos. Zaragoza: Acribia; 1997.
10. Benech RO, Kheadr EE, Laridi R, Lacroix C, Fliss I: Inhibition of Listeria innocua in cheddar cheese by addition of nisin Z in liposomes or by in situ production in mixed culture. Applied Environ Microbiol , 68:3683-3690. (2002).
11. Boden G, She P, Mozzoli M, Cheung P, Gumireddy K, Reddy P, Xiang X, Luo Z, Ruderman N. Free fatty acids produce insulin resistance and activate the proinflammatory nuclear factor-kappaB pathway in rat liver. Diabetes. 2005 Dec;54(12):3458-65)
12. Bonechi, C.; Martini, S.; Ciani, L.; Lamponi, S.; Rebmann, H.; Rossi, C.; Ristori, S. Using liposomes as carriers for polyphenolic compounds: The case of trans-resveratrol. PLoS One 2012, 7, e41438
13. Bouchard C. et al 1990. The response to long-term overfeeding in identical twins. N.Engl.J.Med. 322:1477-1482

14. Brad A. Sutherland, Rosanna M.A. Rahman, Ian Appleton. Mechanisms of action of green tea catechins, with a focus on ischemia-induced neurodegeneration. Journal of Nutritional Biochemistry 17 (2006) 291 – 306
15. Brat, P.; George, S.; Bellamy, A.; Du, C.L.; Scalbert, A.; Mennen, L.; Arnault, N.; Amiot, M.J. Daily polyphenol intake in France from fruit and vegetables. J. Nutr. 2006, 136, 2368–2373.15
16. Bravo L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significamce . Nutr. Res.56, 317-333.
17. Cao GH, Sofic E, Prior RL. 1997. Antioxidant and pro-oxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. Free Radic.Biol Med. 22: 749-760
18. Cazzoa R., Rondanelly M., Russo-Volpe S., ZFerrari E., Cestaro B. Decrease membrane fluidity and altered susceptibility to peroxidation and lipid composition in overweight and obese famale erythrocytes., J. Lipid Res., 2004, 45, 1846-1851.
19. Chan, Y.C.; Wang, M.F.; Wei, C.C.; Chang, S.J. Dietary (□)-Epigallocatechin-3-gallate supplementation counteracts aging-associated skeletal muscle insulin resistance and fatty liver in senescence-accelerated mouse. J. Agric. Food Chem. 2015, 63, 8407–8417
20. Chandra Ranjit Kumar. 1996. Nutrition, immunity and infection: From basic knowledge of dietary manipulation of immune responses to practical application of ameliorating suffering and improving survival. Am J Clin Nutr. 53:1087-1101
21. Chang, H.I.; Yeh, M.K. Clinical development of liposome-based drugs: Formulation, characterization, and therapeutic efficacy. Int. J. Nanomed. 2012, 7, 49–60.
22. Chen C., Yu R., Owuor E.D., Kong A.N. 2000, Activation of antioxidant-response element (ARE), nitrogen activated protein kinases and caspases by major green tea polyphenol components during cell survival and death. Arch. Pharm. Res., 23, 605-612
23. Chen Ju-Hua, Tipoe G. L, Liong E. C, So H. SH, et al. 2004. Green tea polyphenols prevent toxin-induced hepatotoxicity in mice by down-regulating inducible nitric oxid-derived prooxidants. J of Clinical Nutrition, Vol 80 3:742-751
24. Chen, J.; Lin, H.; Hu, M. Metabolism of flavonoids via enteric recycling: Role of intestinal disposition. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2003, 304, 1228–1235
25. Choi, Y.T., Jung, C.H., Lee, S.R., Bae, J.H., Baek, W.K., Suh, M.H., Park, J., Park, C.W., Suh, S.I., 2001. The green tea polyphenol (−)-epigallocatechin gallate attenuates beta-amyloid-induced neurotoxicity in cultured hippocampal neurons. Life Sciences 70 (5), 603–614

26. Chu, D.-C., Juneja, L.R., 1997. General chemical composition of green tea and its infusion. In: Juneja, L.R., Chu, D.-C., Kim, M. (Eds.), Chemistry and Applications of Green Tea. CRC Press, Boca Raton, pp. 13–22.Chu and Juneja, 1997
27. Coimbra, M.; Isacchi, B.; van, B.L.; Torano, J.S.; Ket, A.; Wu, X.; Broere, F.; Metselaar, J.M.; Rijcken, C.J.; Storm, G.; et al. Improving solubility and chemical stability of natural compounds for medicinal use by incorporation into liposomes. Int. J. Pharm. 2011, 416, 433–442.51,
28. Collins, Q.F.; Liu, H.Y.; Pi, J.; Liu, Z.; Quon, M.J.; Cao, W. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG), a green tea polyphenol, suppresses hepatic gluconeogenesis through 50-AMP-activated protein kinase. J. Biol. Chem. 2007, 282, 143–149.
29. Corona G, Deiana M, Incani A, Vauzour D, Dessì MA, Spencer JP. Inhibition of p38/CREB phosphorylation and COX-2 expression by olive oil polyphenols underlies their anti-proliferative effects. Biochem Biophys Res Commun. 2007 Oct 26;362(3):606-11.
30. Cullis Pt, B. De Kruijff"Lipid polymorphism and the functional roles of lipids in biological membranes" Biochim Biophys Acta (BBA), 559 (4), pp. 399-420.(1979).
31. D'Archivio, M.; Filesi, C.; Vari, R.; Scazzocchio, B.; Masella, R. Bioavailability of the polyphenols: Status and controversies. Int. J. Mol. Sci. 2010, 11, 1321–1342.
32. Di Carlo, G.; Mascolo, N.; Izzo, A.A.; Capasso, F. Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life Sci. 1999, 65, 337–353.
33. Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N: Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chem. 2006, 97: 654-660. 10.1016/
34. Dona, M., Dell'Aica, I., Calabrese, F., Benelli, R., Morini, M., Albini, A., Garbisa, S., 2003. Neutrophil restraint by green tea: inhibition of inflammation, associated angiogenesis, and pulmonary fibrosis. Journal of Immunology 170 (8), 4335–4341
35. Dorta DJ, Pigoso A., Mingatto F., Rodrigues T. et al 2005 The interaction of flavonoids with mitochondria: effects on energetic processes. ChemBiol Interact. 152: 67-78.
36. Doss MX, Potta SP, Hescheler J, Sachinidis A. 2005. Trapping of growth factors by catechins: a possible therapeutical target for prevention of proliferative diseases. J Nutr Biochem. 16(5):259-66
37. Edvardsson U., et al 1999. Rosiglitazone (BRL49653), a PPAR gamma-selective agonist, causes peroxisome proliferators-like liver effects in obese mice.J Lipid Res. 40: 1177-1184

