

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი
მედიცინის ფაკულტეტი

ნინო ჩიქოზავა

აზოტის ოქსიდის როლი ჰიპერჰომოცისტეინემიით
განპირობებული არტერიული ვაზომოტორული რეაქციების
დარღვევაში

(ექსპერიმენტული კვლევა თეთრ ვირთაგვებზე)

მედიცინის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად
წარმოდგენილი დისერტაციის

ავტორეფერატი

თბილისი, 2019

ნაშრომი შესრულებულია ი. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტსა და ი. ბერიტაშვილის სახ. ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრში

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

ნანა დორეული

ბიოლოგიურ მეცნიერებათა დოქტორი,
პროფესორი

ნოდარ მითაგვარია

ბიოლოგიურ მეცნიერებათა დოქტორი,
პროფესორი

შესავალი

წლების განმავლობაში გულის იშემიური დაავადების დიაგნოსტიკა ემყარებოდა ლიპიდური ცვლისა და ჰემოსტაზის მაჩვენებლების განსაზღვრას, მაგრამ ლიტერატურაში გაჩნდა მითითებები, რომ მიოკარდიუმში ათეროსკლეროზული და თრომბოზული პროცესების განვითარებას ხელს უწყობს “ახალი რისკ-ფაქტორი” - სისხლში ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მომატება - ჰიპერჰომოცისტეინემია, რომელიც მრავალ ფაქტორზე დამოკიდებულ პროცესს წარმოადგენს.

სისხლის შრატში ჰომოცისტეინის ნორმალურ დონედ 5-12 მკმოლ/ლ-ს მიიჩნევენ. მსუბუქი ჰიპერჰომოცისტეინემიის პირობებში ეს მაჩვენებელი იზრდება 15-30 მკმოლ/ლ-მდე, საშუალო ხარისხის ჰიპერჰომოცისტეინემიად ითვლება 31-100 მკმოლ/ლ, ხოლო მძიმე შემთხვევის სახით განიხილავენ 100 მკმოლ/ლ-ზე მაღალ დონეს.

ჰომოცისტეინის, როგორც სისხლძარღვთა დაავადების ერთ-ერთი რისკ-ფაქტორის, იდენტიფიკაცია 1964 წელს დაიწყო, როდესაც მუდიმ [Mudd, 1964] აჩვენა, რომ ჰომოცისტეინის აკუმულაცია სისხლში და შემდგომ შარდში, რასაც განაპირობებს ცისტატიონინ ბეტა-სინთაზა ფერმენტის დეფიციტი, იწვევს ჰომოცისტეინურიას. ამ აღმოჩენის შემდეგ, მაკკალიმ და ვილსონმა [McCully, Wilson, 1975] აღწერეს, რომ პაციენტებში აღნიშნული ფერმენტის დეფიციტის შედეგად ვითარდება არტერიული სისხლძარღვების დაზიანებანი, რის საფუძველზე მათ დაასკვნეს, რომ ჰომოცისტეინი თავისთავად ან მისი ერთ-ერთი დერივატი განაპირობებს არტერიულ დაზიანებას. ამან, თავის მხრივ, საფუძველი ჩაუყარა ჰიპოთეზას, რომლის მიხედვით ჰომოცისტეინის ზომიერი მატება სისხლში შესაძლოა გახდეს ათეროსკლეროზის განვითარების რისკ-ფაქტორი.

დღეს უკვე ექვგარეშა, რომ ჰომოცისტეინის მეტაბოლიზმის მნიშვნელოვანი თანდაყოლილი დარღვევა პაციენტებში სისხლძარღვთა დაზიანებას იწვევს, მაგრამ ამ დაზიანების განვითარების მექანიზმი დღემდე კარგად არ არის დადგენილი.

მნიშვნელოვანი კავშირი ჰიპერჰომოცისტეინემიასა და კლინიკურ კარდიოვასკულურ შემთხვევებს შორის მრავალ ფუნდამენტურ ნაშრომშია აღწერილი, თუმცა, გვხდება ისეთი სტატიებიც, სადაც ასეთი კავშირი უარყოფილია [Ganguly, Alam, 2015]. ამის მიუხედავად, ჰიპერჰომოცისტეინემია დღეს განიხილება, როგორც ათეროსკლეროზული ვასკულური დაავადების დამოუკიდებელი რისკ-ფაქტორი [Boers, 2000].

მექანიზმი, რომლის მეშვეობით ჰიპერჰომოცისტეინემია ხელს უწყობს ვასკულური დაზიანების განვითარებას, დღემდე უცნობია. ის, რაც დადგენილია შეიძლება მოკლედ შემდეგნაირად ჩამოყალიბდეს:

In vitro კვლევები აჩვენებს, რომ ტოტალური ჰომოცისტეინის გაზრდილი კონცენტრაცია მოქმედებს ენდოთელურ უჯრედებზე. მათი დაზიანება, თრომბოციტების აქტივაცია, თრომბომოდულინის ექსპრესიაზე საზიანო მოქმედება, ქსოვილოვანი ფაქტორის გააქტიურება, დაბალი სიმკვრივის მქონე ლიპიდურ ცილებში გაძლიერებული ოქსიდაციულობა – აი ის ნუსხა, რომელთაგან ნებისმიერი შეიძლება ჩაითვალოს შესაძლო მექანიზმად, რომლის მეშვეობით ჰომოცისტეინი ათეროსკლეროზს და თრომბოზს იწვევს [Fay, 2008].

ენდოთელური უჯრედების დისფუნქცია, როგორც წესი, თან სდევს მრავალი სახის კარდიოვასკულურ დაავადებას [Tousoulis et al., 2012]. დადგენილი იყო, რომ ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთაზას ფუნქციის დარღვევა ან/და აზოტის ოქსიდის მოწოდების შემცირება შეიძლება გახდეს მრავალი კლინიკური მანიფესტაციის მიზეზი ისეთ პაციენტებში, რომელთაც გააჩნიათ ენდოთელური დისფუნქცია [Schulman et al., 2006; Tousoulis et al., 2012]. ეს მოსაზრება მიუთითებს, რომ ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთაზა შესაძლოა ჰიპერჰომოცისტეინემიის გავლენას განიცდიდეს.

