

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტის
ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტის
III სემესტრის დოქტორანტის

გიორგი ბურჯანაძის

საკოლოკვიუმე ნაშრომი
თემაზე

*“ვირთავას თავის ტვინში იზოლაციისა და დღე-
ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში ენერგეტიკულ
მეტაბოლიზმში მონაწილე ზოგიერთი ფერმენტის
აქტივობის ცვლილების შეფასება”*

ხელმძღვანელი: თსუ სრული პროფესორი,
ბ.მ.დ., ნანა კოშორიძე

თბილისი 2013

შინაარსი

შესავალი.....	3
თავი I. ლიტერატურული მიმოხილვა.....	5
I.1 იზოლაცია და დღე-ღამური რიტმის დარღვევა, როგორც სტრესული ფაქტორი	5
I.2 სეროტონინი.....	7
I.3 კორტიკოსტერონი.....	9
I.4 კრეატინკინაზა	11
I.5 კრეატინი.....	13
I.6 ალდოლაზა.....	14
I.7 აკონიტაზა, სუქცინატდეჰიდროგენაზა, ფუმარაზა.....	15
თავი II. კვლევის ობიექტები და გამოყენებული მეთოდები.....	17
II.1. კვლევის ობიექტი.....	17
II.2. სუბუჯრედული ფრაქციების მიღება დე-რობერტისის მიხედვით.....	18
II.3. სეროტონინისა და კორტიკოსტერონის რაოდენობრივი განსაზღვრა.....	19
II.4. ფერმენტ აკონიტაზასა აქტივობის განსაზღვრა.....	19
II.5. ფერმენტ სუქცინატდეჰიდროგენაზას აქტივობის განსაზღვრა.....	19
II.6. კრეატინის რაოდენობრივი განსაზღვრა.....	20
II.7. ფერმენტ კრეატინკინაზას აქტივობის განსაზღვრა.....	20
II.8. ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრა ლოურის მეთოდით.....	21
თავი III. მიღებული შედეგები და მათი განხილვა.....	23
დასკვნები.....	33
გამოყენებული ლიტერატურა.....	34

შესავალი

თანამედროვე ეპოქამ და ცივილიზაციის რევოლუციური ნაბიჯებით განვითარებამ ახალი გამოწვევების წინაშე დააყენა კაცობრიობა, რომელთა შორის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანია მომატებული სტრესული ფონი.

სტრესს, ანუ გარკვეული გარემო ფაქტორების გავლენას ცოცხალ სისტემაზე, მძიმე უარყოფითი შედეგების გამოწვევა შეუძლია, რომლებიც შესაძლოა ლეტალურადაც კი დამთავრდეს. ამასთან, აღსანიშნავია, რომ ორგანიზმზე სტრესული ფაქტორების ხანმოკლე ზემოქმედებას, ზოგიერთ შემთხვევაში, დადებითი შედეგის მოტანა შეუძლია, რაც ფართოდ გამოიყენება სამედიცინო სფეროში.

მეოცე საუკუნის 70-80-იან წლებში პირველად განისაზღვრა სოციოზოლოგიური სტრესის ეპიდემიოლოგიური ხასიათი და მას შემდეგ ამ კუთხით მრავალი კვლევა ჩატარდა. ჩატარებულმა კვლევებმა წარმოაჩინეს ორგანიზმის სხვადასხვა სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვან სისტემაზე ამ სახის ზემოქმედების უარყოფითი გავლენა.

ცოცხალი ორგანიზმი, რომელიც ფუნქციონირებს ნერვული და ჰუმორული მაკონტროლებელი მექანიზმების საშუალებით, გარემო ფაქტორების უშუალო ზემოქმედებას განიცდის სწორედ ნერვულ და ჰუმორულ სისტემებზე.

ამ კუთხით მნიშვნელოვანია თავის ტვინში სინთეზირებული ნეიროგადამცემის სეროტონინისა და თირკმელზედა ჯირკვლის ჰორმონის კორტიკოსტერონის რაოდენობრივი ცვლილებები, რომელიც სტრესული მდგომარეობის ძირითად ბიოქიმიურ მარკერებს წარმოადგენს.

უჯრედში სეროტონინისა და კორტიკოსტერონის რაოდენობრივ შემცველობის ცვლილებები უშუალოდ აისახება უჯრედულ მეტაბოლიზმზე. კერძოდ, ისინი, როგორც პირველადი მესენჯერები უზრუნველყოფენ უჯრედშიდა არეში მეორადი, მესამეული და სხვა გადამცემების სინთეზს, რასაც თან სდევს რთული უჯრედშიდა სასიგნალო კასკადის ცვლილება, რაც უშუალოდ მოქმედებს სხვადასხვა მეტაბოლურ პროცესზე და შეუძლია სხვადასხვა პათოლოგიური ცვლილების (მათ შორის ჟანგვითი სტრესის აქტივაცია) გამოწვევა. პირველადი მესენჯერების მიერ ინიცირებული პროცესები პირდაპირ კავშირშია ე.წ. მეორადი მესენჯერების წარმოქმნასთან, რომლებიც უშუალოდ ერთვება უჯრედში და მის კომპარტმენტებში მიმდინარე მეტაბოლურ პროცესებში და სხვადასხვა რეაქციის კოფაქტორებად გვევლინებიან.

დღეისათვის დიდი ყურადღება ეთმობა კალციუმის ორგანული იონს (Ca^{2+}), რომელიც მრავალ მნიშვნელოვან მეტაბოლურ პროცესშია ჩართული და ამდენად სასიცოცხლო მნიშვნელობა

გააჩნია ორგანიზმის ცხოველყოფილობისათვის (ნეიროიმპულსების გადაცემა, კუნთის შეკუმშვა, გულის კუნთის მუშაობა და სხვა). ამასთან, მეცნიერებს ჯერ-ჯერობით უჭირთ Ca^{2+} -ის მესენჯერების ამა თუ იმ კლასთან მიკუთვნება.

უჯრედულ მეტაბოლურ პროცესებს შორის ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესია ენერგეტიკული ჰომეოსტაზის შენარჩუნება. ჩვეულებრივ პირობებში უჯრედის მიერ ატფ-ის მოხმარება მუდმივ, დაბალანსებულ წონასწორობაშია, რასაც უზრუნველყოფს სხვადასხვა მეტაბოლური გზები (გლიკოლიზი, კრებსის ციკლი, ჟანგვითი ფოსფორილირება, ცხიმოვანი მჟავების დაჟანგვა და სხვა). ისინი საკმაოდ მგრძობიარეა სხვადასხვა გარეგანი ფაქტორის მიმართ, რომელთა შორისაცაა ფსიქოემოციური სტრესი.

ნებისმიერი დარღვევა, რომელიც უჯრედში მიმდინარეობს პირდაპირ ან არაპირდაპირ მოქმედებს უჯრედის ენერგეტიკულ ჰომეოსტაზზე, შესაბამისად უარყოფითი ფაქტორების ზემოქმედების უშუალო სამიზნე, მიტოქონდრია და მასში მიმდინარე ჟანგვა-აღდგენითი პროცესებია, რომლებიც უზრუნველყოფენ ატფ-ის სინთეზს და ცოცხალი სისტემის ენერგოსტაბილურობას.

როგორც ცნობილია, უჯრედში ენერჯის წარმოქმნის პროცესი ციტოპლაზმაში იწყება და მიტოქონდრიის მატრიქსში ფუნქციონირებად კრებსის ანუ ლიმონმჟავას ციკლით გრძელდება, რომელიც გარკვეულწილად ციტოზოლში მიმდინარე პროცესების და ჟანგვითი ფოსფორილირების დამაკავშირებელი რგოლია, შესაბამისად ლიმონმჟავა ციკლის ფერმენტების მოქმედება და ფუნქციონირება მნიშვნელოვანი ფაქტორია ენერგეტიკული ჰომეოსტაზის შენარჩუნებაში.

დადგენილია, რომ უჯრედებისათვის, რომლებიც მოიხმარენ ჭარბ და ცვალებადი რაოდენობის ენერჯიას (ჩონჩხისა და გულის კუნთი, ნერვული ქსოვილი) არ არის საკმარისი ჩვეულებრივი გზით სინთეზირებული ატფ. აღმოჩნდა, რომ ამ ქსოვილებში ენერგეტიკული ბალანსის შესასწარმუნებლად, დამატებით ფუნქციონირებს ერთგვარი ბუფერული სისტემა, რომელსაც ე.წ. კრეატინ/ფოსფოკრეატინული ციკლი (Cr/PCr) წარმოადგენს. ამ ციკლის რეაქციები ფერმენტ კრეატინკინაზას (CK) სხვადასხვა იზოფორმებით კატალიზდება.

სამუშაოს მიზანი და ამოცანები: სამუშაოს მიზანს წარმოადგენდა თეთრი ვირთაგვას თავის ტვინის ენერგეტიკული მოტაბოლიზმის შეფასება იზოლაციითა და ღლე-ღამური რიტმის დარღვევით გამოწვეული ფსიქოემოციური სტრესის პირობებში.

ნაშრომის სტრუქტურა და მოცულობა: ნაშრომი მოიცავს შესავალს, ლიტერატურულ მიმოხილვას, გამოყენებული მეთოდების აღწერას, მიღებული შედეგების განხილვას, დასკვნებსა და გამოყენებული ლიტერატურის სიას.

I. ლიტერატურული მიმოხილვა

I.1 იზოლაცია და დღე-ღამური რიტმის დარღვევა, როგორც სტრესული ფაქტორი

1936 წელს კანადელმა მეცნიერმა სელიემ გამოკვლევებით დაადგინა ორგანიზმზე გარკვეული გარემო ფაქტორების გავლენა და ამ მოვლენას “სტრესი” უწოდა [1].

მრავალმა გამოკვლევამ დაადასტურა, რომ გარეგანი სტრეს-ფაქტორების ხანმოკლე ზემოქმედება რიგ შემთხვევებში დადებითი ეფექტის მომტანია, თუმცა ამ მდგომარეობაში ხანგრძლივი პერიოდით ყოფნამ შესაძლოა მძიმე შედეგებამდე მიიყვანოს ცოცხალი ორგანიზმი.

სტრესში განარჩევენ სამ ძირითად ფაზას, ესენია: განგაშის, რეზისტენტობის და ადაპტაციის და/ან გამოფიტვის სტადიები. სამივე ეს საფეხური ხასიათდება სპეციფიური ფიზიოლოგიური და ბიოქიმიური მახასიათებლებით [2-4].

XX საუკუნის 70-80-იან წლებში სტრეს-ფაქტორთა სიას დაემატა ე.წ. სოციალური იზოლაცია. ამ პერიოდში ჩატარებული კვლევებით დაადგინდა სოციალური იზოლაციის უარყოფითი გავლენა ორგანიზმზე, მის ფუნქციონირებაზე და სიკვდილიანობის მაჩვენებელზე [5-7].

აღმოჩნდა, რომ აღნიშნული ზემოქმედება, ორგანიზმისთვის მიყენებული ზიანის თვალსაზრისით, არ ჩამორჩება სიგარეტის წევას, ნარკოტიკებისა და ალკოჰოლის მოხმარებას და სხვა ფსიქოსოციალურ სტრეს-ფაქტორებს [8], თუმცა დღევანდლამდე მაინც არ არის ზუსტად განსაზღვრული, თუ რატომ არის სოციალური იზოლაცია ესოდენ სარისკო სიცოცხლისათვის და ამ კუთხით კვლევა დღესაც აქტიურად გრძელდება.

არსებობს კვლევები, რომელთა მიხედვითაც სოციუმისგან იზოლაცია წარმოადგენს მნიშვნელოვან სტრეს-ფაქტორს, რომლის გახანგრძლივების შემთხვევაში შესაძლოა განვითარდეს მძიმე შედეგები და ორგანიზმი დაიღუპოს კიდევ [9]. მრავალი მეცნიერის აზრით, თანამედროვე მსოფლიოში კომპიუტერული ტექნოლოგიების, ინტერნეტისა და სოციალური ქსელების განვითარება ხელს უწყობს ადამიანების ურთიერკავშირს [10], მეორე მხრივ, არსებობს კვლევები, რომელთა მიხედვით აღნიშნული გარემოებები პირიქით, წარმოადგენს სოციალური არსების, ამ შემთხვევაში ადამიანის ვირტუალურ სამყაროში გადასვლის საფუძველს და გარკვეულწილად ახდენს პიროვნების იზოლაციას სამყაროსაგან, რაც უარყოფითად აისახება მასზე [11; 12].

დადგენილია, რომ ინდივიდების იზოლაცია და მათი ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევა წარმოადგენს მძლავრ სტრეს-ფაქტორს, რომლის ზემოქმედების შედეგად ორგანიზმში აღინიშნება

რიგი ჰორმონალური ცვლილებები და აგრესიულობის მატება, რაც ხდება ფსიქომოციური სტრესის მიზეზი [14-18].