38. Esposito, E., Rotilio, D., Di Matteo, V., Di Giulio, C., Cacchio, M., Algeri, S., 2002. A review of specific dietary antioxidants and the effects on biochemical mechanisms related to neurodegenerative processes. Neurobiology of Aging 23 (5), 719–735.
39. Fahr, A.; van Hoogevest, P.; May, S.; Bergstrand, N.; Leigh, M.S.L. Transfer of lipophilic drugs between liposomal membranes and biological interfaces: Consequences for drug delivery. Eur. J. Pharm. Sci. 2005, 26, 251–265
40. Fang, J.Y.; Hung, C.F.; Hwang, T.L.; Huang, Y.L. Physicochemical characteristics and in vivo deposition of liposome-encapsulated tea catechins by topical and intratumor administrations. J. Drug Target. 2005, 13, 19–27.44
41. Fei, Q.; Gao, Y.; Zhang, X.; Sun, Y.; Hu, B.; Zhou, L.; Jabbar, S.; Zeng, X. Effects of Oolong tea polyphenols, EGCG, and EGCG3”Me on pancreatic α-amylase activity in vitro. J. Agric. Food Chem. 2014, 62, 9507–9514
42. Feron O, Kelly RA. The caveolar paradox: suppressing, inducing, and terminating eNOS signaling. Circ Res. 2001; 88(2): 129-
43. Fini L, Hotchkiss E, Fogliano V, Graziani G, Romano M, De Vol EB, Qin H, Selgrad M, Boland CR, Ricciardiello L. Chemopreventive properties of pinoresinol-rich olive oil involve a selective activation of the ATM-p53 cascade in colon cancer cell lines.Carcinogenesis. 2008 Jan;29(1):139-46.
44. Friedrich M., Petzke K.J., Raederstorff D., Wolfram S., Klaus S. Acute effects of epigallocatechin gallate from green tea on oxidation and tissue incorporation of dietary lipids in mice fed a high-fat diet. Int. J. Obes. 2012;36:735–743.
45. Furuyashiki T, Nagayasu H, Aoki Y, et al. 2004. Tea Catechin Suppresses Adipocyte Differentation Accompanied by Down-regulation of PPARγ2 and C/EBPα in 3T3-L1 Cells. Biosci. Biotechnol. Biochem. 68(11):2353-2359
46. Gates, M.A.; Tworoger, S.S.; Hecht, J.L.; de Vivo, I.; Rosner, B.; Hankinson, S.E. A prospective study of dietary flavonoid intake and incidence of epithelial ovarian cancer. Int. J. Cancer 2007, 121, 2225–2232.
47. Gennis R.B., “Biomembranes. Molecular structure and Function”, Springer-Verlag, New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo, (перевод с английского, Москва, «Мир», (1997).
48. Gomez-Hens, A., Fernandez-Romero, J.M. “Analytical methods for the control of liposomal delivery systems”, Trends Anal Chem, 25,167–178. (2006).
49. Gouni-Berthold, I., Sachinidis, A., 2004. Molecular mechanisms explaining the preventive effects of catechins on the development of proliferative diseases. Current Pharmaceutical Design 10 (11), 1261–1271

50. Graham HN. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. Prev Med. 1992;21:334–350.
51. Gregoriadis, G.; Florence, A.T. Liposomes in drug delivery. Clinical, diagnostic and ophthalmic potential. Drugs 1993, 45, 15–28.
52. Grove K.A., Sae-tan S., Kennett M.J., Lambert J.D. (−)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits pancreatic lipase and reduces body weight gain in high fat-fed obese mice. Obesity. 2012;20:2311–2313.
53. Gulcin I: Antioxidant activity of food constituents: an overview. Arch Toxicol. 2012, 86: 345-391. 10.1007/s00204-011-0774-2. Gocer H, Gulcin I: Caffeic acid phenethyl ester (CAPE): correlation of structure and antioxidant properties. Int J Food Sci Nutr. 2011, 62: 821-825. 10.3109/09637486.2011.585963
54. Guo S, Hu Y, Liu P, Wang Y, Guo D, Wang D, Liao H. Protective activity of different concentration of tea polyphenols and its major compound EGCG against whole body irradiation-induced injury in mice. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 2010 May;35(10):1328-31
55. Gupta, S., Hussain, T., Mukhtar, H., 2004. Molecular pathway for (-)-epigallocatechin-3-gallate-induced cell cycle arrest and apoptosis of human prostate carcinoma cells. Arch Biochem Biophys 410 (1), 177–185.
56. Halliwell B, Gutteridge JMC: Formation of thiobarbituric acid reactive substances from deoxyribose in the presence of iron salts: the role of superoxide and hydroxyl radicals. FEBS Lett. 1981, 128: 347-352. 10.1016/0014-5793(81)80114-7.5
57. Handa T, Naito S, Hiramatsu M, Tsuboi M: Thermal SiO and H13CO+ line observations of the dense molecular cloud G0.11-0.11 in the Galactic Center Region. Astrophys J , 636:261-266. (2006).
58. Hansen MJ[1], Ball MJ, Morris MJ. Enhanced inhibitory feeding response to alpha-melanocyte stimulating hormone in the diet-induced obese rat. Brain Res. 2001 Feb 16;892(1):130-7
59. Harborne, J.B. Nature, Distribution, and Function of Plant Flavonoids. In Plant Flavonoids in Biology and Medicine—Biochemical, Pharmacological, and Structure-Activity Relationships; Cody, V., Middleton, E., Jr., Harborne, J.B., Eds.; Alan R. Liss, Inc.: New York, NY, USA, 1986; pp. 15–24.
60. Harman D: Free radical theory of aging. Current status. 1998, Amster-dam: Elsevier, p. 3-p. 7
61. Haslam, E.; Cai, Y. Plant polyphenols (vegetable tannins): Gallic acid metabolism. Nat. Prod. Rep. 1994, 11, 41–66.