მართალია არაპირდაპირი გზით, მაგრამ დადასტურდა ჰომოცისტეინის ინჰიბიტორული ეფექტი ენდოთელური უჯრედებიდან აზოტის ოქსიდის

გამოთავისუფლებაზე. თუ გავითვალისწინებთ ლიტერატურაში არსებულ ხანგრძლივ დისკუსიას ჰომოციტინის შესაძლო როლის შესახებ ათეროსკლეროზის განვითარებაში [Tehlivets, 2011], მაშინ ზემოაღნიშნული ფაქტები მიუთითებს, რომ აზოტის ოქსიდის ბიორესურსის შემცირებამ და eNOS-ის აქტიობის დაქვეითებამ უნდა გამოიწვიოს ენდოთელური უჯრედების დისფუნქცია, რაც კარდიოვასკულური გართულებების განვითარების გაგებას მნიშვნელოვნად უწყობს ხელს.

აზოტის ოქსიდის სინთაზას (NOS) სამივე ძირითადი იზოფორმით (ენდოთელური - eNOS, ნეირონული - nNOS და ინდუციბელური - iNOS) წარმოებულ აზოტის ოქსიდს (NO) უაღრესად მნიშვნელოვანი როლი აკისრია გულ-სისხლძარღვთა ფუნქციობაში. ამასთან ერთად, ის ორგანიზმში სასარგებლო ეფექტებს ავლენს, აქვს რა ანტიბაქტერიული, ანტიპარაზიტული, ანტივირუსული, თუმოროციდული, ორგანიზმის მთელ რიგ ფუნქციათა მარეგულირებელი მოქმედება, მაგრამ, მეორე მხრივ, მისი მაღალი დონე, თუ ის არაკონტროლირებადია, შესაძლოა დამღუპველი იყოს [Yen et al., 2002].

გამომდინარე ზემოთქმულიდან, ჩვენ მიზანშეწონილად ჩავთვალეთ ჩამოგვეყალიბებინა საკუთარი კვლევის შემდეგი **მიზანი** და **ამოცანები**: თეთრ ვირთაგვებზე *in vitro* და *in vivo* კვლევებში აზოტის ოქსიდის როლის დადგენა ჰიპერჰომოციტინემიით განპირობებული არტერიული ვაზომოტორული რეაქციების დარღვევაში, კერძოდ:

- როგორ იცვლება საკონტროლო და ჰიპერჰომოციტინემიანი ცხოველების არტერიოლების ნორმალური და დეენდოთელიზებული სემენტების კონტრაქტილობა ნორადრენალინზე, აცეტილქოლინსა და ჰისტამინზე.
- როგორ იცვლება საკონტროლო და ჰიპერჰომოციტინემიანი ცხოველების არტერიოლების ნორმალური და დეენდოთელიზებული სემენტების კონტრაქტილობა ნორადრენალინზე, აცეტილქოლინსა და ჰისტამინზე აზოტის ოქსიდის სინთაზების არასელექციური ინჰიბიციის პირობებში.

ლიტერატურის მიმოხილვა

ჰომოცისტეინის, როგორც სისხლძარღვთა დაავადების ერთ-ერთი რისკ-ფაქტორის იდენტიფიკაცია დაიწყო 1964 წელს, როდესაც Mudd-იმ აჩვენა, რომ ჰომოცისტეინის აკუმულაცია სისხლში და შემდგომ შარდში, რასაც განაპირობებს ცისტატიონინ ბეტა-სინთაზა ფერმენტის დეფიციტი, იწვევს ჰომოცისტინურას [Mudd, 1964]. ამ აღმოჩენის შემდეგ, McCally-იმ [McCully, 1971] პაციენტებში აღნიშნული ფერმენტის დეფიციტის შედეგად განვითარებული არტერიული სისხლძარღვების დაზიანებანი აღწერა, რის საფუძველზე მან დაასკვნა, რომ ჰომოცისტეინი, თავისთავად ან მისი ერთ-ერთი დერივატი განაპირობებს არტერიულ დაზიანებას. ამან, თავის მხრივ, საფუძველი ჩაუყარა ჰიპოთეზას, რომლის მიხედვით ჰომოცისტეინის ზომიერი მატება სისხლში შესაძლოა გახდეს ათეროსკლეროზის განვითარების რისკ-ფაქტორი [McCully, Wilson, 1975].

მრავალ ფუნდამენტურ ნაშრომში აღწერილია მნიშვნელოვანი კავშირი ჰიპერჰომოცისტეინემიასა და კლინიკურ კარდიოვასკულურ შემთხვევებს შორის. თუმცა, გვხდება ისეთი სტატიებიც, სადაც ასეთი კავშირი უარყოფილია [Eikelboom et al., 1999]. ამის მიუხედავად, ჰიპერჰომოცისტეინემია განიხილება, როგორც ათეროსკლეროზული ვასკულური დაავადების დამოუკიდებელი რისკ-ფაქტორი [Boers, 2000].

რა არის ჰომოცისტეინი და რა უდევს საფუძვლად მასთან ასოცირებულ კარდიოვასკულურ დარღვევებს?

ჰომოცისტეინი არის გოგირდშემცველი ამინომჟავა, რომელიც არ გამოიყენება ცილის სინთეზში. საკვებში ჰომოცისტეინი მიკროელემენტების სახით არის წარმოდგენილი. იგი წარმოიქმნება შეუცვლელი ამინომჟავას მეთიონინის ცისტეინამდე მეტაბოლიზების დროს. მისი უჯრედშიდა კონცენტრაცია პრეციზიულად რეგულირდება, ხოლო ჭარბი რაოდენობა გადაიტანება პლაზმაში, სადაც თითქმის 99% დისულფიდამდე ოქსიდაციას განიცდის

ჰიპერჰომოცისტეინემია განისაზღვრება, როდესაც პლაზმაში ჰომოცისტეინის დონე 15 მკმოლ/ლ-ს აღემატება. მას მრავალგვარი ეტიოლოგია გააჩნია: გენეტიკური, თირკმელების უკმარისობა, გარკვეული წამლების მიღება ან საკვებში B₆ და B₁₂ ვიტამინების დეფიციტი და სხვ. [Selhub, 1999]. პლაზმაში ჰომოცისტეინის ზომიერი მატებაც კი 10-15 მკმოლ/ლ-ის ფარგლებში (ანუ ნორმასა და მაღალ დონეს შორის) ზრდის კარდიოვასკულურ დარღვევათა აღმოცენების რისკს [Eikelboom et al., 1999].