თანამედროვე სამეცნიერო კვლევებით დასტურდება ინდივიდების იზოლაციითა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევით გამოწვეული ფსიქომოციური სტრესის მავნე გავლენა უჯრედში მიმდინარე ბიოქიმიურ პროცესებზე. კერძოდ, დადგენილია ამ პირობებში ოქსიდაციური სტრესის განვითარება, რასაც მოსდევს მემბრანული ლიპიდების დაზიანება ზეჟანგური პროცესების გააქტივების გზით. ასევე, არსებობს მონაცემები ორგანიზმის იმუნურ სისტემაზე იზოლაციური სტრესის უარყოფითი ეფექტის შესახებ, რაც სიცოცხლისათვის საშიში პროცესების გააქტივების მიზეზია [13].

სულ უფრო მეტი კვლევა მიუთითებს ფსიქომოციური სტრესის შედეგად ნორადრენერგული და სეროტონინერგული სისტემების ჰიპერაქტივაციაზე [19] და γ -ამინოერბომჟავაერგული (GABA) სისტემის ინჰიბიციაზე [20].

აღმოჩნდა, რომ ფსიქომოციური სტრესი მძიმე ზეგავლენას ახდენს დასწავლის ხარისხზეც, რაც აისახება სტრესთან დაკავშირებული ნეიროგადამცემების (სეროტონინი) და სტრეს-ჰორმონების (გლუკოკორტიკოიდები) ურთიერთდამოკიდებული რაოდენობრივი ცვლილებებით [21]. არსებობს მონაცემები აღნიშნულ პირობებში NMDA რეცეპტორული სისტემის ჩართულობის შესახებაც [22].

ცნობილია, რომ ხანგრძლივი ფსიქომოციური სტრესი გავლენას ახდენს უჯრედში აზოტის ოქსიდისა (NO) და გლუტათიონის (GSH) რაოდენობაზე, რაც გამოიხატება პირველის მკვეთრ რაოდენობრივ მატებაში, ხოლო GSH-ის კლებაში. ეს ფაქტი პირდაპირ მიუთითებს ოქსიდაციური სტრესის განვითარებაზე [23].

გარდა ბიოქიმიური დარღვევებისა, აღსანიშნავია ფსიქომოციური სტრესით გამოწვეული ფიზიოლოგიური დარღვევებიც, რომლებიც ნათლად მიუთითებს ორგანიზმზე აღნიშნული სტრეს-ფაქტორების მძიმე გავლენაზე [24].

საბოლოოდ შეიძლება ითქვას, რომ ფსიქომოციური სტრესი ძლიერ უარყოფით ზეგავლენას ახდენს ცოცხალ სისტემაზე, რაც გამოიხატება ტროფული ფუნქციების დაქვეითებით, სიმსივნური პროცესების გააქტივებით, უჯრედულ დონეზე მეტაბოლური პროცესების ინჰიბირებითა და გადაგვარებით, რასაც ორგანიზმი ლეტალურ შედეგებამდე მიყავს [25].

I.2 სეროტონინი

1935 წელს იტალიელმა მეცნიერმა ვიტორიო ესპამერმა დაადგინა, რომ ნაწლავების ენტეროქრომაფინური უჯრედებისგან მიღებული ექსტრაქტი იწვევდა ნაწლავების შეკუმშვას და მას ენტერამინი უწოდა [26]. ამასთანავე, არსებობდა მოსაზრება, რომ აღნიშნული ექსტრაქტი იყო ადრენალინი, თუმცა გამოკვლევებით ეს ვერსია არ დადასტურდა. 1948 წელს ამერიკელმა მეცნიერებმა სისხლის შრატში აღმოაჩინეს ნივთიერება, რომელიც სისხლძარღვების შეკუმშვაზე მოქმედებდა და მას სეროტონინი უწოდეს [27].

საბოლოოდ 1952 წელს დადგინდა, რომ მეოცე საუკუნეში, სხვადასხვა დროსა და ადგილას აღმოჩენილი შემკუმშავი აგენტები, რომელთაც ენტერამინი და სეროტონინი ეწოდათ, წარმოადგენენ ერთ ნივთიერებას და ამის გამო სამეცნიერო ლიტერატურაში დამკვიდრდა ახალი ტერმინი 5-ჰიდროქსიტრიპტამინი (5HT) [28].

ადამიანის ორგანიზმის სეროტონინის დაახლოებით 80% გვხვდება ნაწლავის ენტეროქრომაფინურ უჯრედებში, სადაც ის არეგულირებს ნაწლავების პერისტალტიკას, ხოლო დანარჩენი - ცენტრალური ნერვული სისტემის (ცნს) სეროტონინერგული ნეირონებში. ამასთან საყურადღებოა, რომ საკუთრივ სეროტონინისათვის ჰემატონეცეფალური ბარიერი განუვლადია, ხოლო მისი სინთეზისათვის აუცილებელ ნაერთებს მარტივად შეუძლიათ ჰემატონეცეფალური ბარიერის გადალახვა [29; 30].

სეროტონინი წარმოადგენს ნეირომედიატორს, რომლის სინთეზი L-ტრიპტოფანის ჰიდროქსილირების საშუალებით ხდება. შედეგად წარმოიქმნება 5-ჰიდროქსიტრიპტოფანი (5-HTP). რეაქციას აკატალიზებს ფერმენტი ტრიფტოფანჰიდროქსილაზა (TPH), რომელიც ორგანიზმში არსებობს ორი იზოფორმის სახით (TPH1 და TPH2). TPH1 სხვადასხვა ქსოვილშია ნანახი, ხოლო TPH2 თავის ტვინისათვის დამახასიათებელი სუბტიპია. 5-HTP განიცდის ფერმენტულ დეკარბოქსილირებას, რის შედეგადაც წარმოიქმნება 5-ჰიდროქსიტრიფტამინი (5HT) ანუ სეროტონინი, რეაქციას აკატალიზებს ფერმენტი 5-ჰიდროქსიტრიფტოფანდეკარბოქსილაზა (AADC) [31], რომელიც ამავდროულად დოფამინის მასინთეზირებელი ფერმენტიცაა [32]. ნაჩვენებია აგრეთვე AADC-ზე პირილოქსინის გამაქტივებელი ეფექტი [33].

სეროტონინის შემცველი ნეირონული სხეულები წარმოქმნიან გარკვეულ კლასტერებს, რომლებიც განლაგებულია თავის ტვინის ღეროს შუა ნაწილში. ამ ნეირონების აქსონები ახდენს ცნს-ის თითქმის ყველა უბნის ინერვაციას. აღნიშნული გროვები შეესაბამება ე.წ. რაფის ბირთვებს,

თუმცა სრულად არ მოიცავს მათ. დაღწრომმა და ფუქსმა აღწერეს სეროტონინ შემცველი ნეირონული სხეულების 9 ჯგუფი და ისინი აღნიშნეს, როგორც B₁, B₂ და ა.შ. [34].

ელექტრული იმპულსის საპასუხოდ სეროტონინერგული ნეირონების სხეულები ახდენს ტრიფტოფანიდან 5HT-ის ჭარბ პროდუცირებას, ხოლო ეს პროცესი მნიშვნელოვნადაა დამოკიდებული ექსტრაცელულარულ Ca²⁺-ზე, რაც გამოიხატება TPH-ის Ca²⁺-დამოკიდებული ფოსფორილირებით და შესაბამისად აქტივაციით [35].

სეროტონინის ვეზიკულებში მოთავსება მიმდინარეობს აქტიური ტრანსპორტის მექანიზმით, რომელშიც მონაწილეობს ე.წ. ვეზიკულური ტრანსპორტერები (VMAT₁, VMAT₂), ამასთან პროცესისათვის აუცილებელია ელექტროქიმიური გრადიენტის არსებობა, რომელსაც ვეზიკულური H⁺-ატფაზა უზრუნველყოფს, წყალბადის პროტონების ვეზიკულაში გადაქაჩვის გზით.

საბოლოოდ, VMAT₁-სა და VMAT₂-ს, რომლებიც წარმოადგენენ ციტოპლაზმიდან ტოქსიკური ნივთიერებების ვეზიკულებში გადამტანი სპეციფიკური ტრანსპორტერების კომპლექსებს, ანტიპორტული მექანიზმის საშუალებით გადააქვთ 5HT [36], ხოლო რაც შეეხება სეროტონინის სინაპსურ ტრანსპორტს, ამ პროცესს უზრუნველყოფს ე.წ. სეროტონინის ტრანსპორტერი (SERT), რომელიც მდებარეობს სეროტონინერგული ნეირონების მემბრანაში და ის Na⁺-დამოკიდებული არხია, რომელიც აკონტროლებს სინაპსში სეროტონინის რაოდენობას. მას მიაკუთვნებენ Na⁺- და Cl⁻-დამოკიდებული ტრანსპორტერების ოჯახს [37; 38].

აღმოჩნდა, რომ Ca²⁺-ის უჯრედში შესვლას შეუძლია გაზარდოს 5HT-ის გამონთავისუფლება. აღწერილია Ca²⁺-ის როლი ვეზიკულური და პლაზმური მემბრანის შერწყმაში. ამასთან, აღსანიშნავია, რომ თავის მხრივ სეროტონინი მონაწილეობს Ca²⁺-ის უჯრედშიდა დეპოებიდან აქტიურად გამონთავისუფლების პროცესში [39].

სეროტონინის რეცეპტორები, გარდა 5-HT₃ რეცეპტორისა, წარმოადგენენ G-ცილებთან ასოცირებულ არხებს, ხოლო 5-HT₃ ლიგანდ-დაჭიშკრული იონური არხია.

5-HT რეცეპტორები ნანახია, როგორც ცენტრალურ ისე პერიფერიულ ნერვულ სისტემაში და მათ ბუნებრივ ლიგანდს სეროტონინი წარმოადგენს [40; 41].

სეროტონინის რეცეპტორები უზრუნველყოფს მრავალი ნეირომედიატორის გამოყოფას (დოფამინი, გაემ, გლუტამატი, ეპინეფრინი/ნორეპინეფრინი და სხვა), ასევე მრავალი ჰორმონის, რომელთა შორისაა ოქსიტოცინი, პროლაქტინი, ვაზოპრესისინი, კორტიზოლი, კორტიკოტროპინი და სხვა. შესაბამისად, აღნიშნული რეცეპტორების როლი მნიშვნელოვანია სხვადასხვა ფიზიოლოგიურ პროცესებში (აგრესია, გაღიზიანებადობა, მეხსიერება, ძილი, დასწავლა და სხვა) [42].

მნიშვნელოვანია სეროტონინერგული სისტემის როლი ე.წ. ცირკადული რიტმის ნორმალურ ფუნქციონირებაში, სადაც ის გვევლინება სინათლეზე დამოკიდებული რეაქციების მაკონტროლებლად [43].

აღმოჩნდა, რომ სეროტონინი მონაწილეობს სტრეს-ჰორმონების (კორტიკოსტერონი, კორტიზოლი) გამოყოფის პროცესშიც და 5-HT-ის ჭარბი პროდუცირება არღვევს აღნიშნული ბიოლოგიურად აქტიური ნაერთების ნორმალური გამონთავისუფლების პროცესს [44].

ნეირონების, გლიისა და სხვა უჯრედების მიტოქონდრიის გარე მემბრანაზე წარმოადგენილია ინტეგრალური ფლავოპროტეინი, რომელსაც მონოამინ ოქსიდაზას (MAO) უწოდებენ, ეს უკანასკნელი მონაწილეობს ღებულობს სეროტონინის უჯრედშიდა კატაბოლიზმის პროცესში და მას 5-ჰიდროქსინდოლაკეტალდეჰიდად (5-HIAA) გარდაქმნის. არსებობს აღნიშნული ფერმენტის ორი იზოფორმა: MAO-A და MAO-B, რომლებიც განსხვავებულ სუბსტრატულ სპეციფიკურობას ავლენენ [45; 33].

I.3 კორტიკოსტერონი

თირკმელზედა ჯირკვლის გარე შრის უჯრედები სისხლში გამოყოფენ ერთ-ერთ მნიშვნელოვან სტეროიდულ ჰორმონს - კორტიკოსტერონს (CORT), რომელიც სამეცნიერო ლიტერატურაში “სტრეს-ჰორმონის” სახელწოდებით მოიხსენიება. ის ერთ-ერთ ძირითად მარკერს წარმოადგენს სტრესული მდგომარეობის ბიოქიმიური იდენტიფიცირებისათვის [46].

ცნობილია, რომ ჰიპოთალამუს-ჰიპოფიზ-თირკმლის (HPA) ფუნქციური ჯაჭვი მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ორგანიზმის ნერვული, კარდიოვასკულარული და იმუნური სისტემებისა და მეტაბოლური პროცესების ჰომეოსტაზის შენარჩუნებაში. HPA-ს ძირითადი რეგულატორული როლი ცირკადულ და სტრესთან დაკავშირებულ პროცესებში ინიცირდება ჰიპოთალამური პარავენტრიკულური უჯრედების (PVC) პარვიცელულარულ სუბნაწილში [47]. აღნიშნული უჯრედების უმრავლესობა ახდენს კორტიკოტროპინ გამოყოფი ჰორმონის (CRH) და ვაზოპრესინის (VP) სეკრეციას, რაც იმავდროულად ასტიმულირებს ჰიპოფიზის კორტიკოტროპული უჯრედების მიერ სისხლში ადენოკორტიკოტროპული ჰორმონის (ACTH) სეკრეციას, რომელიც ერთგვარ სასიგნალო ნაერთს წარმოადგენს ქოლესტერინიდან კორტიკოსტერონის (CORT) სინთეზის სტიმულაციისათვის. CORT, თავის მხრივ, აღნიშნული სისტემის მაინჰიბირებელი ფაქტორია [48].

ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ კორტიკოსტერონი ორგანიზმში მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ამინომჟავებიდან გლუკონეოგენეზის პროცესში ეს პროცესი კი აუცილებელია უჯრედშიდა გლიკოგენის ჰომესტაზის შენარჩუნებისათვის [49].

ნაჩვენებია, სტრესული მდგომარეობების დამოკიდებულება HPA კასკადზე და სიმპათოადრენალურ სისტემაზე, რომლებიც წარმოადგენენ ძირითად ბიოქიმიურ სტრესულ მექანიზმებს, როგორც ადამიანში, ისე სხვა ცხოველურ ინდივიდებში [50].

კორტიკოსტერონი, მსგავსად სხვა სტეროიდული ჰორმონებისა, სინთეზირდება თირკმელზედა ჯირკვლის ქერქოვან ნაწილში და მის წინამორბედს პრეგნენოლონი წარმოადგენს. ეს უკანასკნელი ციტოქრომ P450-ის ორი იზოფორმის (P450c21 და P450c11) მონაწილეობით მიმდინარე ფერმენტული რეაქციის შედეგად გარდაიქმნება კორტიკოსტერონად [51].

კორტიკოსტერონი წარმოადგენს ძირითად გლუკოკორტიკოიდს, რომელიც ჩართულია იმუნურ რეაქციებსა და სტრესულ პირობებში მიმდინარე პროცესებში [52], ასევე მნიშვნელოვანია მისი როლი სხვადასხვა დაავადებების ფორმირებაში (კუშინგის სინდრომი, ნელსონის დაავადება და სხვა) [53].

ნაჩვენებია კორტიკოსტერონის სინთეზსა და მეტაბოლიზმზე სეროტონინერგული სისტემის გავლენა [54] და ჰორმონის მალმიტირებელი მოქმედება Ca^{2+} -ის, როგორც მეორადი მესენჯერის მოქმედებაზე [55].

ცნს-ში აღწერილია ორი ტიპის კორტიკოსტეროიდული რეცეპტორი, თუმცა “სტრეს-ჰორმონის” სპეციფიური რეცეპტორები ნახნია ასევე სხვა უჯრედებსა და ქსოვილებშიც.

თავის ტვინის ორი ტიპის კორტიკოსტეროიდულ რეცეპტორებს (I და II) შორის განსხვავება სუსტრატების მიმართ (გლუკოკორტიკოიდები, მინერალოკორტიკოიდები) თვისობაზეა დამყარებული. ამასთან, პირველი ტიპის რეცეპტორი მეტ აფინურობას ავლენს ჰორმონის მიმართ და წარმოადგენილია ჰიპოკამპის ყველა უბანში, ძირითადად CA1, CA2 და CA3-ში [56], თუმცა ამ უკანასკნელში, სხვა ჰიპოკამპურ რეგიონებთან შედარებით, გლუკოკორტიკოიდების რაოდენობა საკმაოდ მცირეა [56].

ორივე ტიპის კორტიკოსტეროიდული რეცეპტორი ლიგანდ-აქტივირებადი ტრანსკრიპციული ფაქტორების სუპერ ოჯახის წარმომადგენელია და ციტოპლაზმაში ასოცირებულია სითბური შოკის ცილების (HSP70 და HSP90) შემცველ მულტიცილოვან კომპლექსთან. ისინი მონაწილეობას იღებს ტრანსკრიპციული პროცესების რეგულაციაში [57].

კორტიკოსტერონის ზემოქმედების ინჰიბირება წარმოებს ძირითადად ორი გზით: ერთი, როდესაც სხვა სტეროიდული ჰორმონი ახდენს სპეციფიური რეცეპტორების ბლოკირებას, ხოლო

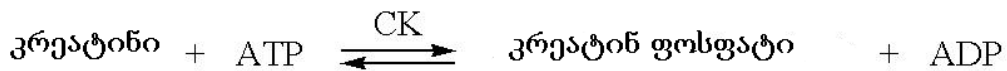
მეორე მექანიზმის საშუალებით ხდება მისი ფერმენტული გარდაქმნა ალდოსტერონად. კორტიკოსტერონის რაოდენობრივი ცვლილებების ზუსტი მექანიზმი სტრესის პირობებში არაერთგვაროვან ხასიათს ატარებს და ბოლომდე არ არის შესწავლილი [58].

I.4 კრეატინკინაზა

მაღალი მეტაბოლური აქტივობისა და ცვლადი ენერგეტიკული მოთხოვნილების მქონე უჯრედებში ატფ-ს ჰომეოსტაზის შენარჩუნებაში მთავარი როლი კრეატინ-კრეატინკინაზა-ფოსფოკრეატინულ (Cr/CK/PCr) ციკლი წარმოადგენს. აღნიშნული სისტემა სწრაფად და დინამიურად აღადგენს დაზარალებულ ატფ-ს დონეს Cr-ისა და PCr-ის შექცავადი ტრანსფოსფორირების რეაქციის საშუალებით [34], რის კატალიზატორადაც სწორედ ფერმენტი კრეატინკინაზა (CK) გვევლინება (სურ.1).

რეაქციაში დაზარალებული ატფ-ს ერთი მოლეკულა აღადგენს ერთ მოლეკულა PCr-ს სინთეზს ხმარდება. ეს უკანასკნელი კი ციტოზოლში გადმოსვლის შემდეგ მაღალენერგეტიკული ფოსფორის რეზერვუარს წარმოადგენს და ენერგიეს გაძლიერებული ხარჯვის დროს ადფ-დან ატფ-ის რესინთეზში მონაწილეობს.

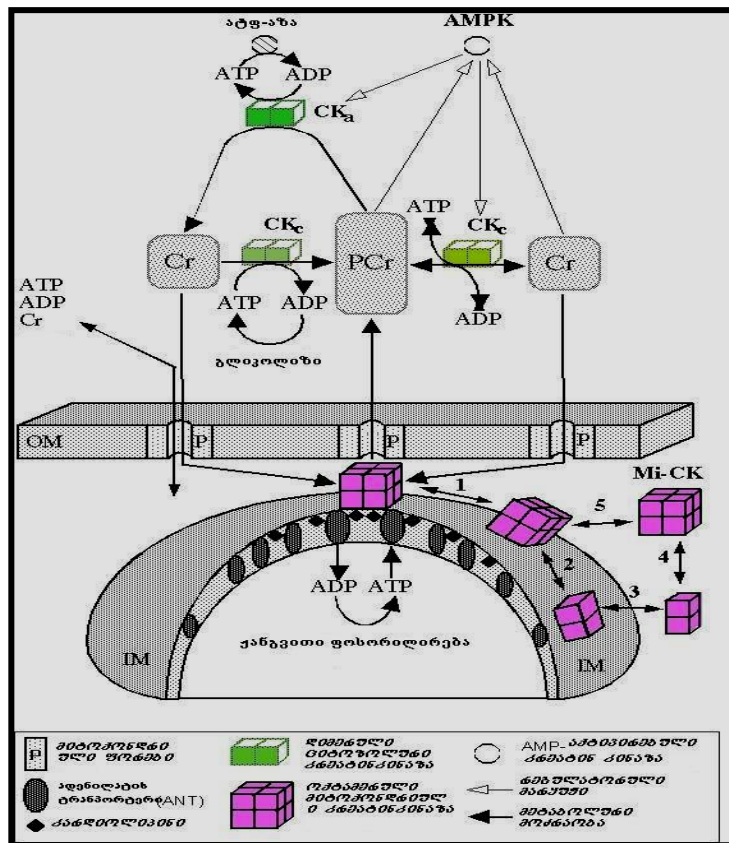
ფოსფოკრეატინი არამარტო ატფ-ს აღდგენაში მონაწილეობს, არამედ უჯრედშიდა ადფ-ის მუდმივი დონის შენარჩუნებაში და რადგან მას ადვილად შეძლია ციტოზოლში გადაადგილება ენერგიის მატრანსპორტირებულ ნაერთსაც წარმოადგენს. [34; 64]



სურ.1 კრეატინ-კრეატინკინაზა-ფოსფოკრეატინული ციკლი

აღნიშნული მოლეკული კრეატინკინაზას ციტოზოლური და მიტოქონდრიული იზოფორმების არსებობას ეფუძნება და უჯრედული ენერგიის შენახვა-გადატანას შემდეგნაირად ხსნის: მიტოქონდრიული კრეატინკინაზა მიტოქონდრიის მემბრანათაშორის სივრცეშია ხსნად მდგომარეობაში მოთავსებული და ფუნქციურად ჟანგვით ფოსფორილებასთან არის დაკავშირებული. ამ უკანასკნელის შედეგად სინთეზირებული ატფ კრეატინკინაზას მიერ კრეატინის ფოსფორილებისათვის გამოიყენება, რის შედეგადაც წარმოქმნილი ფოსფოკრეატინი მიტოქონდრიული

გარე მემბრანის გავლით ციტოზოლში გადადის, სადაც, როგორც უკვე აღინიშნა ციტოზოლური კრეატინკინაზა ახდენს მის დეფოსფორილრებას უბნებში, რომლებშიც იმ მომენტიცათვის არის ატფ-ს მოთხოვნილება. ერთ-ერთ ასეთ საიტს წარმოადგენს მემბრანული ატფ-აზები, რომლებიც გამუდმებით მოიხმარენ ატფ-ს. ამ პროცესში გამონთავისუფლებული კრეატინი კი კვლავ მიტოქონდრიაში ბრუნდება, სადაც კვლავ ერთვება განხილულ ციკლში.



სურ.2 ფერმენტ კრეატინკინაზას მოქმედების მექანიზმი

დღეისათვის კრეატინკინაზა ხუთი სხვადასხვა იზოფორმაა ცნობილი, რომელთაგან ორი მიტოქონდრიულია, ხოლო სამი ციტოზოლური [4; 66]. ეს უკანასკნელი იყოფიან თავის ტვინის, ჩონჩხის კუნთისა და გულის კუნთის სპეციფიურ ფორმებად. მიტოქონდრიული ფორმებიდან ერთ-ერთი, ე.წ. უბიქუიტური, თითქმის ყველა ქსოვილშია წარმოდგენილი გარდა კუნთოვანი ქსოვილისა, ხოლო მეორე იზოფორმა კი ჩონჩხისა და გულის კუნთებში.

ზემოთქმულიდან გამომდინარე მიტოქონდრიული კრეატინკინაზა ახორციელებს კრეატინის ფოსფოკრეატინად გარდაქმნას ატფ-ს ენერჯის ხარჯზე. სხვადასხვა ნეიროდეგენერაციული პათოლოგიების დროს თავის ტვინის დაზიანებულ რეგიონებში აღინიშნება ციტოზოლური

კრეატინკინაზას როგორც რაოდენობრივი ისე ფერმენტული აქტივობის შემცირება, რაც სავარაუდოა, რომ გამოწვეული იყოს მისი პოსტ-ტრანსლაციური მოდიფიკაციით [2; 6; 7; 42]. კერძოდ, ფერმენტის მოლეკულაში კარბონილის ჯგუფის მატება მოწმობს, რომ ამ პროცესში გადამწყვეტი მნიშვნელობა სწორედ აღნიშნულ ცვლილებას გააჩნია, რაც თავის მხრივ ფერმენტის აქტივობის ცვლილებაზე ახდენს გავლენას.

ნაჩვენებია, რომ კრეატინკინაზას მიტოქონდრიული იზოფორმა ახდენს ჟანგბადი აქტიური რადიკალების გენერაციის ინჰიბირებას, რასაც შეუძლია ისეთი პროცესების ინდუცირება, როგორებიცაა იშემიური და ნეიროდეგენარაციული დაავადებები, აპოპტოზი და სხვა.

აღსანიშნავია ის ფაქტიც, რომ თავის ტვინი გამოირჩევა კრეატინკინაზას მიტოქონდრიული იზოფორმის მაღალი შემცველობით [8].