62. Havsteen, B.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol. Ther.2002, 96, 67–202. Winkel-Shirley, B. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. Curr. Opin. Plant Biol. 2002, 5, 218–223.
63. Hayakawa, S.; Saito, K.; Miyoshi, N.; Ohishi, T.; Oishi, Y.; Miyoshi, M.; Nakamura, Y. Anti-cancer effects of green tea by either anti- or pro-oxidative mechanisms. Asian Pac. J. Cancer Prev. 2016.
64. Higdon J.V., Frei B. 2003, Tea catechins and poliphenols geakth effects, metabolism, and antioxidant functions. Crit. Rev. Food. Sci. Nutr., 43, 89-143
65. Hirpara, K.V.; Aggarwal, P.; Mukherjee, A.J.; Joshi, N.; Burman, A.C. Quercetin and its derivatives: Synthesis, pharmacological uses with special emphasis on anti-tumor properties and prodrug with enhanced bio-availability. Anticancer Agents Med. Chem. 2009, 9, 138–161.
66. Horton TJ, Drougas H, Brachey A, Reed GW, et al. 1995. Fat and carbohydrate overfeeding in humans: different effects on energy storage. J Clin Nutr. 62(1):19-29
67. Hosseinimehr SJ, Mahmoudzadeh A, Ahmadi A, Mohamadifar S, Akhlaghpoor S. Radioprotective effects of hesperidin against genotoxicity induced by gamma-irradiation in human lymphocytes. Mutagenesis. 2009 May;24(3):233-5
68. Howells, L.M.; Berry, D.P.; Elliott, P.J.; Jacobson, E.W.; Hoffmann, E.; Hegarty, B.; Brown, K.; Steward, W.P.; Gescher, A.J. Phase I randomized, double-blind pilot study of micronized resveratrol (SRT501) in patients with hepatic metastases--safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. Cancer Prev. Res. 2011, 4, 1419–1425.
69. Hung, C.F.; Chen, J.K.; Liao, M.H.; Lo, H.M.; Fang, J.Y. Development and evaluation of emulsion-liposome blends for resveratrol delivery. J. Nanosci. Nanotechnol. 2006, 6, 2950–2958
70. Hwang, J.T.; Ha, J.; Park, I.J.; Lee, S.K.; Baik, H.W.; Kim, Y.M.; Park, O.J. Apoptotic effect of EGCG in HT-29 colon cancer cells via AMPK signal pathway. Cancer Lett. 2007, 247, 115–121.
71. Ikeda I., Tsuda K., Suzuki Y., Kobayashi M., Unno T., Tomoyori H., Goto H., Kawata Y., Imaizumi K., Nozawa A., et al. Tea catechins with a galloyl moiety suppress postprandial hypertriacylglycerolemia by delaying lymphatic transport of dietary fat in rats. J. Nutr. 2005;135:155–159.
72. Immordino, M.L.; Dosio, F.; Cattel, L. Stealth liposomes: Review of the basic science, rationale, and clinical applications, existing and potential. Int. J. Nanomed. 2006, 1, 297–315

73. Inagake M., Yamane T., Kitao Y., Oya K., Matsumoto H., et al., 1995, Inhibition of 1, 2 –dimethylhidrazine-induced oxidative DNA damage by green tea extract in rat. Jpn. J Cancer Res. 86, 1106-1111
74. Kahle KA, Foley JP. Chiral microemulsion electrokinetic chromatography: Effect of cosurfactant identity on enantioselectivity, methylene selectivity, resolution, and other chromatographic figures of merit. Electrophoresis. 2006 Nov;27(21):4321-33.
75. Kahle KA, Foley JP. Review of aqueous chiral electrokinetic chromatography (EKC) with an emphasis on chiral microemulsion EKC. Electrophoresis. 2007 Aug;28(15):2503-26.
76. Kaibara, E. Yojokun: Life Lessons from A Samurai; Wilson, W.S., Translator; Kodansha International: Tokyo, Japan, 2008.
77. Kanadzu, M.; Lu, Y.; Morimoto, K. Dual function of (□)-epigallocatechin gallate (EGCG) in healthy humanlymphocytes. Cancer Lett. 2006, 241, 250–255.
78. Kathryn E, Wellen and Gokhan S. Hotamisligil. 2003. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. J Clin. Invest. 112:1785-1788
79. Khan, R.; Rezler, E.; Lauer-Fields, J.; Fields, G. Effects of drug hydrophobicity on liposomal stability. Chem. Biol. Drug Des. 2008, 71, 3–7
80. Khushnud, T.; Mousa, S.A. Potential role of naturally derived polyphenols and their nanotechnology delivery in cancer. Mol. Biotechnol. 2013, 55, 78–86.
81. Kim MK, Sasaki S, Otani T, Tsugane S; Japan Public Health Center-based Prospective Study Group. Dietary patterns and subsequent colorectal cancer risk by subsite: a prospective cohort study. Int J Cancer. 2005 Jul 10;115(5):790-8.
82. Kim, S., Lee, M.J., Hong, J., Li, C., Smith, T.J., Yang, G.Y., Seril, D.N., and Yang, C.S. (2000). Plasma and tissue levels of tea catechins in rats and mice during chronic consumption of green tea polyphenols. Nutr. Cancer, 37, 41-48
83. Koruk M, Taysi S, Savas M. C, Yilmaz O, et al. 2004. Oxidative Stress and Enzymatic Antioxidant Status in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis. Annals of Clin. & Labor. Science 34:57-62
84. Koynova R, Brankov J, Tenchov B Modulation of Lipid Phase Behavior by Kosmotropic and Chaotropic Solutes. Eur. biophys. j. 25: 261-274. (1997).
85. Kumazawa, S.; Kajiya, K.; Naito, A.; Saito, H.; Tuzi, S.; Tanio, M.; Suzuki, M.; Nanjo, F.; Suzuki, E.; Nakayama, T. Direct evidence of interaction of a green tea polyphenol, epigallocatechin gallate, with lipid bilayers by solid-state Nuclear Magnetic Resonance. Biosci. Biotechnol. Biochem. 2004, 68, 1743–1747