პირველი და უტყუარი მტკიცებულება იმისა, რომ ტოტალური ჰომოცისტეინის მომატებული კონცენტრაცია ათერთრომბული დაავადების კაუზალურ რისკ-ფაქტორს წარმოადგენს, მიღებული იყო პაციენტებისგან, რომლებსაც თანდაყოლილად დარღვეული ჰომოცისტეინის მეტაბოლიზმი გამოეკვეთათ.

2002 წელს ჩატარებულმა დიდი მასშტაბის რაოდენობრივმა გამოკვლევამ [Ford et al., 2002] აჩვენა, რომ ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მატებასთან ასოცირებული კორონარულ სისხლძარღვთა დაავადების რისკის მატება ყოველი ზედმეტი 5 მიკრომოლისთვის 20%-ს შეადგენს.

განსხვავებულ კონტინგენტზე (ჯანმრთელი პირები [Ridker et al., 1997], სისტემური წითელი მგლურათი დაავადებულები [Petri et al., 1996] და ვენური თრომბოზებით დასნეულებული პირები [Eichinger et al., 1998]) ჩატარებულმა სამმა სხვადასხვა კვლევამ დადებითი კორელაცია აჩვენა ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაციასა და ვენური თრომბოზების განვითარებას შორის. ითვლება, რომ ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის პირველადი თრომბოგენური ეფექტით შეიძლება აიხსნას მისი მაღალი რისკიანობა კორონარულ გულ-სისხლძარღვთა დაავადების მქონე პაციენტებისთვის. ვინაიდან ამ კონტინგენტს უკვე გააჩნია გარკვეული ხარისხის ათეროსკლეროზი, ტოტალური ჰომოცისტეინის კონცენტრაციით ინდუცირებული თრომბოზი შეიძლება კატასტროფული აღმოჩნდეს სისხლძარღვთა ოკლუზიის თვალთახედვით [de Bree et al., 2002].

McCally-იმ ჩამოაყალიბა ჰიპოთეზა, რომ ჰომოცისტეინემია თავისთავად არის არტერიული დაზიანებების ძირითადი მიზეზი (1969). მიუხედავად მრავალი *in vitro* და *in vivo* კვლევებისა, რომლებიც მიემდგვნა ამ ჰიპოთეზას, მექანიზმი, რომლის მეშვეობით ჰიპერჰომოცისტეინემია ხელს უწყობს ვასკულური დაზიანების განვითარებას, დღემდე უცნობია.

ენდოთელური უჯრედების დისფუნქცია, როგორც წესი, თან სდევს მრავალი სახის კარდიოვასკულურ დაავადებას. დადგენილი იყო, რომ ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთაზას ფუნქციის დარღვევა ან/და აზოტის ოქსიდის მოწოდების შემცირება შეიძლება გახდეს მრავალი კლინიკური მანიფესტაციის მიზეზი პაციენტებში, რომელთაც გააჩნიათ ენდოთელური დისფუნქცია [De Caterina et al., 1995; Dubey et al., 1995]. ეს მოსაზრება მიუთითებს, რომ ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთაზა შესაძლოა ჰიპერჰომოცისტეინემიის გავლენას განიცდიდეს.

მიკროსისხლძარღვოვანი ენდოთელური უჯრედების კულტურიდან გამოთავისუფლებული აზოტის ოქსიდის პირდაპირი გაზომვა NO-სელექციური ელექტროდული სისტემით აჩვენებს, რომ 50 მ/მოლ ჰომოცისტეინს შეუძლია მნიშვნელოვნად დათრგუნოს აზოტის ოქსიდის გამოყოფა მიუხედავად იმისა, თუ რა გზით ხდებოდა ამ პროცესის (გამოთავისუფლების) სტიმულაცია [Zhang et al., 1993]. ამასთან გაირკვა, რომ სულფჰიდრული ჯგუფის ოქსიდაცია eNOS-ში იწვევს ამ ფერმენტის NO-გენერაციული აქტიობის დაქვეითებას. არაპირდაპირი გაზომვებით დადგინდა ისიც, რომ აღნიშნული დაქვეითება გამოწვეულია არა პროდუქციის დათრგუნვით, არამედ შესაბამისი ბიორესურსის შემცირებით. ანუ, მართალია არაპირდაპირი გზით, მაგრამ დადასტურდა ჰომოცისტეინის ინჰიბიტორული ეფექტი ენდოთელური უჯრედებიდან L-არგინინით სტიმულირებულ აზოტის ოქსიდის გამოთავისუფლებაზე. თუ გავითვალისწინებთ ლიტერატურაში არსებულ ხანგრძლივ დისკუსიას ჰომოცისტეინის შესაძლო როლის შესახებ ათეროსკლეროზის განვითარებაში [McCully, Wilson, 1975], მაშინ ზემოაღნიშნული ფაქტები მიუთითებს, რომ აზოტის

ოქსიდის ბიორესურსის შემცირებამ და eNOS-ის აქტიობის დაქვეითებამ უნდა გამოიწვიოს ენდოთელური უჯრედების დისფუნქცია, რაც მნიშვნელოვნად უწყობს ხელს კარდიოვასკულური გართულებების განვითარების გაგებას.

რა თქმა უნდა, ჰიპერჰომოცისტეინემიით გამოწვეული ენდოთელური უჯრედების დისფუნქცია დეტალურ კვლევას და ანალიზს საჭიროებს.