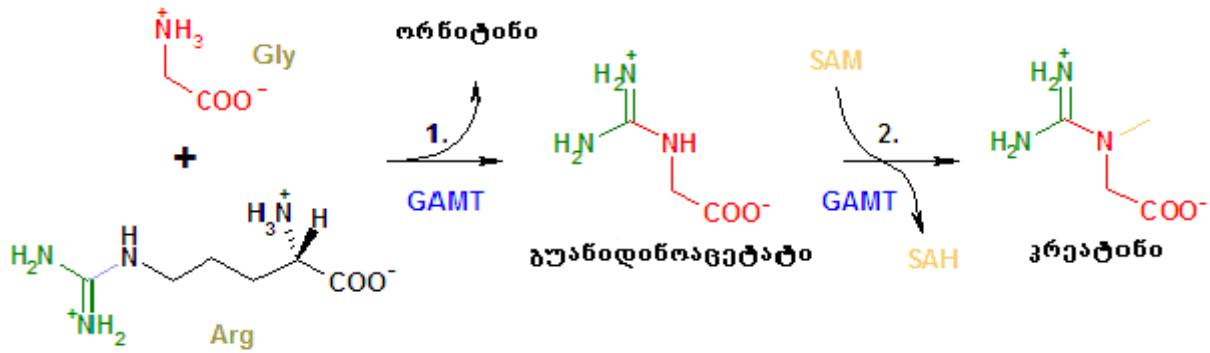
I.5 კრეატინი

კრეატინი წარმოადგენს ნიტროგენულ ორგანულ მჟავას, რომელიც ძირითადად ღვიძლში, პანკრეასსა და თირკმელში სინთეზირდება და შემდეგ სისხლის მიმოქცევის სისტემის მეშვეობით თაბის ტვინსა, გულს, კუნთებსა და სხვა ქსოვილებს მიეწოდება.

კრეატინის დამატებითი წყაროა ხორცეული და თევზეული საკვები. ვინაიდან სისხლი კრეატინს მიკრომოლალური რაოდენობით შეიცავს (10-50 μM), ხოლო მისი შიდაუჯრედული კონცენტრაცია ათობით მილიმოლს აღწევს (5-25 mM), ბუნებრივია კრეატინის უჯრედში შელწევა მხოლოდ აქტიური სატრანსპორტო მექანიზმის საშუალებითაა შესაძლებელი. ამ პროცესს აწარმოებს სპეციალური სატრანსპორტო ცილა - კრეატინის ტრანსპორტერი (CrT). ამ ცილის მოქმედება ნატრიუმის და ქლორის იონურ ტუმბოსთანაა შეუდლებული. ტუმბოს მიერ უჯრედში გადატანილი ნატრიუმის ყოველ ორ იონზე კრეატინის თითო მოლეკულის თანატრანსპორტი ხდება. ამდენად CrT-ის ფუნქციაა სისხლიდან კრეატინის პლაზმური მემბრანის მიღმა უჯრედში გადაქაჩვა, რაც კონცენტრაციული გრადიენტის საწინააღმდეგოდ ხორციელდება. უჯრედში კი კრეატინი ფერმენტ კრეატინკინაზას სუბსტრატს წარმოადგენს და ფოსფორილირების შედეგად ფოსფოკრეატინად გარდაიქმნება.

უჯრედში კრეატინის ბიოსინთეზი ორსაფეხურიანი პროცესია. რეაქციის პირველ ეტაპზე არგინინიდან ფერმენტ L-არგინინ-გლიცინამიდილიოტრანსფერაზას მიერ ამინომჟავა გლიცინის ამილირება ხდება. რეაქციის შედეგად L-ორნიტინი და გუანილინოაცეტატი (GAA) მიიღება.

ბიოსინთეზის მეორე და საბოლოო საფეხურზე GAA-ის მეთილირებით ენზიმ -ადენოზილ--მეთიონინ-გუანიდინოაცეტატ-მეთილტრანსფერაზას მიერ კრეატინი მიიღება (სურ.3)



სურათი 3. კრეატინის ბიოსინთეზი

კრეატინის ნორმალური მეტაბოლიზმს კრიტიკული მნიშვნელობა გააჩნია თავის ტვინის ნორმალური ფუნქციონირებისათვის. Cr/CK/PCr სისტემისა და კრეატინის მეტაბოლიზმის დარღვევები აღინიშნება შემდეგი ტიპის დაავადებების დროს, როგორებიცაა: კუნთოვანი დისტროფია, ჰიპოქსიურ-იშემიური ენცეფალომიოპათია და სხვა [14; 66].

ზოგიერთ ამ დაავადებას კრეატინის ცხადად გამოხატული დამცველობითი-პროფილაქტიკური ეფექტი გააჩნია. ის წარმოადგენს მეტაბოლური სტრესით, გლუტამატის ტოქსიკურობითა და ჟანგვითი დაზიანებით გამოწვეული უჯრედების კვდომის თავიდან აცილების საკმაოდ ეფექტურ საშუალებას. თუ რა გზით მიმდინარეობს ეს პროცესი დღემდე გაურკვეველია. ასევე მწირია მონაცემები იმის თაობაზე, თუ რა გავლენა აქვს კრეატინს ნორმალურ და განვითარებად თავის ტვინზე.

I.6.3. ალდოლაზა

ალდოლაზა არის ფერმენტი, რომელიც აკატალიზებს ალდოლურ რეაქციებს. მისი სუბსტრატია ფრუქტოზო-1,6-დიფოსფატი, რომელსაც ხლეჩს გლიცერალდეჰიდ-3-ფოსფატად და დიჰიდროაცეტონ ფოსფატად. რეაქცია გლიკოლიზის ნაწილია.

3 ალდოლაზური იზოენზიმი (A,B,C) კოდირებულია 3 სხვადასხვა გენით. სხვადასხვანაირად მქდავანდება განვითარების დროს. ალდოლაზა A აღმოჩენილია ემბრიონის განვითარების დროს და პროდუცირდება დიდი რაოდენობით მოზრდილი ადამიანის კუნთებში.

ალდოლაზა C აღმოჩენილია თავის ტვინში და ნერვულ ქსოვილში.

ალდოლაზა A ნაკლებობამ შესაძლებელია გამოიწვიოს მიოპათია და ჰემოლიტიკური ანემია.

ალდოლაზა B - აგრეთვე ცნობილია როგორც ALDOB.

ალდოლაზა B - არის იზოფერმენტი ფრუქტოზო-1,6-დიფოსფატისა, რომელიც ხლეჩს ამ უკანასკნელს გლიცერილალდეჰიდ და დიჰიდროაქეტონფოსფატად. რეაქცია შებრუნებულია [78,79].

ზემოთქმულიდან გამომდინარე ჩვენი კვლევის მიზანია თეთრი ვირთაგვას სისხლსა და კარდიომიოციტებში მიმდინარე ენერგეტიკული მეტაბოლიზმისა და ანტიოქსიდანტური სისტემის ფუნქციონირების დადგენა ფსიქო-ემოციური სტრესის მიმდინარეობისას.

I.6.4. სუქცინატდეჰიდროგენაზა, აკონიტაზა , ფუმარაზა

სუქცინატდეჰიდროგენაზა, აკონიტაზა და ფუმარაზა წარმოადგენენ კრებსის ციკლის ფერმენტებს. კრებსის ციკლის რეაქციები მიტოქონდრიების გარეთა მემბრანაზე მიმდინარეობს 8 სტადიად.

იზომერიზაციის რეაქციას წარმართავს ფერმენტი *აკონიტაზა*, რომლის დროსაც ლიმონის მჟავა (ციტრატ) გარდაიქმნება იზოლიმონის მჟავად (იზოციტრატად). აკონიტაზა შეიცავს რკინა სულფიდურ კლასტერს, მისი ციტოპლაზმური იზოენზიმი ცნობილია, როგორც iron responsive protein და მონაწილეობს რკინის ჰომეოსტაზში.

სუქცინატდეჰიდროგენაზა წარმოადგენს ფერმენტულ კომპლექსს, რომელიც მიტოქონდრიის შიდა მემბრანასთანაა ასოცირებული. იგი ლიმონმჟავას ციკლის ფერმენტი, კერძოდ მისი მეშვეობით ხორციელდება სუქცინატის დეჰიდრირება, რის შედეგადაც წარმოიქმნება ფუმარატი (ფუმარის მჟავა). ფერმენტის პროსთეტულ ჯგუფს წარმოადგენს დაჟანგული FAD⁺, რომელიც რეაქციის მსვლელობისას წყალბადის ორ ატომს იკავშირებს და აღდგება FADH₂ –მდე. ფერმენტი აღმოჩენილია ბევრ აერობულ და ანაერობულ ორგანიზმში (მაგ: E.coli). ფერმენტული კომპლექსი ჰეტეროტეტრამერულია, და 3 ძირითადი ნაწილითაა წარმოდგენილი, კერძოდ კატალიზური, ელექტრონების გადამტანი და β ტიპის ჰემის შემცველი დომენებით [78,79].

სუქცინატდეჰიდროგენაზა აქტიურადაა ჩართული მთელი რიგი პათოლოგიის ჩამოყალიბებაში. მაგალითად ფერმენტის ზოგიერთი მუტაცია ენცეფალომიოპათიისა და პარაგანგლიომას მიზეზია .

სუქცინატის დეჰიდრირებით მიღებულ ფუმარატს ფერმენტი *ფუმარაზა* ჰიდრატირების გზით გადრეჰიდრატის მალატად. არსებობს ფერმენტის ორი ფორმა: ციტოზოლური და მიტოქონდრიული . მიტოქონდრიული იზოფორმა მონაწილეობს კრებსის ციკლში, ხოლო ციტოზოლური იზოფორმა კი ამინომჟავებისა და ფუმარატის მეტაბოლიზმში.

ზემოთქმულიდან გამომდინარე ჩვენი კვლევის მიზანია თეთრი ვირთაგვას სისხლსა და კარდიომიოციტებში ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობის დადგენა ცხოველების იზოლირებისა და დღე-ღამური რითმის დარღვევის პირობებში.

II. კვლევის ობიექტები და მეთოდები

II.1. კვლევის ობიექტი

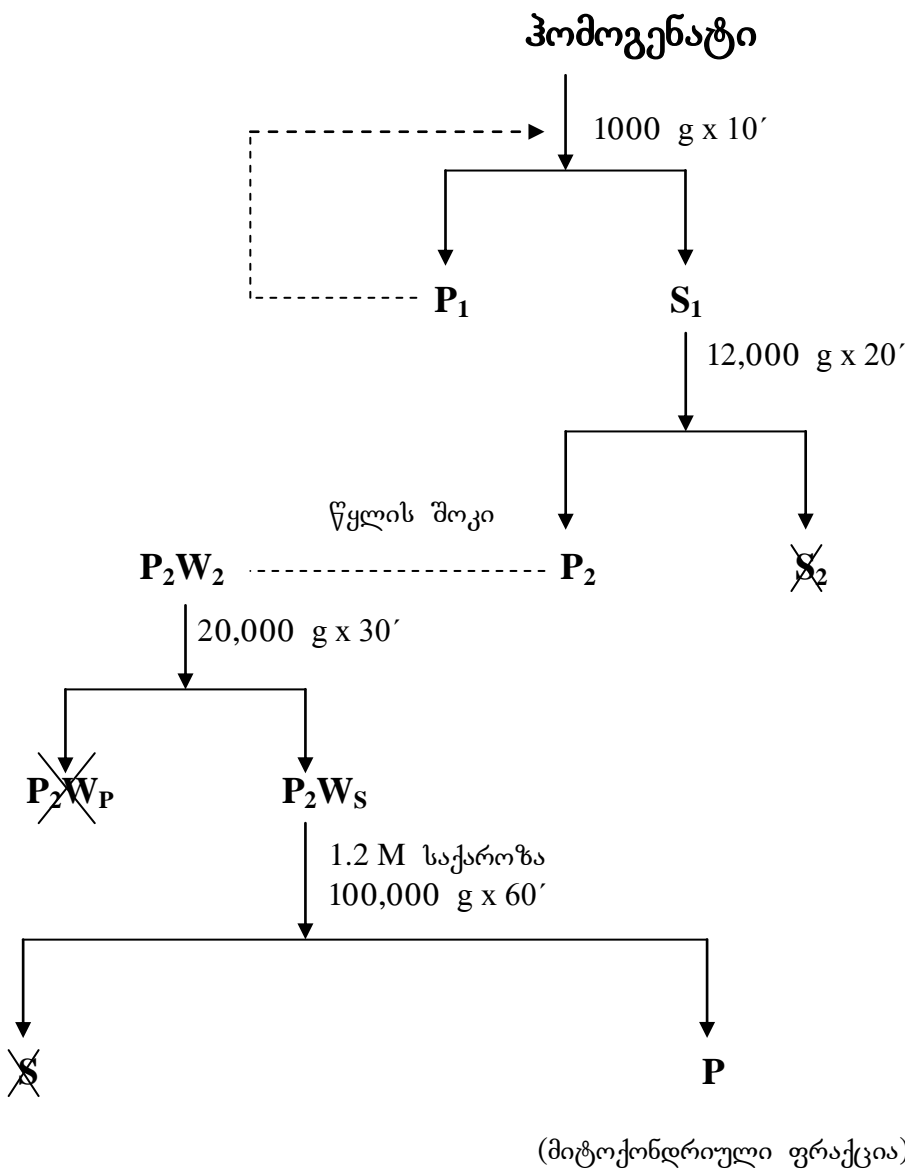
ცდები ჩატარებულია მამრობითი სქესის თეთრ, ლაბორატორიულ ვირთაგვებზე. იზოლაციის მიზნით ვირთაგვებს ვათავსებდით ინდივიდუალურ გალიებში, სიბნელის პირობებში (თანაფარდობა სიბნელესა და სინათლეს შორის შეადგენდა 23.5სთ/0.5სთ.). ისინი იმყოფებოდნენ სრულ მხედველობით იზოლაციაში. ყნოსვა და სმენა შეზღუდული არ იყო. ცხოველებს საკვები და წყალი ეძლეოდათ შეუზღუდავად. ასეთ პირობებში ვირთაგვები იმყოფებოდნენ 30 დღის განმავლობაში. კონტროლად ვიყენებდით ვირთაგვებს, რომლებიც მოთავსებულნი იყვნენ ერთად, საერთო გალიაში, ჩვეულებრივ პირობებში (თანაფარდობა სიბნელესა და სინათლეს შორის შეადგენდა 10.00/14.00სთ.).