86. Lei, X.; Bone, R.N.; Ali, T.; Zhang, S.; Bohrer, A.; Tse, H.M.; Bidasee, K.R.; Ramanadham, S. Evidence of contribution of iPLA2_-mediated events during islet _-cell apoptosis due to proinflammatory cytokine suggests a role for iPLA2_ in T1D development. Endocrinology 2014, 155, 52–64.
87. Levites Y., Amit T., Mandel S., Yoidim M.B. H. 2003,Neuroptotection and neurorescue against amyloid beta toxity and PKC0dependent release of non-amyloidogenoc soluble precursor protein by green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate. Faseb J. 17, 952-954
88. Li F., Takahashi Y., Yamaki K. Inhibitory effect of catechin-related compounds on renin activity. Biomed. Res. 2013;34:167–171. doi: 10.2220/biomedres.34.167.
89. Li, L.; Braiteh, F.S.; Kurzrock, R. Liposome-encapsulated curcumin: In vitro and in vivo effects on proliferation, apoptosis, signaling, and angiogenesis. Cancer 2005, 104, 1322–1331
90. Linsalata M, Russo F. Nutritional factors and polyamine metabolism in colorectal cancer. Nutrition. 2008 Apr;24(4):382-9.
91. Liu L, Yonetaini T: Preparation and characterization of liposome-encapsulated haemoglobin by a freeze-thaw method. J Microencapsulation , 11(4):409-42. (1994).
92. Liu, H.W.; Chan, Y.C.; Wang, M.F.; Wei, C.C.; Chang, S.J. Dietary (□)-Epigallocatechin-3-gallate supplementation counteracts aging-associated skeletal muscle insulin resistance and fatty liver in senescence-accelerated mouse. J. Agric. Food Chem. 2015, 63, 8407–8417. Liu, H.W.
93. Liu, J. Ethanol and liver: Recent insights into the mechanisms of ethanol-induced fatty liver. World J. Gastroenterol. 2014, Zhang, G.; Li, Q.; Wang, L.; Chen, Y.; Wang, L.; Zhang, W. Interleukin-1_ enhances the intracellular accumulation of cholesterol by up-regulating the expression of low-density lipoprotein receptor and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase in podocytes. Mol. Cell. Biochem. 2011
94. Loest H.B., Noh S.K., Koo S.I. 2002, Green tea extract inhibits the lymphatic absorption of cholesterol and alpha-tokopherol in ovariectomized rats. J. Nitr., 132, 1282-1288
95. Lursmanashvili L, Gulua L, Turmanidze T, Enukidze M, Machavariani M, Sanikidze T. BIOLOGICAL ACTIVITY OF GREEN TEA EXTRACTS. Georgian Med News. 2017 Feb;(263):88-93
96. Majidi, S.; Sehrig, F.; Samiei, M.; Milani, M.; Abbasi, E.; Dadashzadeh, K.; Akbarzadeh, A. Magnetic nanoparticles: Applications in gene delivery and gene therapy. Artif. Cells Nanomed. Biotechnol. 44, 1186–1193, (2016).

97. Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Remesy, C.; Jimenez, L. Polyphenols: Food sources and bioavailability. Am. J. Clin. Nutr. 2004, 79, 727–747.
98. Mandal, A.K.; Sinha, J.; Mandal, S.; Mukhopadhyay, S.; Das, N. Targeting of liposomal flavonoid to liver in combating hepatocellular oxidative damage. Drug Deliv. 2002, 9, 181–185.
99. Mandel, S., Youdim, M.B., 2004. Catechin polyphenols: neurodegeneration andneuroprotection in neurodegenerative diseases. Free Radical Biology and Medicine 37 (3), 304–317.
100. Maqsood S, Singh P, Samoon MH, Balange AK: Effect of dietary chitosan on non-specific immune response and growth of Cyprinus carpio challenged with Aeromonas hydrophila. Inter Aqua Res. 2010, 2: 77-85
101. Matsumoto H., Yamane T.,I nagake M.,Nakatani H.,Iwata Y., Takahashi T., Nashimura H., Nishino H., et al. 1996. Inhibition of mucosal lipid hyperoxidation by green tea extract in 1,2 –dimethylhidrazine-induced rat colonic carcinogenesis., Cancer. 104, 205-209.
102. Maurer, N.; Fenske, D.B.; Cullis, P.R. Developments in liposomal drug delivery systems. Expert Opin. Biol. Ther. 2001, 1, 923–947
103. Mayer LD, Bally MB, Hope MJ, Cullis PR: Techniques for encapsulating bioactive agents in to liposomes. Chem Phys Lipids , 40:333-345. (1986).
104. Mignet, N.; Seguin, J.; Ramos Romano, M.; Brullé, L.; Touil, Y.S.; Scherman, D.; Bessodes, M.; Chabot, G.G. Development of a liposomal formulation of the natural flavonoid fisetin. Int. J. Pharm. 2012, 423, 69–76
105. Mitsugu AKAGAWA, Tomoko SHIGEMITSU & Kyozo SUYAMA (2003) Production of Hydrogen Peroxide by Polyphenols and Polyphenol-rich Beverages under Quasiphysiological Conditions, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 67:12, 2632-2640, 2003
106. Miura, Y., Chiba, T., Tomita, I., Koizumi, H., Miura, S., Umegaki, K., Hara, Y., Ikeda, M., Tomita, T., 2001. Tea catechins prevent the development of atherosclerosis in apoprotein E-deficient mice. Journal of Nutrition 131 (1)
107. Miyoshi, N.; Pervin, M.; Suzuki, T.; Unno, K.; Isemura, M.; Nakamura, Y. Green tea catechins for well-being and therapy: Prospects and opportunities. Bot. Targets Ther. 2015, 5, 85–96.
108. Mozafari, M.R., Johnson, C., Hatziantoniou, S. & Demetzos, C. “ Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology”, Journal of Liposome Research, 18, 309-327. (2008).
109. Mu, X.; Zhong, Z. Preparation and properties of poly(vinyl alcohol)-stabilized liposomes. Int. J. Pharm. 2006, 318, 55–61