კვლევის მასალა და მეთოდები

ზომიერი ჰიპერჰომოცისტეინემიის ინდუცირებას ვახდენდით მამრ ვირთაგვებში (მასით 120-160 გ, n=12) L-მეთიონინის (დღეში 1გ/კგ-ზე) სასმელ წყალში დამატებით 4 კვირის განმავლობაში. ყოველი ცხოველის მიერ დღეში მიღებული სითხის მოცულობა ისაზღვრებოდა ნორმაში წყლის საშუალოდ მოხმარებული მოცულობით. საკონტროლო ცხოველები (n=12) ჩვეულებრივ წყალს შეუზღუდავად იღებდნენ. ოთხკვირიანი პერიოდის დაწყებისას და დასასრულს ისაზღვრებოდა ცხოველის მასა. ბარდაყის არტერიიდან ვიღებდით სისხლის სინჯს, რომელიც 20 წუთის განმავლობაში ცენტრიფუგირდებოდა 3000 გ-ზე 4°C ტემპერატურაზე. გამოყოფილი შრავი ანალიზის ჩატარებამდე ინახებოდა -20°C ტემპერატურაზე. ჰომოცისტეინის ტოტალური შემცველობა განისაზღვრებოდა ქრომატოგრაფიული მეთოდის გამოყენებით ფლორიმეტრული განსაზღვრით.

სისხლძარღვთა გლუვი კუნთების ფუნქციის ანალიზის ერთ-ერთ ყველაზე ობიექტურ მეთოდად მიჩნეულია სისხლძარღვთა იზოლირებული პრეპარატების კუმშვადობის პარამეტრების გაზომვა მექანოტრონული გარდამქმნელების მეშვეობით (Берлин и др., 1976). მეთოდი იძლევა საშუალებას გავზომოთ სისხლძარღვთა ტონუსის მომატების ან დაქვეითების ხარისხი მასზე სხვადასხვა სახის ზემოქმედების პირობებში.

ცდები ჩატარდა ვირთაგვას ნაზი (გრაცილის) კუნთის იზოლირებული პირველი რიგის არტერიოლებზე (დიამეტრით 130-180 მკმ). L-მეთიონინის მიღების დაწყებიდან მე-4 კვირის დასასრულს ნატრიუმის პენტობარბიტალის (50 მგ/კგ) ანესთეზიის ქვეშ

ვითაც ვუზომავდით სისტემურ არტერიულ წნევას და ჰომოციტინის შემცველობის გასაზომად ვიღებდით სისხლის სინჯს. შემდეგ ვახდენდით ნაზი კუნთის იზოლირებას გარემომცველი ქსოვილებისგან. აღნიშნული კუნთი ამოიკვეთებოდა და თავსდებოდა 0-40°C ტემპერატურის მქონე რინგერ-ჰელიტის ხსნარში. ბინოკულური მიკროსკოპის ქვეშ კუნთიდან გამოვყოფდით 1.5-2 მმ სიგრძის პირველი რიგის კუნთშიდა არტერიოლის სეგმენტს, რომელიც სპეციალური დამხმარე ინსტრუმენტის მეშვეობით (Климин, 1989) რინგერ-ჰელიტის ხსნარგამდინარე კამერის პატარა აბაზანაში თავსდებოდა, სადაც პრეპარატს აჯენენ ლითონის ორ პატარა კავზე (სურ. 2.1). ერთი კავი ხისტად იყო მიმაგრებული მექანოტრონის შტოკზე. პრეპარატი იჭიმებოდა, თანაც მუდმივი დაჭიმვის სიდიდე შერჩეული იყო არტერიის გლუვი კუნთების კუმშვადობის ტესტირების შედეგების მიხედვით. ტესტირება ჩატარდა სტანდარტული ხსნარებით, რომლებიც შეიცავს კალიუმს 80 მოლ-ის კონცენტრაციით და საშუალოდ შეადგენს 5.1 მნ-ს. გაზომვების დაწყებამდე წონასწორული მდგომარეობის მიღწევის მიზნით, პრეპარატი რინგერის ხსნარში 37°C ტემპერატურაზე 1.5 საათის განმავლობაში იმყოფებოდა.

სისხლძარღვოვანი პრეპარატების გლუვი კუნთების მექანიკური აქტიობის რეგისტრაცია

იზოლირებული სისხლძარღვების კონტრაქტილური აქტიობის რეგისტრაცია შესაძლოა ტენზომეტრულ დანადგარზე იზომეტრულ რეჟიმში 6 MX1C ტიპის მექანოტრონებით!

მექანოტრონებიდან მიღებული ელექტრული სიგნალი გადაეცემა გამამლიერებლებს, რომელთათვის შეიძლება გამოვიყენოთ სურ. 2.3-ზე მოტანილი ხიდური სქემის ანალოგი. მექანოტრონების კალიბრება ტარდება მილინიუტონებში, ამისთვის ჰორიზონტალური შტოკი იტვირთება სტანდარტული, მცირე წონის საწონებით და სარეგისტრაციო ქაღალდის დიაგრამაზე რეგისტრატორის კალმით აღირიცხება გადახრა საწყისი დონიდან.

ხსნარების მომზადება, pH-სა და ტემპერატურის კონტროლი

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

NaCl – 118.0; KCl – 4.7; NaHCO₃ – 14.9; KH₂PO₄ – 1.18; MgSO₄·7H₂O – 1.17; CaCl₂·2H₂O – 2.5;
გლუკოზა – 11.0

ცდები ტარდებოდა ხსნარის pH-ს კონტროლის ქვეშ. ხსნარის ტემპერატურის მუდმივობა ცდის განმავლობაში ხორციელდება 37±0.5°C დონეზე ულტრათერმოსატატის მეშვეობით.

ექსპერიმენტების პროტოკოლი

კონსტრიქტორული რეაქციები შეისწავლებოდა არტერიოლების ნორმალურ და დეენდოთელიზებულ სეგმენტებზე. საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების არტერიოლების კონსტრიქტორულ რეაქციას გამოწმებით სეგმენტების დეენდოთელიზაციამდე და მის შემდეგ.