30-დღიანი პერიოდის შემდეგ ვირთაგვებს ვადინებდით და ვახდენდით მათ დეკაპიტაციას.

II.2. სუბუჯრედული ფრაქციების მიღება დე-რობერტისის მიხედვით

თავის ტვინის მიტოქონდრიულ ფრაქციას ვიღებდით დიფერენციალური ცენტრიფუგირებით საქაროზას გრადიენტში [159]:

1. ვიღებდით ლაბორატორიული ვირთაგვების თავის ტვინის სუმარულ მასალას ჯგუფების მიხედვით: საკონტროლო და საცდელი (სტრესირებული).
2. ვახდენდით მათ ჰომოგენიზაციას საქაროზას გრადიენტში (0.32M).
3. ვიღებდით სუფთა მიტოქონდრიულ ფრაქციებს დიფერენციალური ცენტრიფუგირებით საქაროზას გრადიენტში:



II.3. სეროტონინისა და კორტიკოსტერონის რაოდენობრივი განსაზღვრა

სეროტონინისა და კორტიკოსტერონის რაოდენობას ვსაზღვრავდით ELISA ტესტ-სისტემების საშუალებით, იმუნოფერმენტული მეთოდით (Serotonin ELISA kit; Corticosterone ELISA kit, IBL International).

II.4. ფერმენტ აკონიტაზას აქტივობის განსაზღვრა

ფერმენტ აკონიტაზას აქტივობის დასადგენად ნატიურ მიტოქონდრიებს ვამუშავებდით ბუფერით, რომელიც შეიცავდა 100 mM ტრის-HCl-ის ბუფერზე (pH=7.4) დამზადებულ 0.1%-იან ტრიტონ X-100-ს და ნატრიუმის ციტრატს. მიღებულ ნალექს ვუმატებდით საინკუბაციო არეს (150 mM ტრის-HCl-ის ბუფერზე დამზადებული: 8.6 mM ცის-აკონიტატი, 60 mM MgCl₂, 0.04 U იზოციტრატ დეჰიდროგენაზა, 125 mM ნადP, 240 mM MTT და 80 mM ფენაზილ მეტოსულფატი (PMS); pH=8.6), ვაყოვნებდით 15 წთ. ოთახის ტემპერატურაზე და ვაცენტრიფუგირებდით (3000 g x 10').

სუპერნატანტში ცის აკონიტის მჟავას გარდაქმნის პროდუქტს ვსაზღვრავდით სპექტროფოტომეტრულად ($\lambda=240$ ნმ) [165].

ფერმენტ კატალაზას აქტივობას ვითვლიდით 1 მგ ცილაზე გადაანგარიშებით (U/მგ ცილა).

II.5. ფერმენტ ფუმარაზას აქტივობის განსაზღვრა

ფერმენტ ფუმარაზას აქტივობას ვსაზღვრავდით ფერმენტის იმ რაოდენობის მიხედვით, რომელიც საჭიროა 1 წუთში 1 M ფუმარის მჟავას (ფუმარატი) დასასინთეზირებლად.

მიტოქონდრიულ სუსპენზიას ვამუშავებდით ტრის-HCl-ის ბუფერით (pH=8.6), რომელიც შეიცავდა 30 mM კალიუმის ფოსფატს და 0.1 mM L-მალატს.

ნარეკს ვაყოვნებდით 15 წუთი ოთახის ტემპერატურაზე და ვაცენტრიფუგებდით (3000 g x 10').

სუპერნატანტში ფუმარატის რაოდენობას ვსაზღვრავდით სპექტროფოტომეტრულად ($\lambda=240$ ნმ) [166].

II.6. ფერმენტ სუქცინატდეჰიდროგენაზას აქტივობის განსაზღვრა

ფერმენტ სუქცინატდეჰიდროგენაზას აქტივობის განსაზღვრავად ვიყენებდით აბესა და მატსუკის მოდიფიცირებულ მეთოდს [167].

ექსპერიმენტის საწყის ეტაპზე 500 μ ლ მიტოქონდრიულ ფრაქციას ვუმატებდით 1 მლ HBM ბუფერს (140 mM NaCl, 5 mM KCl, 5 mM NaHCO₃, 1.1 mM MgCl₂ x 6H₂O, 1.2 mM Na₂HPO₄, 1.2 mM CaCl₂, 5.5 mM C₆H₁₂O₆ და 20 mM HEPES; pH=7.4) და ვაცენტრიფუგირებდით (16,000 rpm x 10').

შემდეგ ეტაპზე მიღებულ ნალექს ვასუსპენზირებდით 500 μ ლ 3-(4,5-დიმეთილტეტრაზოლ-2)-2,5-დიფენილტეტრაზოლინის ბრომიდი (MTT) (0.5 მგ/მლ) დამზადებული HBM ბუფერში. მიღებულ სუსპენზიას ვაინკუბირებდით 45 წუთის განმავლობაში 37°C-ზე და ვაცენტრიფუგირებდით (16,000 rpm x 10'). მიღებულ ნალექს ვხსნიდით 800 μ ლ დიმეთილსულფოქსიდში, ვანჯლრევდით საღებავის გადმოსვლამდე და კვლავ ვაცენტრიფუგირებდით (16,000 rpm x 5').

შემდგომ ეტაპზე ვსაზღვრავდით მიღებული სუპერნატანტის შუქშთანტქმის სიდიდეს სპექტროფოტომეტრულად ($\lambda=540$ ნმ).

ფერმენტ სუქცინატდეჰიდროგენაზას აქტივობას ვითვლიდით 1 მგ ცილაზე (U/მგ ცილა) გადაანგარიშებით.

II.7. ფერმენტ კრეატინკინაზას აქტივობის განსაზღვრა

კრეატინკინაზულ აქტივობას ვსაზღვრავდით შუმანისა და სხვათა მოდიფიცირებული მეთოდით [170-172].

ექსპერიმენტის საწყის ეტაპზე ვამზადებდით სამუშაო რეაგენტს, რომელიც შეიცავდა იმიდაზოლის ბუფერზე დამზადებულ პირველ რეაქტივს (20 mM გლუკოზა, 10 mM მაგნიუმის აცეტატი, 2 mM EDTA, 5 mM აფ, 0.2 mM N-აცეტილციტეინი, 10 μ M ლიადენოზინ პენტაფოსფატი, 2 mM ნადფ, >4 U ჰექსოკინაზა, 25 mM SH-სტაბილიზატორი; pH=6.5) და მეორე რეაქტივს (2 mM აფ, >2.8 U G6P-DH, 30 mM კრეატინფოსფატი), შეფარდებით 4:1.

შემდგომ ეტაპზე 50 μ ლ მიტოქონდრიულ სუსპენზიას ვუმატებდით 1 მლ სამუშაო რეაგენტს, ვურევდით და ვახდენდით მის ინკუბაციას 5 წუთის განმავლობაში 37°C-ზე, რის შემდეგაც ვზომავდით ხსნარის შუქშთანტქმის სიდიდეს სპექტროფოტომეტრულად ($\lambda=340$ ნმ) 1, 2, 3 წუთის შემდეგ (A_1, A_2, A_3).

ფერმენტის აქტივობას ვითვლიდით შემდეგი ფორმულით:

$$E = \Delta A \times 6508 \text{ } \mu\text{კატ/ლ}$$

სადაც:

E - ფერმენტის აქტივობაა,

$$\Delta A = \frac{(A_1 + A_2 + A_3)}{3} - \text{მიღებული შუქშთანთქმის სიდიდეთა საშუალო}$$

ფერმენტ კრეატინკინაზას აქტივობას ვითვლიდით 1 მგ ცილაზე გადაანგარიშებით (U/მგ ცილა).

II.8. კრეატინის რაოდენობრივი განსაზღვრა

კრეატინის რაოდენობას ვსაზღვრავდით ბარტელის და პოპერის მოდიფიცირებული მეთოდების მიხედვით [168; 169].

სამუშაო ხსნარი შეიცავდა ნატრიუმის ჰიდროქსიდისა (0.4 M) და პიკრინის მჟავის (26 mM) ნარევის შეფარდებით 1:1.

სტანდარტული ხსნარი შეიცავდა კრეატინს (176.8 μM)

100 μL ნიმუშს/სტანდარტს ვუმატებდით 1000 μL სამუშაო ხსნარს, ვურევდით და ვაყოვნებდით ოთახის ტემპერატურაზე 30 წუთი განმავლობაში, რის შემდეგაც წარმოქმნილ ნარინჯისფერ შეფერილობას ვზომავდით სპექტროფოტომეტრულად, $\lambda=492$ ნმ ჰაერის საწინააღმდეგოდ და ვაფიქსირებდით მიღებულ სიდიდეს (A_1), ნარევის კვლავ ვზომავდით 2 წთ-ის შემდეგ და ვაფიქსირებდით მიღებულ შუქშთანთქმას (A_2).

მიღებული მონაცემებს ვსვამდით ფორმულაში, რის საშუალებითაც ვადგენდით კრეატინის რაოდენობას (μM):

$$C = 176.8 \times \frac{\Delta A}{\Delta A_{st}} \text{ } \mu\text{M}$$

სადაც,

$$\Delta A = A_2 - A_1$$

$$\Delta A_{st} = A_{2st} - A_{1st}$$

კრეატინის რაოდენობას ვითვლიდით 1 მგ ცილაზე გადაანგარიშებით (M/მგ ცილა).

II.4. ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრა ლოურის მეთოდით

ფოლინ-ჩოკალტეუს ფენოლურ რეაქტივთან ცილის მოლეკულის შემადგენლობაში არსებული ამინომჟავები (ცისტეინი, თიროზინი) წარმოქმნიან ლურჯი შეფერილობის კომპლექსს. ეს უკანასკნელი ფოლინის ალდგენის შედეგად წარმოიქმნება [174].

ექსპერიმენტის პირველ ეტაპზე 0.4 მლ მიტოქონდრიულ სუსპენზიას ვუმატებდით 2 მლ C რეაქტივს, რომელიც თავის მხრივ მზადდება A (Na_2CO_3 -ის (უწყლო) 2%-იანი ხსნარი დამზადებული 1 N NaOH-ზე) და B (0.5%-იანი $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ დამზადებული 1 %-იან ნატრიუმის ციტრატზე) რეაქტივების ურთიერთშერევით (50:1), ვურევდით და ვაყოვნებდით 10 წუთის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე.

შემდგომ ეტაპზე ნარევს ვუმატებდით 200 μl ფოლინის რეაქტივს, ვურევდით და ვაყოვნებდით 30 წუთის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე.

მიღებულ შეფერილობას ვზომავდით სპექტროფოტომეტრულად ($\lambda=750$ ნმ) და ვითვლიდით ცილის კონცენტრაციას შემდეგი ფორმულით:

$$C = K \times E_{\lambda} \text{ მგ/მლ}$$

სადაც:

C - ცილის კონცენტრაციაა

E_λ - მიღებული შუქმთანთქმის საშუალო სიდიდეა

K - მუდმივაა (0.3171)

III. მიღებული შედეგები და მათი ანალიზი

გარემოში მიმდინარე ცვლილებები გარკვეულ ასახვას ჰპოვებს ორგანიზმზე და რა თქმა უნდა, ეს ყველაზე უკეთ უჯრედულ დონეზე აღიქმება. საწყის ეტაპზე ცოცხალი სისტემა ცდილობს შეძლებისდაგვარად შეეწინააღმდეგოს ამა თუ იმ გარეგანი ფაქტორის გავლენას სხვადასხვა კომპენსატორული მექანიზმების გაძლიერებით, რათა შეინარჩუნოს ჰომეოსტაზური მდგომარეობა.

აღნიშნული პროცესი შესაძლოა ორი, რადიკალურად განსხვავებული გზით წარიმართოს, ანუ მოხდეს შეგუება ახალ პირობებთან - ადაპტაცია, ან პირიქით - დეგრადაცია, რაც ადაპტაციის მსგავსად საფეხურებრივი პროცესია, მაგრამ მისგან განსხვავებით, მას სისტემის დაღუპვა მოსდევს.