110. Mukhtar, H., Ahmad, N., 2000. Tea polyphenols: prevention of cancer and optimizing health. American Journal of Clinical Nutrition 71 (6 Suppl), 1698S–1702S (discussion 1703S-1694S).
111. Mulholland, P.J.; Ferry, D.R.; Anderson, D.; Hussain, S.A.; Young, A.M.; Cook, J.E.; Hodgkin, E.; Seymour, L.W.; Kerr, D.J. Pre-clinical and clinical study of QC12, a water-soluble, pro-drug of quercetin. Ann. Oncol. 2001, 12, 245–248.
112. Murase T., Nagasava A., Suzuki J., Hase T Tokimitsu I. 2002, Beneficial effects of tea catechins on diet induced obesity: stimulation of lipid catabolism in liver. Int. J. Obes. Relat. Metabol. Disord., 26, 1459-1464.
113. N. Reum, C. Fink-Straube, T. Klein, R.W. Hartmann, C.-M. Lehr, M. Schneider. Multilayer coating of gold nanoparticles with drug-polymer coadsorbates. Langmuir 26, 16901–16908. (2010).
114. Nakatsuji, H.; Numata, T.; Morone, N.; Kaneko, S.; Mori, Y.; Imahori, H.; Murakami, T. Thermosensitive Ion Channel Activation in Single Neuronal Cells by Using Surface-Engineered Plasmonic Nanoparticles. Angew. Chem. Int. Ed. 54, 11725–11729, (2015).
115. Nakazato T, Ito K, Miyakawa Y, Kinjo K, et al. 2005. Catechin, a green tea component, rapidly induces apoptosis of myeloid leukemic cells via modulation of reactive oxygen species production in vitro and inhibits tumor growth in vivo. J Haematologica. 90(3):317-25
116. Nance, C.L., Shearer,W.T., 2003. Is green tea good for HIV-1 infection? Journal of Allergy and Clinical Immunology 112 (5), 851–853.,
117. Nathalie Mignet, Johanne Seguin and Guy G. Chabot. Bioavailability of Polyphenol Liposomes: A Challenge Ahead Pharmaceutics 2013, 5, 457-471
118. Negishi H., Xu J.W., Ikeda K., Njelekela M., Nara Y, Yamori Y. 2004. Black and green tea polyphenols attenuate blood presse increasesin stroke-prone spontaneously hypertensive rats. J. Nutr.134, 38042
119. Nijveldt, R.J.; van Nood, E.; van Hoorn, D.E.; Boelens, P.G.; van Norren, K.; van Leeuwen, P.A. Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. Am. J. Clin. Nutr. 2001, 74, 418–425.
120. Nishiumi, S.; Bessyo, H.; Kubo, M.; Aoki, Y.; Tanaka, A.; Yoshida, K.; Ashida, H. Green and black tea suppress hyperglycemia and insulin resistance by retaining the expression of glucose transporter 4 in muscle of high-fat diet-fed C57BL/6J mice. J. Agric. Food Chem. 2010, 58, 12916–12923

121. Nunes PX, Silva SF, Guedes RJ, Almeida S: Biological oxidations and antioxidant activity of natural products, Phytochemicals as nutraceuticals - Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health. 2012
122. Ohsawa T, Miura H, Harada K: Improvement of encapsulation efficiency of water-soluble drugs in liposomes formed by the freeze-thawing method. Chem Pharm Bull , 33(9):3945-3952. (1985).
123. Oja, C.D.; Semple, S.C.; Chonn, A.; Cullis, P.R. Influence of dose on liposome clearance: Critical role of blood proteins. Biochim. Biophys. Acta 1996, 1281, 31–37
124. Olust S.O. 2002,Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 26, 1159-1164
125. Oluyemi KA, Okwuonu UC, Baxter DG, Oyesola TO: Toxic effects of methanolic exract of Aspilia africana leaf on the estrous cycle and uterine tissues of Wistar rats. Int J Morphol. 2007, 25: 609-614
126. Oteiza, P.I.; Erlejman, A.G.; Verstraeten, S.V.; Keen, C.L.; Fraga, C.G. Flavonoid-membrane interactions: A protective role of flavonoids at the membrane surface? Clin. Dev. Immunol. 2005, 12, 19–25.43
127. Pan, T., Jankovic, J., Le, W., 2003. Potential therapeutic properties of green tea polyphenols in Parkinson's disease. Drugs Aging 20 (10), 711–721
128. Park, A.M., Dong, Z., 2003. Signal transduction pathways: targets for green andblack tea polyphenols. Journal of Biochemistry and Molecular Biology 36(1), 66–77
129. Peterson, J.; Lagiou, P.; Samoli, E.; Lagiou, A.; Katsouyanni, K.; La Vecchia, C.; Dwyer, J.; Trichopoulos, D. Flavonoid intake and breast cancer risk: A case-control study in Greece. Br. J. Cancer 2003, 89, 1255–1259.
130. Pick U: Liposomes with a large trapping capacity prepared by freezing and thawing of sonicated phospholipid mixtures. Arch Biochem Biophys , 212:186-194. (1981).
131. Pollard SE, Kuhnle GG, Vauzour D, Vafeiadou K, Tzounis X, Whiteman M, Rice-Evans C, Spencer JP. The reaction of flavonoid metabolites with peroxynitrite.Biochem Biophys Res Commun. 2006Dec 1;350(4):960-8
132. Potenza M.A., Marasciulo F.L., Tarquinio M., Tiravanti E., Colantuono G., Federici A., Kim J.A., Quon M.J., Montagnani M. EGCG, a green tea polyphenol, improves endothelial function and insulin sensitivity, reduces blood pressure, and protects against myocardial I/R injury in SHR. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2007;292:1378–1387.