ექსპერიმენტების მომდევნო სერიაში არტერიოლების პიკური რეაქცია შეისწავლებოდა აცეტილქოლინისა (10^{-10} - 10^{-5} მოლ/ლ) და ნატრიუმის ნიტროპრუსიდის (10^{-10} - 10^{-5} მოლ/ლ) კუმულაციურ დოზაზე სეგმენტების გარემომცველ ხსნარში. ამის შემდეგ 30 წუთის განმავლობაში სეგმენტები ინკუბირდებოდა L-NAME-ს (10^{-4} მოლ/ლ) ხსნარით, (აზოტის ოქსიდის სინთაზას არასელექციური ინჰიბიტორი) და კვლავ ვზომავდით სეგმენტის რეაქციას აცეტილქოლინისა და ნატრიუმის ნიტროპრუსიდის ხსენებული დოზებით შეყვანაზე.

ანალოგიური თანმიმდევრობით ჩატარდა ექსპერიმენტების სერია ჰისტამინზე (10^{-4} მოლ/ლ) რეაქციის შესწავლის მიზნით L-NAME-ს შეყვანამდე და მის შემდეგ. გაზომვები წარმოებდა ენდოთელიუმ ინტაქტურ და დეენდოთელიზებულ სეგმენტებზე.

ყველა ზემოჩამოთვლილი ნივთიერება შეგვყავდა ხსნარგამდინარე კამერაში, სადაც მოთავსებული იყო შესასწავლი არტერიოლის სეგმენტი. აღრიცხული რეაქციის შემდეგ სისტემაში შეგვყავდა რინგერ-ჰეილიტის სუფთა ხსნარი.

მიღებული მონაცემების სტატისტიკური ანალიზი

მიღებული მონაცემები აისახებოდა მათი საშუალო სიდიდეებით და სტანდარტული შეცდომით. სტატისტიკური ანალიზი ტარდებოდა ANOVA-ს პაკეტის გამოყენებით, სხვაობათა სტატისტიკური სარწმუნობა მოწმდებოდა სტიუდენტის t-კრიტერიუმით. $P < 0.05$ განიხილებოდა სტატისტიკურად სარწმუნოდ.

მიღებული შედეგები

მეთიონინის დიეტამ ცხოველებში ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მნიშვნელოვანი (3-ჯერადი) მატება გამოიწვია. ხოლო სისტემური არტერიული წნევის და ცხოველთა მასის სიდიდეებში სხვაობა საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფებს შორის პრაქტიკულად არ აღირიცხა.

არტერიოლების რეაქცია ნორადრენალინზე

ცდების შედეგად გამოვლინდა, რომ ნორადრენალინი (10^{-9} – 10^{-5} მოლ/ლ) იწვევს დოზა-დამოკიდებულ რეაქციას როგორც საკონტროლო, ისე ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების არტერიოლებში, მაგრამ ამ უკანასკნელებში რეაქცია მნიშვნელოვნად უფრო მეტადაა გამოხატული. ენდოთელიუმის ჩამოცილებამ საგრძნობლად გაზარდა საკონტროლო ცხოველებიდან იზოლირებული არტერიოლების რეაქცია ნორადრენალინზე, მაშინ როდესაც ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების არტერიოლების დეენდოთელიზაციამ რაიმე მნიშვნელოვანი გავლენა არ იქონია ნორადრენალინით გამოწვეულ რეაქციაზე.

არტერიოლების რეაქცია აცეტილქოლინზე

აცეტილქოლინმა (10^{-9} – 10^{-6} მოლ/ლ) გამოიწვია არტერიოლის დოზა-დამოკიდებული დილატაცია, რომელიც მნიშვნელოვნად უფრო მეტად იყო გამოხატული საკონტროლო ცხოველების სისხლძარღვში, ვიდრე ჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველთა არტერიოლაში. რინგერ-ჰელიტის ხსნარით სისხლძარღვის 30-წუთიანი გამორეცხვის შემდეგ აზოტის ოქსიდის სინთაზას არასელექციური ინჰიბიტორის L-NAME-ს (10^{-4} მოლ/ლ) შეყვანის ფონზე იგივე ტესტის ჩატარებამ საკონტროლო ცხოველის არტერიოლის დილატაციის ხარისხის მნიშვნელოვანი შემცირება გამოიწვია, მაგრამ ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების არტერიოლებში აცეტილქოლინური დილატაცია თითქმის უცვლელი დარჩა.

არტერიოლების რეაქცია ნატრიუმის ნიტროპრუსიდზე

ნატრიუმის ნიტროპრუსიდმაც გამოიწვია როგორც საკონტროლო, ისე ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების არტერიოლების ურთიერთმსგავსი დოზა-დამოკიდებული დილატაცია. აზოტის ოქსიდის სინთაზას ინჰიბიტორმა პრაქტიკულად არ შეცვალა არტერიოლების დილატაციის არც ხარისხი და არც ხასიათი როგორც საკონტროლო, ისე ჰიპერჰომოცისტეინემიის მქონე ცხოველების შემთხვევაში.

არტერიოლების რეაქცია ჰისტამინზე

ჰისტამინმა (10^{-6} – 10^{-4} მოლ/ლ) გამოიწვია საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების არტერიოლების დოზა-დამოკიდებული დილატაცია. საკონტროლო ცხოველების არტერიოლების დილატაციის ხარისხი მნიშვნელოვნად მეტი იყო, ვიდრე ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველთა არტერიოლების შემთხვევაში.

სისხლძარღვთა პრეპარატების გამორეცხვის შემდეგ აზოტის ოქსიდის სინთაზას არასელექციური ინჰიბიტორის ფონზე კვლავ ჩატარებულმა ჰისტამინის ტესტმა

გამოავლინა საკონტროლო ცხოველების არტერიოლების დილატაციის ხარისხის მნიშვნელოვანი დაქვეითება ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველთა არტერიოლებთან შედარებით.

დეენდოთელიზებული არტერიოლების შემთხვევაში მათი დილატაციური რეაქცია ჰისტამინზე საკონტროლო ჯგუფის ცხოველების შემთხვევაში საგრძნობლად შემცირებული იყო, ხოლო ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველთა შემთხვევაში რეაქცია თითქმის უცვლელი დარჩა.