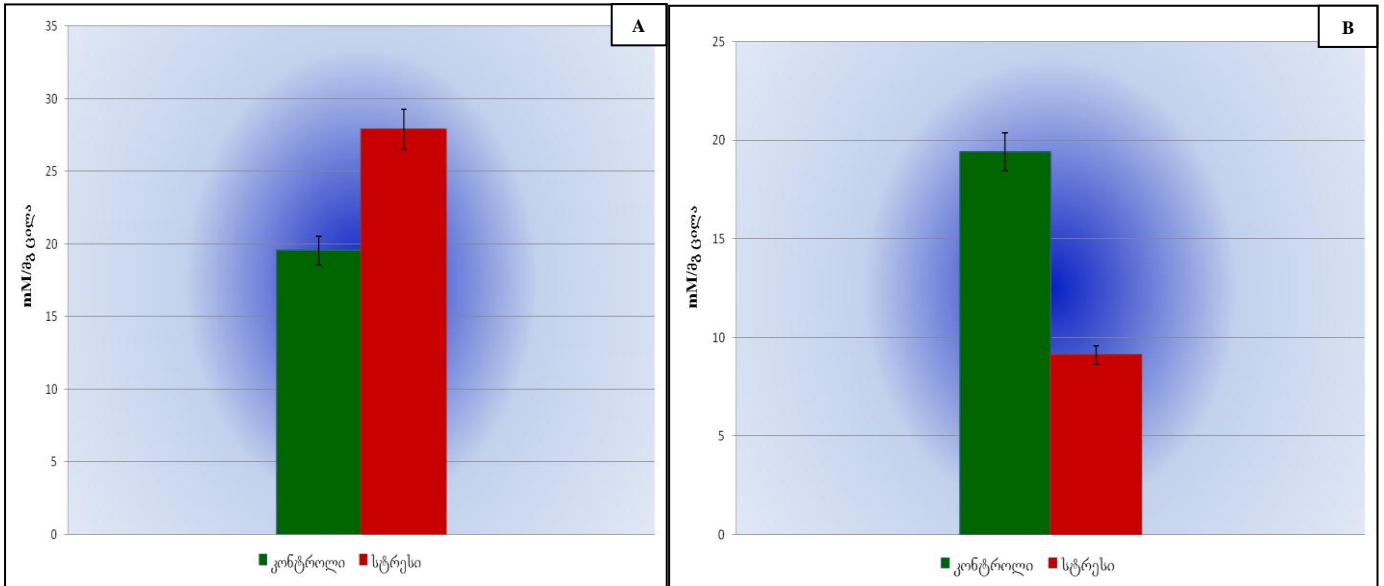
სამეცნიერო ლიტერატურიდან ცნობილია ხანგრძლივი ფსიქოემოციური სტრესის უარყოფითი გავლენის შესახებ ორგანიზმის ბუნებრივ ცხოველქმედებაზე, რაც მრავალი პათოლოგიური პროცესის მაპროვოცირებელი შეიძლება გახდეს და ლეტალური შედეგითაც კი დამთავრდეს. ამ კუთხით მრავალი კვლევაა ჩატარებული, რომლებიც აღნიშნულ პირობებში უჯრედული მეტაბოლიზმის მიმდინარეობის სხვადასხვა თავისებურებას აჩვენებენ.

ჩვენთვის საინტერესო იყო შეგვესწავლა ვირთავას თავის ტვინში იზოლაციითა და დღე-ღამური რიტმის დარღვევით გამოწვეული ფსიქოემოციური სტრესის პირობებში მიტოქონდრიაში მიმდინარე მეტაბოლური და სტრუქტურული ცვლილებები.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ბუნებრივი გარემო პირობების ცვლილების გავლენა მიტოქონდრიაში ჟანგვითი სტრესი მიმდინარეობაზე, ანტიოქსიდანტური და ენერგეტიკული სისტემების ფუნქციონირებასა და მიტოქონდრიული გარდამავალი განვლადობის ფორის (MPTP) ფუნქციურ მდგომარეობაზე.

ცდების საწყის ეტაპზე შესწავლილი იყო საკვლევი ინდივიდების ჰორმონალური სტატუსი, რათა უკეთ წარმოგვეჩინა ხანგრძლივი ფსიქოემოციური სტრესის უარყოფითი გავლენა, რის მარკერადაც სწორედ აღნიშნული მაჩვენებელია აღიარებული. მიღებული მონაცემები წარმოადგენილია სურათზე 1.

როგორც სურათიდან ჩანს, ცხოველების იზოლირება და დღე-ღამური რიტმის დარღვევა მნიშვნელოვან ზეგავლენას ახდენს ორგანიზმის ჰორმონალურ სტატუსზე, კერძოდ, ჰორმონები: სეროტონინი და კორტიკოსტერონი საკმაოდ არაერთგვაროვნად იცვლებიან.



სურათი 1. სეროტონინისა (A) და კორტიკოსტერონის (B) რაოდენობრივი ცვლილებები 30 დღიანი იზოლაციისა და დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში

*აბსცისათა ღერძზე - ჰორმონების კონცენტრაცია გამოსახული (mM/მგ ცილა)
 ორდინატთა ღერძზე - საცდელი (წითელი ფერის სვეტი) და საკონტროლო (მწვანე ფერის სვეტი) ჯგუფები*

აღნიშნული ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებები მიჩნეულია, როგორც სტრესული და აგრესიული მდგომარეობების პირდაპირი ბიოქიმიური მარკერები და ცნობილია, რომ მათი რაოდენობა ამა თუ იმ პირობებში ანტაგონისტურად იცვლება, თუმცა ჯერ-ჯერობით ზუსტად დადგენილი არ არის მათი რაოდენობრივი ურთიერთდამოკიდებულების სპეციფიკა, რადგან არსებობს მონაცემები სტრესულ მდგომარეობებში, როგორც ერთი, ისე მეორე ჰორმონის სიჭარბის შესახებ [21; 34].

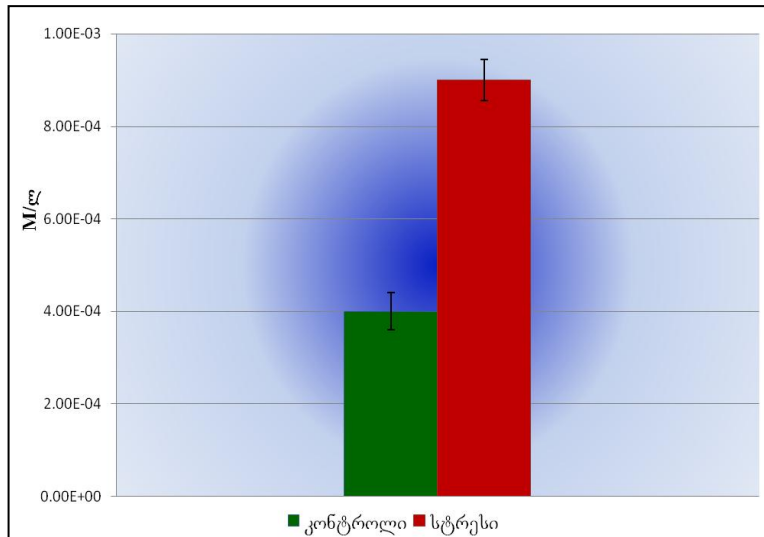
როგორც სურათიდან ჩანს ხანგრძლივი ფსიქომოციური სტრესის შედეგად სეროტონინის (კონცენტრაცია ~42%-ით იზრდება სურ. 1A), ხოლო პარალელურად კორტიკოსტერონი ~71.4%-ით მცირდება (სურ. 1B).

მიღებული მონაცემები მანიშნებელია შესწავლილ პირობებში განვითარებული მძიმე სტრესული ფონისა, რაც საშუალებას იძლევა დავასკვნათ, რომ ხანგრძლივი იზოლაცია და დღე-ღამური რიტმის დარღვევა სტრესული მდგომარეობის რეალური ინდიკატორია, თუმცა გარკვეულ სირთულეებთან არის დაკავშირებული იმის ზუსტად განსაზღვრა, თუ რა მექანიზმით ხდება შესწავლილ პირობებში აღნიშნული ჰორმონების რაოდენობრივი ცვლილება, რაც გამოწვეული შეიძლება იყოს სტრესული ფაქტორების როგორც პირდაპირი, ასევე არაპირდაპირი მოქმედებითაც.

შემდგომ ეტაპზე საინტერესო იყო დაგვედგინა, თუ რომელი უარყოფითი პროცესების გააქტივება ხდება ფსიქომოციური სტრესის დროს. კერძოდ, თუ როგორ მოქმედებს აღნიშნული პირობები უჯრედულ მეტაბოლიზმზე, რასაც პირველ რიგში სასიგნალო სისტემებზე ექნება ასახვა.

თანამედროვე სამეცნიერო ლიტერატურაში ცნობილია Ca^{2+} -ის იონის, როგორც მნიშვნელოვანი მესენჯერის როლი სხვადასხვა მეტაბოლურ პროცესებსა და ნეიროგადაცემაში.

ზემოთქმულიდან გამომდინარე, საინტერესო იყო განგვესაზღვრა Ca^{2+} -ის იონის რაოდენობა თავის ტვინის მიტოქონდრიებში ხანგრძლივი ფსიქომოციური სტრესის პირობებში, ამასთან ყურადსაღებია ის ფაქტიც, რომ Ca^{2+} -ის იონი გვევლინება, როგორც სხვადასხვა მეტაბოლური პროცესების ინიციატორი, მათ შორის აზოტის ოქსიდის პათოლოგიური სინთეზისა და მიტოქონდრიის გარდამავალი განვლადობის ფორის - MPTP-ის გამაქტივებელი, რაც მრავალი დაავადების გამომწვევ მიზეზად გვევლინება.



სურათი 3. კალციუმის იონის (Ca^{2+}) რაოდენობა საკონტროლო და საცდელი ცხოველების თავის ტვინის მიტოქონდრიულ ფრაქციაში
აბსცისათა ღერძზე - Ca^{2+} -ის იონის კონცენტრაცია (M/ლ)
ორდინატთა ღერძზე - საცდელი (წითელი ფერის სვეტი) და საკონტროლო (მწვანე ფერის სვეტი) ჯგუფები

როგორც სურათიდან 3 ჩანს, Ca^{2+} -ის იონის კონცენტრაცია საცდელი ცხოველების მიტოქონდრიულ ფრაქციაში, საკონტროლოსთან შედარებით მკვეთრად იზრდება (~100%).

მიღებული მონაცემებიდან სავარაუდოა, რომ ხანგრძლივი ფსიქომოციური სტრესი მნიშვნელოვან ზეგავლენას ახდენს სასიგნალო მოლეკულებზე, კერძოდ პირველად და მეორეულ

მესენჯერებზე, რაც თავის მხრივ, სხვადასხვა პათოლოგიური უჯრედშიდა პროცესების ინიცირებას უნდა იწვევდეს.

ამასთან, აღსანიშნავია, რომ კალციუმის იონი მნიშვნელოვან ფაქტორს წარმოადგენს სეროტონინისა და კორტიკოსტერონის სინთეზის პროცესშიც. კერძოდ, მისი სიჭარბე გვევლინება, როგორც სეროტონინერგული სისტემის აქტივატორი და შესამჩნევად ბლოკავს კორტიკოსტერონის სინთეზს [175]. აღნიშნულით შეიძლება აიხსნას 30-დღიანი ფსიქოემოციური სტრესის პირობებში სისხლში სეროტონინისა და კორტიკოსტერონის რაოდენობრივი ცვლილებების სპეციფიკა (სურ.1).

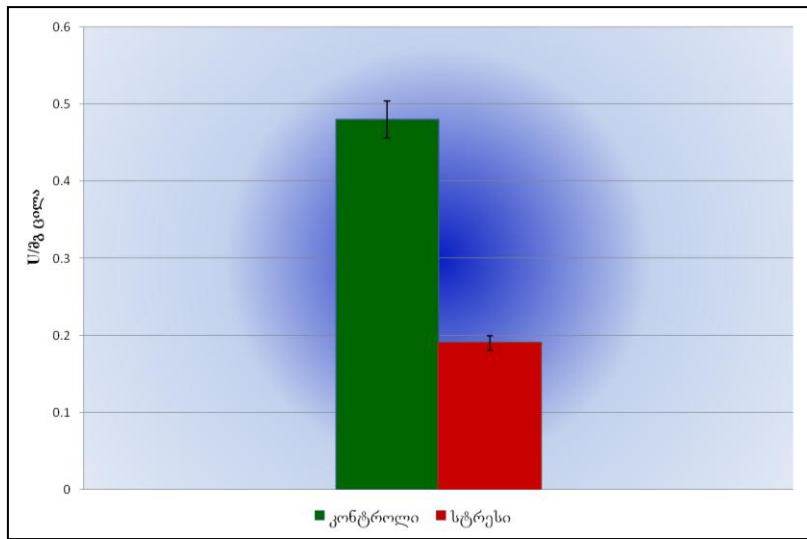
სავარაუდოა, რომ მიტოქონდრიებში კალციუმის რაოდენობის ზრდა შედეგია უჯრედგარე მატრიქსში ამ იონის რაოდენობის ზრდის, რაც სავარაუდოდ, თავის ეფექტებს ორი მიმართულებით ახორციელებს, კერძოდ, იწვევს სეროტონინის სეკრეციის ზრდას და კორტიკოსტერონის – შემცირებას [175]. ამავე დროს, უჯრედგარე არეში იონის რაოდენობის მატება შესაბამისად იწვევს უჯრედის შიგნით მისი რაოდენობის ზრდასაც. უჯრედშიდა არეში მომატებული კალციუმის ეფექტი შესაძლებელია ორი მიმართულებით წარიმართოს. კერძოდ - Ca^{2+} -ინდუცირებადი არხების გახსნა არხის შემადგენლის ცილების ფოსფორილირებისა და გააქტივების ხარჯზე და უჯრედში დამატებითი იონის შემოსვლა, რაც თავის მხრივ მიტოქონდრიული Ca -ატფ-აზას გამააქტივებელია და ხელს უწყობს მის შეღინებას მიტოქონდრიებში და რაოდენობრივ მატებას, ხოლო მეორეს მხრივ NO -სინთაზას გააქტივებას.