133. Quan, D.Q.; Xu, G.X. Formulation optimization of self-emulsifying preparations of puerarin through self-emulsifying performances evaluation in vitro and pharmacokinetic studies in vivo. Yao Xue Xue Bao 2007, 42, 886–891
134. R. Yang, X. Zhang, F. Li, et al“.Role of phospholipids and copolymers in enhancing stability and controlling degradation of intravenous lipid emulsions“ Colloid Surf A Physicochem Eng Asp, 436 (0), pp. 434-442.(2013).
135. Raedestorff D.G., Schlachter M.F., Elste V., Weber P. 2003 Effect of EGCG on lipid absorption and plasma lipid levels in rats. J.Nutr. Biochem 14, 326-332.
136. Ragelle, H.; Crauste-Manciet, S.; Seguin, J.; Brossard, D.; Scherman, D.; Arnaud, P.; Chabot, G.G. Nanoemulsion formulation of fisetin improves bioavailability and antitumour activity in mice. Int. J. Pharm. 2012, 427, 452–459
137. Riaz M: Liposome preparation method. Pak J Pharm Sci , 9(1):65-77. (1996).
138. Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB. 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. Free Radic Res. 22: 375-383
139. Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J.; Paganga, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radic. Biol. Med. 1996, 20, 933–956.
140. Rimando, A.M.; Cuendet, M.; Desmarchelier, C.; Mehta, R.G.; Pezzuto, J.M.; Duke, S.O. Cancer chemopreventive and antioxidant activities of pterostilbene, a naturally occurring analogue of resveratrol. J. Agric. Food Chem. 2002, 50, 3453–3457].
141. Rudolf E, Andelová H, Cervinka M. Polyphenolic compounds in chemoprevention of colon cancer - targets and signaling pathways. Anticancer Agents Med Chem. 2007 Sep;7(5):559-75.
142. Sakurai M H, T Matsumoto, H Kiyohara, and H Yamada. B-cell proliferation activity of pectic polysaccharide from a medicinal herb, the roots of Bupleurum falcatum L. and its structural requirement. Immunology. 1999 Jul; 97(3): 540–547
143. Sano, J., Inami, S., Seimiya, K., Ohba, T., Sakai, S., Takano, T., Mizuno, K., 2004. Effects of green tea intake on the development of coronary artery disease. Circulation Journal 68 (7), 665–670
144. Scalbert, A.; Williamson, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. J. Nutr. 2000, 130, 2073S–2085S
145. Seemork, J.; Sansureerungsikul, T.; Sathornsantikun, K.; Sinthusake, T.; Shigyou, K.; Tree-Udom, T.; Jiangchareon, B.; Chiablaem, K.; Lirdprapamongkol, K.; Svasti, J.; et al. Penetration of Oxidized Carbon Nanospheres through Lipid Bilayer Membrane:

Comparison to Graphene Oxide and Oxidized Carbon Nanotubes, and Effects of pH and Membrane Composition. ACS Appl. Mater. Interf. 8, 23549–23557, (2016).

146. Seguin, J.; Brulle, L.; Boyer, R.; Lu, Y.M.; Ramos, R.M.; Touil, Y.S.; Scherman, D.; Bessodes, M.; Mignet, N.; Chabot, G.G. Liposomal encapsulation of the natural flavonoid fisetin improves bioavailability and antitumor efficacy. Int. J. Pharm. 2013, 444, 146–154
147. Semple, S.C.; Chonn, A.; Cullis, P.R. Influence of cholesterol on the association of plasma proteins with liposomes. Biochemistry 1996, 35, 2521–2525.
148. Shaheen SM, Shakil Ahmed FR, Hossen MN, Ahmed M, Amran MS, Ul-Islam MA: Liposome as a carrier for advanced drug delivery. Pak J Biol Sci , 9(6):1181-1191. (2006).
149. Shehata T, Ogawara K, Higaki K, Kimura T: Prolongation of residence time of liposome by surface-modification with mixture of hydrophilic polymers. Int J Pharm , 359:272-279. (2008).
150. Shishikura Y., Khokhar S., Murray B.S. Effects of tea polyphenols on emulsification of olive oil in a small intestine model system. J. Agric. Food Chem. 2006;54:1906–1913. doi: 10.1021/jf051988p.
151. Singh D, Chander V, Chopra K. 2005. Protective effect of catechin on ischemia-reperfusion-induced renal injury in rates. J Pharmacological Reports 57:70-76
152. Skrzydlewska E., Ostrovska J., Farbiszewski R., Michalak K. 2002. Protective effect of green tea against lipid peroxidation in the rat liver, blood serum and brain. Phytomedicine 9: 20.
153. Sorice, A.; Guerriero, E.; Capone, F.; Colonna, G.; Castello, G.; Costantini, S. Ascorbic acid: Its role in immune system and chronic inflammation diseases. Mini Rev. Med. Chem. 2014, 14, 444–452.
154. Spencer JP, Vauzour D, Rendeiro C. Flavonoids and cognition: the molecular mechanisms underlying their behavioural effects. Arch Biochem Biophys. 2009;492:1–9.
155. Spencer JP. Flavonoids and brain health: multiple effects underpinned by common mechanisms. Genes Nutr. 2009;4:243–250.
156. Spencer JP. The impact of flavonoids on memory: physiological and molecular considerations. Chem Soc Rev. 2009;38:1152–1161.
157. Stapleton, P.D., Shah, S., Anderson, J.C., Hara, Y., Hamilton-Miller, J.M.,Taylor, P.W., 2004. Modulation of beta-lactam resistance in Staphylococcus3aureus by catechins and gallates. International Journal of Antimicrobial Agents 23 (5), 462–467.