მიღებული შედეგების განხილვა

ექსპერიმენტული კვლევის ძირითადი შედეგი (მათი ანალიზის გარეშე) შეიძლება შევაჯამოთ ისე, რომ ჰომოცისტეინის მატება სისხლის პლაზმაში (ინდუცირებული სასმელ წყალში გაზრდილი მეთიონინის შემცველობით) კუნთის არტერიოლებში ასოცირებს ნორადრენალინით გამოწვეულ სისხლძარღვთა კონსტრიქციასთან და შემცირებულ ენდოთელიუმ-დამოკიდებულ დილატაციასთან. რა უნდა იყოს ამ რეაქციის გამომწვევი მექანიზმი და რას უნდა უკავშირდებოდეს მისი ფორმირება?

პლაზმაში ჰომოცისტეინის მატება წარმოადგენს ათეროთრომბული დაავადების დამოუკიდებელ რისკ-ფაქტორს. არსებობს რამდენიმე მოსაზრება იმის შესახებ, თუ როგორ შეიძლება, რომ ჰომოცისტეინის გაზრდილმა კონცენტრაციამ სისხლის პლაზმაში გულ-სისხლძარღვთა სისტემაში ათეროთრომბული დაავადებანი გამოიწვიოს. კერძოდ ითვლება, რომ ჰიპერჰომოცისტეინემიის დამაზიანებელი გავლენა შეიძლება გამოიხატოს სისხლძარღვთა კედლის მორფოლოგიის ცვლილებაში, თრომბოციტების გაზრდილ აქტიობასა [Durand et al., 1996, 1997] დ გლუვკუნთოვანი უჯრედების პროლიფერაციის სტიმულაციაში. არსებული გამოკვლევების თანახმად, ერთ-ერთი მიზეზი, რის გამოც ხდება აღნიშნული ცვლილებები არის ის, რომ მაღალი კონცენტრაციის ჰომოცისტეინი იწვევს ვასკულური ენდოთელიუმის ფუნქციის მოშლას, თუმცა, ჰომოცისტეინის გაზრდილი კონცენტრაციის გავლენა ზოგადად მიკროსისხლძარღვთა ფუნქციაზე დადგენილი არ არის.

ჩვენ მიერ ჩატარებულ კვლევაში ცხოველთა სასმელ წყალში დამატებული იყო მეთიონინი (ჰომოცისტეინის პრეკურსორი). ამის შედეგად, პლაზმაში ჰომოცისტეინის კონცენტრაცია თითქმის სამჯერ გაიზარდა და მიაღწია იმ დონეს, რომელიც ადამიანებში დაკავშირებულია სისხლძარღვთა დაავადების მაღალ რისკთან.

ზოგადად, პლაზმაში მეთიონინის (ან სხვა რომელიმე ამინომჟავას) კონცენტრაციის მატება არ ასოცირებს სისხლძარღვებზე საზიანო გავლენასთან, მაგრამ არის საკმარისად ბევრი მტკიცებულება, რომ ჰომოცისტეინის გაზრდილი კონცენტრაცია არის სისხლძარღვთა ენდოთელიუმის დაზიანების მნიშვნელოვანი მიზეზი.

ვინაიდან ჩონჩხის კუნთის სისხლის მიმოქცევა პერიფერიული სისხლის მიმოქცევაში ჰემოდინამიკური წინააღმდეგობის ძირითად შემადგენელს წარმოადგენს, მისი მოშლა ჰიპერჰომოცისტეინემიის დროს შესაძლოა განვიხილოთ, როგორც მნიშვნელოვანი კომპონენტი პერიფერიული ვასკულური დაავადების განვითარებაში. სწორედ ამ მიზნით შევისწავლეთ ენდოთელიუმის ვაზორეგულატორული ფუნქციის ცვლილებანი ნორმალურ და მეთიონინის დიეტით ინდუცირებული ჰიპერჰომოცისტეინემიის მქონე ცხოველთა სისხლძარღვებში.

პირველ რიგში, ერთმანეთს შევადარეთ საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველების იზოლირებული არტერიოლების კონტრაქტილური რეაქციები ნორადრენალინზე და დავადგინეთ, რომ ჰიპერჰომოცისტეინემიამ გამოიწვია ნორადრენალინით ინდუცირებული ვაზოკონსტრიქციის გაძლიერება.

ადრე ნაჩვენები იყო, რომ ჩონჩხის კუნთების არტერიოლებში ნორადრენალინის შეყვანასთან სდევს ენდოთელიუმიდან აზოტის ოქსიდის გამოთავისუფლება, რომელიც მოდულირებას უწევს ნორადრენალინით ინდუცირებული კონსტრიქციის ხარისხს. ჩვენი ვარაუდით, ნორადრენალინზე სისხლძარღვის გაზრდილი რეაქტიულობის მიზეზი ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველებში უნდა ყოფილიყო ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთეზის დარღვევა. მართლაც, საკონტროლო ცხოველების არტერიოლებში დეენდოთელიოზაციამ ნორადრენალინზე რეაქციის მატება

გამოიწვია, მაშინ როდესაც ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველებში იგივე არტერიოლების რეაქცია ნორადრენალინზე უცვლელი იყო, რაც ადასტურებს ჩვენს ვარაუდს. აღნიშნულის შემდგომი გადამოწმების მიზნით, გამოვიყენეთ აცეტილქოლინისა და ჰისტამინზე არტერიოლების რეაქციის ტესტები. აღნიშნული აგენტები, როგორც ცნობილია, ინდუცირებს აზოტის ოქსიდის გენერაციას. როგორც ვნახეთ, როგორც აცეტილქოლინით, ისე ჰისტამინით გამოწვეული საკონტროლო ჯგუფის ცხოველთა ჩონჩხის კუნთის სისხლძარღვთა ვაზოდილატაცია შემცირებული იყო ჰიპერჰომოცისტეინემიის ჯგუფის ცხოველებისგან აღებულ არტერიოლების რეაქციასთან შედარებით. უფრო მეტიც, აზოტის ოქსიდის პროდუცირების ინჰიბიციამ ნიტრო-L-არგინინ მეთილის ეთერით (L-NAME) შეამცირა იზოლირებული არტერიოლის აცეტილქოლინითა და ჰისტამინით გამოწვეული დილატაცია მხოლოდ საკონტროლო ცხოველებში, მაშინ როდესაც ჰიპერჰომოცისტეინემიის მქონე ცხოველებში L-NAME-ს შეყვანამ არ მოგვცა რაიმე ხელმოსაკიდი ეფექტი. ამასთან დამატებით, დეენდოთელიზაციამ მოსპო ჰისტამინით გამოწვეული ვაზორელაქსაციის სხვაობა საკონტროლო და ჰიპერჰომოცისტეინემიის მქონე ცხოველთა არტერიოლებს შორის.