გამოთქმული მოსაზრების საფუძველზე შეგვიძლია ვივარაუდოთ, რომ შესწავლილი პირობები პირველ რიგში ახდენენ გავლენას ეგზოგენური Ca^{2+} -ის რაოდენობაზე, რომელსაც თავის მხრივ აღწერილი მექანიზმების აქტივაცია შეუძლია.

ცნობილია, რომ უჯრედული ცხოველქმელების უმნიშვნელოვანესი ფაქტორია სისტემის ენერგეტიკული ჰომეოსტაზი, ანუ ენერგია, რომელიც ადენოზინტრიფოსფორმჟავას (ატფ) სახით არსებობს. ატფ-ის მოხმარება მუდმივ, დაბალანსებულ წონასწორობაში უნდა იყოს მის სინთეზთან, ამისათვის კი უჯრედში ფუნქციონირებს კარგად ცნობილი მეტაბოლური გზები, რომლებიც ციტოზოლსა და მიტოქონდრიაში მიმდინარეობს და ორგანულ ნაერთთა საფენურობრივი კატაბოლიზმის შედეგად ატფ-ის ენერგიის სინთეზს ახდენს [176]. ამის გათვალისწინებით, საინტერესო იყო შეგვეფასებინა იზოლაციისა და დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში უჯრედის ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმში მიმდინარე ცვლილებები, რისთვისაც განვსაზღვრეთ კრების ციკლის ფერმენტების აკონიტაზას, ფუმარაზას და სუქცინატდეჰიდროგენაზას აქტივობა, რადგან ცნობილია, რომ მათ მიერ წარმოებული რეაქციები ე.წ. მაღიმიტირებელ ეტაპებს

წარმოადგენენ ჟანგვა-აღდგენითი ექვივალენტების წარმოქმნის პროცესის ნორმალური მიმდინარეობისათვის.

როგორც სურათიდან 6 ჩანს, ხანგრძლივი ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში ფერმენტ აკონიტაზას აქტივობა, რომელიც კრების ციკლის საწყისი ეტაპის ფერმენტია, ~60.5%-ითაა შემცირებული. სავარაუდოა, რომ აკონიტაზას აქტივობის დაქვეითების მიზეზი იყოს მის აქტიურ ცენტრში არსებული რკინა-გოგირდოვანი უბანი, რომელიც დამჟანგავი აგენტების მიმართ საკმაოდ სენსიტიურია, რაც იწვევს ფერმენტული აქტივობის მკვეთრ კლებას.

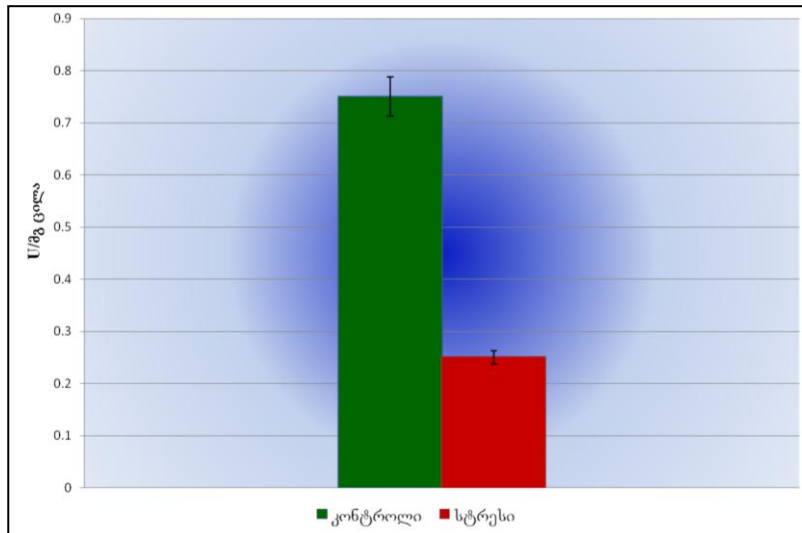


სურათი 6. აკონიტაზას ფერმენტული აქტივობის ცვლილება მიტოქონდრიულ ფრაქციაში 30 დღიანი იზოლაციისა და დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში

აბსცისათა ღერძზე - აკონიტაზას ფერმენტული აქტივობა (U/მგ ცილა)

ორდინატთა ღერძზე - საცდელი (წითელი ფერის სვეტი) და საკონტროლო (მწვანე ფერის სვეტი) ჯგუფები

შემდგომ ცდებში შესწავლილი იყო კრების ციკლის კიდევ ერთი ფერმენტი სუქცინატდეჰიდროგენაზა. აღმოჩნდა, რომ ფერმენტის აქტივობა, აკონიტაზას ანალოგიურად მკვეთრად კლებულობს. როგორც სურათიდან 7 ჩანს 30 დღიანი იზოლაციისა და დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში ფერმენტის აქტივობა ~66.7%-ითაა შემცირებული. მიღებული შედეგები მიუთითებს, რომ შესწავლილ პირობებში ორგანიზმი განიცდის მწვავე ენერგეტიკულ დისბალანსს, რაც არამარტო კრების ციკლში მიმდინარე ცვლილებებით, არამედ საკუთრივ სუნთქვის ჯაჭვის კომპლექსებში მიმდინარე სტრუქტურულ-ფუნქციური ცვლილებებით შეიძლება იყოს გამოწვეული.

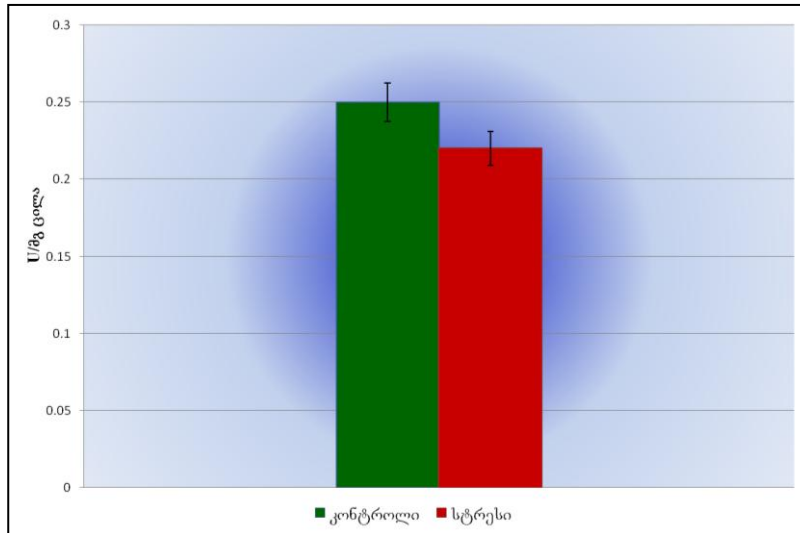


სურათი 7. სუქცინატდეჰიდროგენაზას ფერმენტული აქტივობის ცვლილება მიტოქონდრიულ ფრაქციაში 30 დღიანი იზოლაციისა და დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში

აბსცისათა ღერძზე - ფუმარაზას ფერმენტული აქტივობა (U/მგ ცილა)

ორდინატთა ღერძზე - საცდელი (წითელი ფერის სვეტი) და საკონტროლო (მწვანე ფერის სვეტი) ჯგუფები

რაც შეეხება ფერმენტ ფუმარაზას, მისი აქტივობის ცვლილება პრაქტიკულად არ აღინიშნება. როგორც სურათიდან 8 ჩანს მისი აქტივობა გაცილებით ნაკლებად მცირდება, ვიდრე წინა შემთხვევებში შესწავლილი ფერმენტების, რაც გამოწვეული უნდა იყოს ფერმენტის სტრუქტურით, რომელიც შედარებით უფრო მდგრადია თავისუფალრადიკალური ჟანგვისადმი, რადგან მის პროსთეტიულ ჯგუფში არა არის წარმოდგენილი მეტალური იონები. ამასთან, ისიც გასათვალისწინებელია, რომ შესაძლოა მსგავსი ცვლილება სუბსტრატის ნაკლებობითაც იყოს გამოწვეული, რისი ერთ-ერთი მიზეზი სავარაუდოა, რომ აკონიტაზასა და სუქცინატდეჰიდროგენაზას ინჰიბიციაც გახდეს.



სურათი 8. ფუმარაზას ფერმენტული აქტივობის ცვლილება მიტოქონდრიულ ფრაქციაში 30 დღიანი იზოლაციისა და დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში

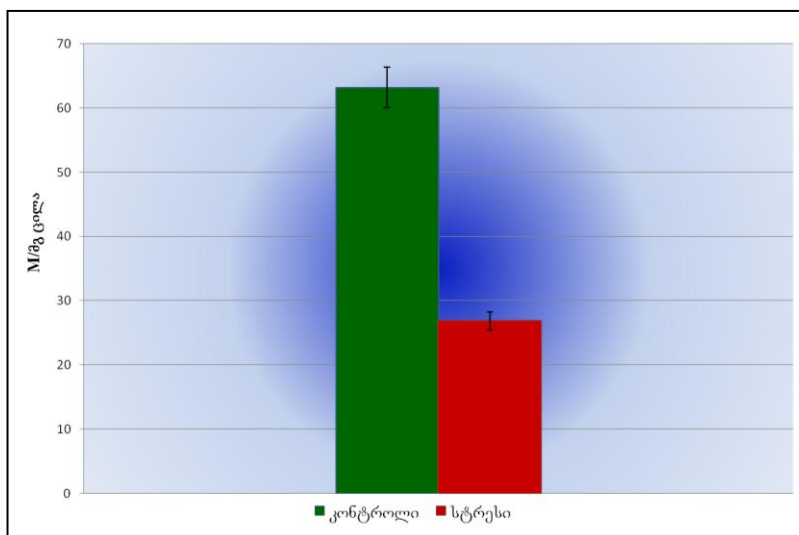
აბსცისისათა ღერძზე - ფუმარაზას ფერმენტული აქტივობა (U/მგ ცილა)

ორდინატთა ღერძზე - საცდელი (წითელი ფერის სვეტი) და საკონტროლო (მწვანე ფერის სვეტი) ჯგუფები

სამეცნიერო ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ ზემოთაღნიშნული მეტაბოლური გზები არაა საკმარისი ჭარბი და ცვალებადი ენერჯის მომხმარებელი უჯრედების (ჩონჩხისა და გულის კუნთი, ნერვული ქსოვილი) ენერგოსტაბილურობისათვის, ამისათვის აღნიშნულ ქსოვილებში მოქმედებს ე.წ. კრეატინ/კრეატინკინაზა/ფოსფოკრეატინული (Cr/CK/PCr) ციკლი, რომელსაც ფერმენტი კრეატინკინაზა (CK) აკატალიზებს. აღნიშნული ციკლი ერთგვარ ბუფერულ სისტემას წარმოადგენს ენერგეტიკული ჰომეოსტაზის შესანარჩუნებლად,

ზემოთქმულიდან გამომდინარე საინტერესო იყო შეგვესწავლა ხანგრძლივი ფსიქომოციური სტრესის პირობებში Cr/CK/PCr ციკლის მიმდინარეობა, რისთვისაც პირველ ეტაპზე განსაზღვრეთ საკუთრივ კრეატინის კონცენტრაცია, ხოლო შემდგომ, პროცესის მაკატალიზებელი ფერმენტის CK-ს აქტივობის ცვლილება.

როგორც სურათიდან 9 ჩანს 30 დღიანი იზოლაციისა და დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში კრეატინის რაოდენობა ~57.4%-ითაა შემცირებული, რაც სხვადასხვა მიზეზით შეიძლება იყოს განპირობებული. მათ შორის, Cr/CK/PCr ციკლში მონაწილე კრეატინფოსფოკინაზას იზოფორმების არათანაბარი აქტივაციით, რაც სავარაუდოა, რომ იწვევდეს კრეატინის ფოსფორილებისა და ფოსფოკრეატინის ჭარბად წარმოქმნას, რაც თავის მხრივ, სტრესის პირობებში გაძლიერებულ ენერგომომხმარებაზე მიუთითებს და სტრესული მდგომარეობისათვისაა დამახასიათებელია. თუმცა, შესაძლოა ეფექტი სხვა პათოლოგიური პროცესით იყოს გამოწვეული.