158. Suzuki, T.; Miyoshi, N.; Hayakawa, S.; Imai, S.; Isemura, M.; Nakamura, Y. Health benefits of tea consumption. In Beverage Impacts on Health and Nutrition, 2nd ed.; Wilson, T., Temple, N.J., Eds.; Human Press: Cham, Switzerland, 2016; pp. 49–67.
159. Suzuki, T.; Mochizuki, K.; Goda, T. Dietary supplementation with (□)-epigallocatechin-3-gallate reduces inflammatory response in adipose tissue of non-obese type 2 diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats. J. Agric. Food Chem. 2013, 61, 11410–1141761
160. Syvänne M[1], Taskinen MR. Lipids and lipoproteins as coronary risk factors in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Lancet. 1997 Jul;350 Suppl 1:SI20-3
161. Szoka F Jr, Papahadjopoulos D: Procedure for preparation of liposomes with large internal aqueous space and high capture by reverse-phase evaporation. Proc Natl Acad Sci USA , 75(9):4194-4198. (1978).
162. Tabernero M, Serrano J, Saura-Calixto F. Dietary fiber intake in two European diets with high (copenhagen, Denmark) and low (Murcia, Spain) colorectal cancer incidence. J Agric Food Chem. 2007 Nov 14;55(23):9443-9.
163. Takahashi, M.; Uechi, S.; Takara, K.; Asikin, Y.; Wada, K. Evaluation of an oral carrier system in rats: Bioavailability and antioxidant properties of liposome-encapsulated curcumin. J. Agric. Food Chem. 2009, 57, 9141–9146.62
164. Takano K, Nakaima K, Nitta M, et al. 2005. Inhibitory effect of (-)-epigallocatechin 3-gallate, a polyphenol of green tea, on neutrophil chemotaxis in vitro and in vivo. J New Phytol. 165(1):9-28
165. Takuji Suzuki 1, Monira Pervin 2, Shingo Goto 3,†, Mamoru Isemura 2,* and Yoriyuki Nakamura Beneficial Effects of Tea and the Green Tea Catechin Epigallocatechin-3-gallate on Obesity, Molecules 2016, 21, 130521, 1305
166. Talior I., Tennenbaum T., Kuroki T., Eldar-Finkelman H. 2005 PKC-delta-dependent activation of oxidative stress in adipocytes of obese and insulin-resistent mice: role for NADPH oxidase., Am. J., Physiol. Endocrinol., Metab., , 288, 405-411.
167. Teiten, M.H.; Eifes, S.; Dicato, M.; Diederich, M. Curcumin-the paradigm of a multi-target natural compound with applications in cancer prevention and treatment. Toxins 2010, 2, 128–162. 72
168. Teresawa K., Takeuchi S 1999,Effects of green tea tannin on cisplatin –induced nephropathy in LLC-PKq cells aand rats. J. Pharm. Pharmacol., 51, 1325-1331
169. Tian, B.; Sun, Z.; Xu, Z.; Hua, Y. Chemiluminescence analysis of the prooxidant and antioxidant effects of epigallocatechin-3-gallate. Asia Pac. J. Clin. Nutr. 2007, 16, 153–157.

170. Tonnesen, H.H.; Smistad, G.; Agren, T.; Karlsen, J. Studies on curcumin and curcuminoids. XXIII: Effects of curcumin on liposomal lipid peroxidation. Int. J. Pharm. 1993, 90, 221–228
171. Touil, Y.S.; Scherman, D.; Bessodes, M.; Mignet, N.; Chabot, G.G. Liposomal encapsulation of the natural flavonoid fisetin improves bioavailability and antitumor efficacy. Int. J. Pharm. 2013, 444, 146–154.24,25
172. Tsao, R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. Nutrients 2010]. D'Archivio, M.; Filesi, C.; Vari, R.; Scazzocchio, B.; Masella, R. Bioavailability of the polyphenols: Status and controversies. Int. J. Mol. Sci. 2010, 11, 1321–1342.
173. Uchiyama, Y.; Suzuki, T.; Mochizuki, K.; Goda, T. Dietary supplementation with (□)-epigallocatechin-3-gallate reduces inflammatory response in adipose tissue of non-obese type 2 diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats. J. Agric. Food Chem. 2013, 61, 11410–1141761
174. Uekusa, Y.; Takeshita, Y.; Ishii, T.; Nakayama, T. Partition coefficients of polyphenols for phosphatidylcholine investigated by HPLC with an immobilized artificial membrane column. Biosci. Biotechnol. Biochem. 2008, 72, 3289–32921
175. Unno, K., Takabayashi, F., Kishido, T., Oku, N., 2004. Suppressive effect of green tea catechins on morphologic and functional regression of the brain in aged mice with accelerated senescence (SAMP10). Experimental Gerontology 39 (7), 1027–1034
176. Unno, T.; Osada, C.; Motoo, Y.; Suzuki, Y.; Kobayashi, M.; Nozawa, A. Dietary tea catechins increase fecal energy in rats. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 2009, 55, 447–45144
177. US Department of Agriculture, 2007. Database for the Flavonoid Content of Selected Foods Release 2.1. Beltsville, Maryland, USA. Available online: http://www.ars.usda.gov/nutrientdata (accessed on 7 June 2013).
178. US Department of Agriculture, 2008. Database for the Isoflavone Content of Selected Foods—Release 2.0. Beltsville, Maryland, USA. Available online: http://www.ars.usda.gov/nutrientdata
179. van Tits LJ, de Waart F, Hak-Lemmers HL, van Heijst P, de Graaf J, Demacker PN, Stalenhoef AF. Effects of alpha-tocopherol on superoxide production and plasma intercellular adhesion molecule-1 and antibodies to oxidized LDL in chronic smokers. Free Radic Biol Med. 2001; 30(10): 1122-9
180. Vemuri S, Rhodes CT Preparation and characterization of liposomes as therapeutic delivery systems: a review. Pharm Acta Helv 70:95–111.(1995).
181. Vongtau HO, Abbah J, Chindo BA, Mosugu O, Salawu AO, Kwanashie HO, Gamaniel KS: Central inhibitory effects of the methanol extract of Neorautanenia mitis root in rats and mice. J Pharm Biol. 2005, 43: 113-120. 10.1080/13880200590919401.