როგორც გაირკვა, ჰიპერჰომოცისტეინემიის პირობებში აზოტის ოქსიდის მიმართ სისხლძარღვთა გლუვი კუნთების მგძნობელობა არ შეცვლილა, რადგან არტერიოლის რეაქცია აზოტის ოქსიდზე მისი დონორის ნატრიუმის ნიტროპრუსიდის შეყვანაზე არ შეცვლილა. ეს შედეგი მოწმობს იმაზე, რომ ჰიპერჰომოცისტეინემიის დროს ადგილი აქვს მხოლოდ ენდოთელური აზოტის ოქსიდის ბიორესურსის მოშლას.

ადრე ნაჩვენები იყო, რომ ენდოთელიუმ-დამოკიდებული გლუვი კუნთების მარელაქსირებელი ფაქტორის (ანუ იგივე აზოტის ოქსიდის) გამოთავისუფლების პროცესი ირღვევა ჰიპერჰომოცისტეინემიის დროს [Celemajer et al., 1993; Taniwaki et al., 1998], ჩვენი შედეგები ეთანხმება ამ მონაცემებს და განავრცობს მათ არტერიოლების დონეზე.

აზოტის ოქსიდის სინთეზის მოშლა იწვევს ენდოთელიუმ-დამოკიდებული დილატატორების მოქმედების ცვლილებას იმ მცირე კალიბრის გვირგვინოვან არტერიებსა და არტერიოლებზე, რომლებიც არ განიცდის ათეროსკლეროზულ დარღვევებს [Kuo et al., 1972].

ზემოთქმულის შეჯამება საშუალებას გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ მიკროსისხლძარღვთა ენდოთელური დისფუნქცია არის ერთ-ერთი ადრეული კომპონენტი იმ კომპლექსური მოვლენებისა, რომელთაც ადგილი აქვთ სისხლძარღვთა დაავადებათა განვითარების პროცესში.

ვინაიდან აზოტის ოქსიდს, გარდა ვაზოდილატატორული ფუნქციისა, მნიშვნელოვანი როლი ეკისრება ანტიკოაგულაციური და ანტითრომბოზული რეაქციების განხორციელებაში, ენდოთელური დისფუნქცია უნდა განვიხილოთ, როგორც მნიშვნელოვანი დამაკავშირებელი რგოლი ჰიპერჰომოცისტემიასა და ათეროთრომბულ დაავადებებს შორის.

საჭიროა იმის გათვალისწინებაც, რომ ჰიპერჰომოცისტემიის პირობებში აზოტის ოქსიდის დეფიციტი შესაძლოა გახდეს გლუვი კუნთების პროლიფერაციის მიზეზიც, ხოლო ენდოთელური დისფუნქცია კი, თავის მხრივ, ხელს უწყობს ლეიკოციტებისა და თრომბოციტების ადგეზიას სისხლძარღვთა კედლებზე.

ჰიპერჰომოცისტემიით გამოწვეული ენდოთელური დაზიანების მექანიზმები უდავოდ საჭიროებს შემდგომ კვლევას, მაგრამ ჩვენ მიერ მოპოვებული ექსპერიმენტული მასალა საშუალებას იძლევა დავასკვნათ, რომ მიკროსისხლძარღვები განიცდის ჰიპერჰომოცისტემიის მნიშვნელოვან გავლენას (რაც, შესაბამისად, აისახება ქსოვილის სისხლით მომარაგებაზე).

ამრიგად, დიეტით განპირობებული ჰომოცისტემიის კონცენტრაციის მატება, რაც მიღებულია ჩვენს ცდებში, ასოცირებს ნორადრენალინით გამოწვეული კონსტრიქციის გაძლიერებასა და აცეტილქოლინით გამოწვეული დილატაციის შემცირებასთან. ეს

ცვლილებები, სავარაუდოდ, უნდა უკავშირდებოდეს აზოტის ოქსიდით განპირობებული არტერიული ვაზომოტორული რეაქციების მოშლას და წარმოადგენს მნიშვნელოვან ადრეულ ეტაპს ჰიპერჰომოცისტეინემიასთან დაკავშირებული ვასკულური დაავადებების განვითარებაში.

რა სახის ინტერპრეტაცია შეიძლება მიეცეს ლიტერატურის მონაცემებს, რომლებიც მოწმობს, რომ სტენოკარდიის და მიოკარდიუმის მწვავე ინფარქტის დროს მძიმე ავადმყოფებში, თრომბოზული პროცესების გაძლიერების ფონზე, ჰიპერჰომოცისტეინემიასთან შედარებით, ჰომოცისტეინის ნორმის ფარგლებში არსებობისას უფრო ძლიერ არის გამოხატული გულის დისფუნქცია და კორონაროსტენოზი, რაც მდგომარეობის დამძიმების და გართულების მნიშვნელოვანი რისკ-ფაქტორებია.

იშემიური პრეკონდიცირების კარდიოპროტექტორული ეფექტი უკვე კარგად ცნობილი ფენომენია და ამჟამად მიმდინარეობს მისი შესაძლო მექანიზმების ინტენსიური შესწავლა. ამ ფენომენის ძირითადი არსი გამოიხატება იმაში, რომ ორგანიზმი, რომელმაც განიცადა წინასწარი იშემიური “შემზადება” (პრეკონდიცირება), შემდგომში მძიმე იშემიურ შეტევას იტანს ბევრად უფრო იოლი ფორმით იმ ორგანიზმთან შედარებით, რომელსაც ასეთი წინასწარი პრეკონდიცირება არ გაუვლია [Bernaudin et al., 2002].