182. Walkowiak, J.; Bajerska, J.; Kargulewicz, A.; Lisowska, A.; Siedlerski, G.; Szczapa, T.; Kobelska-Dubiel, N.; Grzymisławski, M. Single dose of green tea extract decreases lipid digestion and absorption from a test meal in humans. Acta Biochim. Pol. 2013, 60, 481–483
183. Walle, T. Methylation of dietary flavones greatly improves their hepatic metabolic stability and intestinal absorption. Mol. Pharm. 2007, 4, 826–832.
184. Wang LF, Zhang HY. 2005. A theoretical study of the different radical-scavenging activities of catechin quercetin, and a rationally designed planar catechin. J Bioorg. Chem. 33(2):108-15
185. Wang S., Sun Z., Dong S., Liu Y. Molecular interactions between (−)-epigallocatechin gallate analogs and pancreatic lipase. PLoS ONE. 2014;9:e111143. doi: 10.1371/journal.pone.0111143.
186. Wang, S.; Moustaid-Moussa, N.; Chen, L.; Mo, H.; Shastri, A.; Su, R.; Bapat, P.; Kwun, I.; Shen, C.L. Novel insights of dietary polyphenols and obesity. J. Nutr. Biochem. 2014, 25.
187. Wang, Y.; Cui, H.; Li, K.; Sun, C.; Du, W.; Cui, J.; Zhao, X.; Chen, W. A Magnetic Nanoparticle-Based Multiple-Gene Delivery System for Transfection of Porcine Kidney Cells. PLoS ONE 9, e102886, (2014).
188. Wannes WA, Mhamdi B, Sriti J, Jemia MB, Ouchikh O, Hamdaoui G, Kchouk ME, Marzouk B: Antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts from myrtle (Myrtus communis var. italica L.) leaf, stem and flower. Food Chem Toxicol. 2010, 48: 1362-1370].
189. Wu, L.Y., Juan, C.C., Hwang, L.S., Hsu, Y.P., Ho, P.H., Ho, L.T., 2004b. Green tea supplementation ameliorates insulin resistance and increases glucose transporter IV content in a fructose-fed rat model. European Journal of Nutrition 43 (2), 116–124. 2004b.
190. Yang, C.S., Maliakal, P., Meng, X., 2002. Inhibition of carcinogenesis by tea. Annual Reviews in Pharmacology and Toxicology 42, 25–54.
191. Yang, C.S.; Chen, G.; Wu, Q. Recent scientific studies of a traditional Chinese medicine, tea, on prevention of chronic diseases. J. Tradit. Complement. Med. 2014, 4, 17–23.
192. Yang, C.S.; Zhang, J.; Zhang, L.; Huang, J.; Wang, Y. Mechanisms of body weight reduction and metabolic syndrome alleviation by tea. Mol. Nutr. Food Res. 2016, 60, 160–174
193. Yokozawa T., Nakagava T., Lee K.I., Cho E.J., Teresawa K., Takeuchi S 1999,Effects of green tea tannin on cisplatin –induced nephropathy in LLC-PKq cells aand rats. J. Pharm. Pharmacol., 51, 1325-1331

194. Yuan, Z.P.; Chen, L.J.; Fan, L.Y.; Tang, M.H.; Yang, G.L.; Yang, H.S.; Du, X.B.; Wang, G.Q.; Yao, W.X.; Zhao, Q.M.; et al. Liposomal quercetin efficiently suppresses growth of solid tumors in murine models. Clin. Cancer Res. 2006, 12, 3193–3199. Seguin, J.; Brulle, L.; Boyer, R.; Lu, Y.M.; Ramos, R.M.;
195. Yuda, N.; Tanaka, M.; Suzuki, M.; Asano, Y.; Ochi, H.; Iwatsuki, K. Polyphenols extracted from black tea (Camellia sinensis) residue by hot-compressed water and their inhibitory effect on pancreatic lipase in vitro. J. Food Sci. 2012, 77, H254–H261
196. Yue Tang1,3, Naomi Abe2 , Hang Qi 3 , Beiwei Zhu3 , Yoshiyuki Murata2 and Yoshimasa Nakamura. Tea Catechins Inhibit Cell Proliferation Through Hydrogen PeroxideDependent and -Independent Pathways in Human T lymphocytic Leukemia Jurkat Cells. Food Science and Technology Research, 20 (6), 1245_ 1249, 2014
197. Zauner, W.; Farrow, N.; Haines, A. In vitro uptake of polystyrene microspheres: Effect of particle size, cell line and cell density. J. Control. Release, 71, 39–51, (2001).
198. Zhang, Z.X., Roman, G.C., 1993.Worldwide occurrence of Parkinson's disease: an updated review. Neuroepidemiology 12 (4), 195–208. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 2010 May;35(10):1328-31.
199. Zick Y. Role of Ser/Thr kinases in the uncoupling of insulin signaling. Int J Obes Relat Metab Disord. 2003 Dec;27 Suppl 3:S56-60
200. Дедова И.И., Мельниченко Г.А., 2004. Ожирение. Этиология, патогенез, клинические аспекты.МИА
201. Мкртумян А.М., Давыдов А.Л., Подачина С.В., Щукина В.Н. 2004. Влияние постпрандиальной гликемии на сердечно-сосудистую заболеваемость больных сахарным диабетом типа 2 и ее коррекция. Cons-Medicum т.06.№9.2004
202. Перова Н.В., Метельская В.А., Мамедов М.Н., Оганов Р.Г. 2001. Методы раннего выявления и коррекции метаболического синдрома. ПрЗаб.4(1)Ж18- 31
203. Чазова И.Е., Мычка В.Б. «Инсулинорезистентность и дислипидемия» Consilium-Medicum Том04.№1.2004; 291:2376-2378 300. West D.B., Boozer C.N., Moody D.L.,Atkison R.L. 1992, Dietary obesity in nine inbred mouse strains. Am. J. Physiol., 262, R1025-R1032