უკანასკნელ პერიოდში მიღებული მონაცემები მოწმობს, რომ მიოკარდიუმის პრეკონდიცირება მძიმე შეტევის წინააღმდეგ ყალიბდება აზოტის ოქსიდის გენერაციის მეშვეობით წინა იშემიური შეტევების დროს. ამ პრეკონდიცირების უჯრედული მექანიზმი უცნობია [Samoilov, Mokrushin, 2003; Semenza, 2004] და მისი შესწავლა თანამედროვე კარდიოლოგიის ერთ-ერთ ყველაზე აქტუალურ ამოცანას წარმოადგენს.

ითვლება, რომ მიოკარდიუმის პრეკონდიცირების ძირითადი განმაპირობებელი ფაქტორია იშემიით ინდუცირებული NOS-ის გენის ექსპრესია, რასაც მოსდევს აზოტის ოქსიდის გაზრდილი ფორმირება. გასაგებია, რომ აქ საუბარია ინდუციბელური აზოტის ოქსიდის სინთაზას იზოფორმის აქტივაციაზე, რომლის შედეგად გამოყოფილ აზოტის

ოქსიდს შეუძლია იქონიოს როგორც შემამსუბუქებელი, ისე უაღრესად დამამძიმებელი ეფექტი. ამდენად, პრეკონდიცირების ფენომენის აქ მოტანილი უჯრედული მექანიზმი საჭიროებს შემდგომ კვლევას და დაზუსტებას, მაგრამ ჩვენ საჭიროდ ჩავთვალეთ მისი განხილვა, რადგან ლიტერატურაში სხვა მექანიზმი ჯერ შემოთავაზებული არ არის.

ძირითადი, რაც უნდა გავითვალისწინოთ პრეკონდიცირების ფენომენის არსებობიდან, არის ის, რომ წინასწარ გადატანილი იშემია ჯერ კიდევ გაურკვეველი გზით ამსუბუქებს მომდევნო შესაძლო მძიმე იშემიურ შეტევას. თუ გავითვალისწინებთ, *რომ ჰიპერჰომოცისტეინემიის პირობებში განვითარებული ათეროსკლეროზის გამო ორგანიზმი გარკვეულწილად იმყოფება იშემიურ მდგომარეობაში*, შესაძლოა, რომ მძიმე იშემიური შეტევის დროს იგი უფრო ადაპტირებული შეხვდება სიტუაციას (მიოკარდიუმი მოიხმარს ნაკლებ ჟანგბადს), ვიდრე იგივე პირობებში ჩაყენებული ჯანმრთელი (“არაშემზადებული”) ორგანიზმი.

დასკვნები

ჩვენ მიერ ჩატარებულ ექსპერიმენტებში მიღებული შედეგების და ლიტერატურაში არსებული მონაცემების ანალიზი გვადლევს საშუალებას გაკეთდეს შემდეგი დასკვნები:

1. გულის იშემიური დაავადების დროს ჰომოცისტეინის მატება გაძლიერებული ათეროგენეზისა და პოსტინფარქტულ პერიოდში განმეორებითი სტენოკარდიული შეტევების უფრო მნიშვნელოვანი მიმანიშნებელია, ვიდრე ლიპიდური ცვლის და ჰემოსტაზის მაჩვენებელთა მატება.
2. გულის იშემიური დაავადების შემთხვევაში ჰიპერჰომოცისტეინემიის დროს პაციენტთა სისხლძარღვებში პრევალირებს ათეროგენეზული პროცესები, ხოლო ჰომოცისტეინის ნორმაში არსებობისას – თრომბოზული პროცესები.
3. ჰომოცისტეინის კონცენტრაციის მატება აზოტის ოქსიდით განპირობებული არტერიული ვაზომოტორული რეაქციების მოშლას იწვევს და წარმოადგენს

მნიშვნელოვან ადრეულ ეტაპს ჰიპერჰომოცისტეინემიასთან დაკავშირებული ვასკულური დაავადებების განვითარებაში.

4. ენდოთელური დისფუნქცია უნდა განვიხილოთ, როგორც ერთ-ერთი ადრეული კომპონენტი სისხლძარღვთა დაავადებათა განვითარების კომპლექსურ მოვლენებში და მნიშვნელოვანი დამაკავშირებელი რგოლი ჰიპერჰომოცისტეინემიასა და ათეროთრომბულ დაავადებებს შორის.
5. ჰიპერჰომოცისტეინემიის დროს ადგილი აქვს ენდოთელური აზოტის ოქსიდის ბიორესურსის მოშლას.

დისერტაციის თემაზე გამოქვეყნებული ნაშრომების სია

1. ჰომოცისტეინი და მისი როლი ორგანიზმის ფუნქციობაში. საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის მაცნე, ბიომედიცინის სერია, 2016, 42, 5-6, 23-29 (თანაავტორები: ნ. დორეული, ნ. მითაგვარია).
2. Direct measurement of contractility of isolated small arteries preparations. Georgian National Academy of Sciences, Bull., 2017, 11, 3, 146-150 (co-authors: M. Dekanosidze, N. Mitagvaria).
3. აზოტი ოქსიდის როლი ვირთაგვას პირის ღრუს სისხლის ადგილობრივი ნაკადის რეგულაციაში. საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის მაცნე, ბიომედიცინის სერია, 2017, 43, 215-224 (თანაავტორები: მ. დეკანოსიძე, ხ. საგანელიძე, ნ. მითაგვარია).
4. The role of nitric oxide in the changes of blood vessels acetylcholine induced dilation in the conditions of hyperhomocysteinemia. International Journal of Research (IJR), 2018, 5, ISSN: 2348-6848, #44396, 2035-2040 (co-authors: N. Doreulee, N. Mitagvaria).

5. Changes in arteriole reactivity to noradrenaline under conditions of hyperhomocysteinemia. *Georgian Medical News*, 2019, 7-8, 292-293, 92-95 (co-authors: N Doreulee, M. Mitagvaria).
6. A possible mechanism of the changes in arteriole contractility under conditions of hyperhomocysteinemia. *Proc. of the Georgian National Academy of Sciences, Biomedical Series, International Congress of Georgian Ivane Beritashvili Society of Physiologists Proceedings*, 2019, 45, 3-4, 453-455 (co-author N. Doreulee).