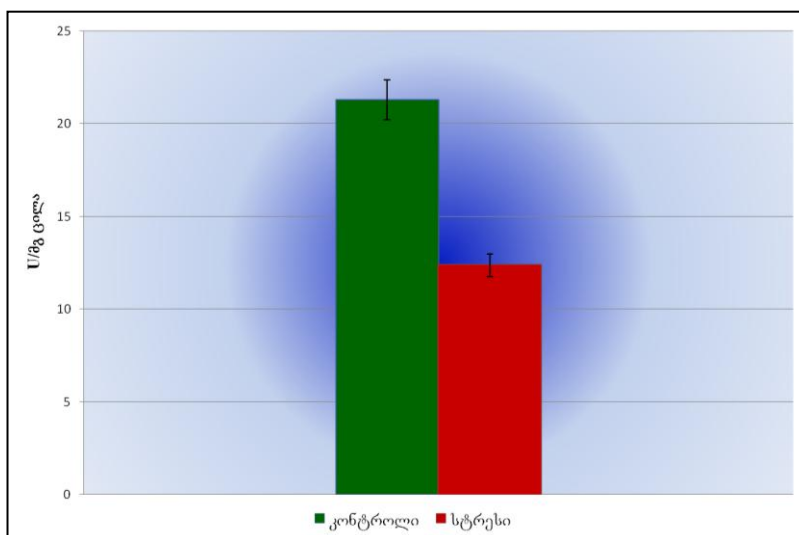
სურათი 9. კრეატინინის რაოდენობრივი ცვლილება მიტოქონდრიულ ფრაქციაში 30 დღიანი იზოლაციისა და დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში

აბსცისათა ღერძზე - კრეატინინის რაოდენობა (M/მგ ცილა)

ორდინატთა ღერძზე - საცდელი (წითელი ფერის სვეტი) და საკონტროლო (მწვანე ფერის სვეტი) ჯგუფები

ზემოთაღნიშნული მონაცემებიდან გამომდინარე, შემდგომ ცდებში შესწავლილი იყო იზოლირებისა და დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში ფერმენტ CK-ს მიტოქონდრიული იზოფორმის აქტივობა. მიღებული შედეგი წარმოდგენილია სურათზე 10.

როგორც სურათიდან ჩანს, კრეატინინინაზას აქტივობა ~40%-ითაა შემცირებული, რაც ეჭვქვეშ აყენებს ჩვენ მიერ გამოთქმულ მოსაზრებას კრეატინინის რაოდენობის შემცირებასთან დაკავშირებით (იხილეთ ზემოთ), რადგან მიღებული შედეგის მიხედვით ხანგრძლივი ფსიქომოციური სტრესის შედეგად კრეატინინის ფოსფორილირება ინჰიბირებულია.



სურათი 10. კრეატინკინაზას ფერმენტული აქტივობის ცვლილება მიტოქონდრიულ ფრაქციაში 30 დღიანი იზოლაციისა და დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში
აბსცისათა ღერძზე - კრეატინკინაზას ფერმენტული აქტივობა (U/მგ ცილა)
ორდინატთა ღერძზე - საცდელი (წითელი ფერის სვეტი) და საკონტროლო (მწვანე ფერის სვეტი) ჯგუფები

მიღებული მონაცემები მიუთითებენ, რომ Cr/CK/PCr ციკლის ფუნქციონირება ხანგრძლივი ფსიქოემოციური სტრესის დროს დაქვეითებულია, რაც განპირობებულია ატფ-ის სინთეზის შემცირებით. რაც შეეხება საკუთრივ კრეატინის რაოდენობრივ კლებას, ამ პროცესის ზუსტი მექანიზმის განსაზღვრა მიღებული მონაცემებიდან პრაქტიკულად შეუძლებელია, თუმცა შესაძლებელია ვივარაუდოთ მისი ტრანსპორტერის მოქმედების ინჰიბიცია ან/და სხვა სახის გარდაქმნა.

ყოველივე ზემოთქმულიდან გამომდინარე, შესაძლებელია დავასკვნათ, რომ 30 დღიანი იზოლაცია და დღე-ღამური რიტმის დარღვევა მნიშვნელოვან ზეგავლენას ახდენს ცოცხალი სისტემის ენერგეტიკულ პომეოსტაზზე, რისი დადასტურებაცაა ამ პირობებში მიტოქონდრიაში მიმდინარე კლასიკურ მეტაბოლური გზების (კრეატინის ციკლი) და სხვა ბუფერული სისტემების (Cr/CK/PCr ციკლი) მოქმედების ცვლილება.

მიღებულმა შედეგებმა ნათლად დაგვანახა, რომ ხანგრძლივი ფსიქო-ემოციური სტრესის შედეგად უჯრედში აქტივდება ოქსიდაციური პროცესები, რომლებიც შესაძლოა Ca^{2+} -ის მიერ ინდუცირებული მესენჯერული სისტემის (ჰორმონები, NO) ცვლილებებით იყოს გამოწვეული. აღნიშნულ პირობებში, ორგანიზმი განიცდის მწვავე ენერგეტიკულ დისბალანსს, რაც უფრო ამაფრებს შექმნილ მდგომარეობას, ვინაიდან, როდესაც სისტემა საჭიროებს ჭარბ ენერგომომარებას, სწორედ მაშინ განიცდის მის ნაკლებობას.

მიღებული შედეგებიდან სავარაუდოა, რომ სტრესის შედეგად განვითარებული უარყოფითი პროცესები უნდა მოქმედებდეს უჯრედის სიცოცხლისუნარიანობაზე. კერძოდ, განაპირობებდეს მის კავშირს აპოპტოზთან.

მიღებული შედეგები მიუთითებენ, რომ ხანგრძლივი ფსიქოემოციური სტრესის პირობებში ორგანიზმში ვითარდება სხვადასხვა პათოლოგიური პროცესები, რომლებიც უშუალოდ მესენჯერული სისტემის გავლენით მოქმედებენ მთელ რიგ სასიგნალო გზებზე და იწვევენ სხვადასხვა ციტოტოქსიური ნართების დაგროვებას, შედეგად ვითარდება ჟანგვითი პროცესები.

აღნიშნულ პროცესებს ემატება ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის მკვეთრი ინჰიბიცია, რასაც მძიმე შედეგებამდე შეუძლია მიიყვანოს სისტემა, რადგან სწორედ მაშინ, როცა ორგანიზმი საჭიროებს ჭარბ ენერგიას, ის განიცდის მის ნაკლებობას, შესაბამისად სხვადასხვა მეტაბოლური გზების დეაქტივაციას.

დასკვნები

1. შესწავლილია იზოლირებითა და დღე-ღამური რიტმის დარღვევით გამოწვეული ფსიქოემოციური სტრესის ფონზე თავის ტვინში ოქსიდაციური სტრესისა და ენერგეტიკული პროცესების მიმდინარეობის ხასიათი;

2. ნანახია, რომ აღნიშნული პროცესები კალციუმის იონის რაოდენობრივი ცვლილებების ფონზე მიმდინარეობს, რაც ამ პროცესში სასიგნალო სისტემის მონაწილეობაზე მიუთითებს.

3. ნაჩვენებია, რომ ხანგრძლივი ფსიქოემოციური სტრესის შედეგად სტრესირებული ცხოველების თავის ტვინში ძლიერდება ოქსიდაციური პროცესები, რაც ენერგეტიკული დისბალანსით გამოიხატება.

6. სავარაუდოა, რომ ხანგრძლივი ფსიქოემოციური სტრესის ფონზე თავის ტვინის მიტოქონდრიებში მიმდინარე პროცესები სხვადასხვა ნეიროდეგენერაციური პროცესების გააქტიურების მაჩვენებელია.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. "Hans Selye". *Encyclopædia Britannica* (2008 ed.). Encyclopædia Britannica, Inc.
2. House JS, Landis KR, Umberson D. Social relationships and health. *Science* 1988; 241:540–5.
3. Berkman LF. "The role of social relations in health promotion", *Psychosomatic Medicine* 1995; 57:245-54.
4. Berkman LF, Glass T. "Social integration, social networks, social support, and health" *Social Epidemiology*. New York: Oxford; 2000.
5. House JS, Landis KR, Umberson D. Social relationships and health. *Science* 1988; 241: 540–5.
6. Berkman LF "The role of social relations in health promotion" *Psychosom Med* 1995; 57: 245–54.
7. Berkman LF, Glass T. Social integration, social networks, social support, and health. In: Berkman LF, Kawachi I, eds. *Social Epidemiology*. New York: Oxford; 2000.
8. "Social Isolation Kills, But How and Why?" *Psychosomatic Medicine* 63:273–274 (2001)
9. Brummett BH, Barefoot JC, Siegler IC, Clapp-Channing NE, Lytle BL, Bosworth HB, Williams RB Jr, Mark DB. Characteristics of socially isolated patients with coronary artery disease who are at elevated risk for mortality. *Psychosom Med* 2001; 63:267–272.
10. Hampton, K., Sessions, L., Her, E.J., and Rainie, L., "Social Isolation and New Technology"
11. N. Nie, D.S. Hillygus and L. Erbring, (2002) "Internet Use, Interpersonal Relations and Sociability: A Time Diary Study",
12. Kraut, R., et al. "Internet Paradox Revisited." *Journal of Social Issues* 58 (2002): 49-74
13. Liu H, Wang Z. "Effects of social isolation stress on immune response and survival time of mouse with liver cancer" *World J Gastroenterol*. 2005 Oct 7;11(37):5902-4.
14. Hatch A. M., Balazs T., Wiberg G. S., Grice H. C., *Science*, 142, 507—508 (1963).
15. Kim J. W., Kirkpatrick B., *Biol. Psychiatry*, 40, 918—922 (1996).
16. Pashko S., DeTurck K. H., Vogel W. H., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 13, 471—473 (1980).
17. Weiss I. C., Pryce C. R., Jongen-Rêlo A. L., Nanz-Bahr N. I., Feldon J., *Behav. Brain Res.*, 152, 279—295 (2004).
18. Valzelli L., "Aggressive Behavior," ed. by Garattini S., Sigg E. B., Ex-1392 Vol. 28, No. 8, *Cerpta Medica*, Amsterdam, 1969, pp. 70—76.
19. Ojima K., Matsumoto K., Tohda M., Watanabe H., *Brain Res.*, 684, 87-94 (1995).
20. Summers CH, Summers TR, Moore MC, Korzan WJ, Woodley SK, Ronan PJ, Ho glund E, Watt MJ, Greenberg N (2003)
21. Matsumoto K., Ojima K., Watanabe H., *Brain Res.*, 708, 1-6 (1996). Temporal patterns of limbic monoamine and plasma corticosterone response during social stress. *Neuroscience* 116:553–563
22. Dong E., Matsumoto K., Uzunova V., Sugaya I., Takahata H., Nomura H., Watanabe H., Costa E., Guidotti A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 98, 2849-2854 (2001).
23. Nguyen Thi Thu HUONG Yukihisa MURAKAMI Michihisa TOHDA Hiroshi WATANABE and Kinzo MATSUMOTO, "Social Isolation Stress-Induced Oxidative Damage in Mouse Brain and Its Modulation by Majonoside-R2, a Vietnamese Ginseng Saponin", *Biol. Pharm. Bull.* 28(8) 1389-1393 (2005)
26. Negri L (2006). "[Vittorio Erspamer (1909-1999)]" (in Italian). *Med Secoli* 18 (1): 97–113.
27. Rapport MM, Green AA, Page IH (1948). "Serum vasoconstrictor, serotonin; isolation and characterization". *J. Biol. Chem.* 176 (3): 1243–51.
28. Feldberg W, Toh CC (1953). "Distribution of 5-hydroxytryptamine (serotonin, enteramine) in the wall of the digestive tract". *J. Physiol. (Lond.)* 119 (2–3): 352–62.
29. King MW. "Serotonin", *The Medical Biochemistry Page*, Indiana University School of Medicine. Retrieved 2009-12-01

30. Berger M, Gray JA, Roth BL (2009). "The expanded biology of serotonin" *Annu. Rev. Med.* 60: 355–66.
31. Walther DJ, Peter JU, Bashammakh S, Hörtnagl H, Voits M, Fink H, Bader M (2003). "Synthesis of serotonin by a second tryptophan hydroxylase isoform". *Science* 299 (5603): 76.
32. Eaton M J, Gudehithlu K P, Quach T, Silvia C P, Hadjiconstantinou M, Neff N H. Distribution of aromatic l-amino acid decarboxylase mRNA in mouse brain by *in situ* hybridization histology. *J. Comp. Neurol.*1993; 337:640-654.
- Chapter 1 33. "Serotonin" Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects. Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, et al. 6th edition.
34. Molliver M E. Serotonergic neuronal systems: What their anatomic organization tells us about function. *J. Clin. Psychopharmacology*1987; 7:3s-23s.
35. Boadle-Biber M C. Regulation of serotonin synthesis. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*1993; 60:1–15.
36. Schuldiner S. A molecular glimpse of vesicular monamine transporters, *J. Neurochem.*1994; 62:2067–2078.
37. Blakely R D, DeFelice L J, Hartzell H C. Molecular physiology of norepinephrine and serotonin transporters. *J. Exp. Biol.*1994; 196:263–281
38. Borowsky B, Hoffman B J. Neurotransmitter transporters: Molecular biology, function, and regulation. *Int. Rev. Neurobiol.* 1995; 38:139–199.
- Chapter 2 39. Kusumi I, Koyama T, Yamashita I, "Serotonin-induced platelet intracellular calcium mobilization in depressed patients", *Psychopharmacology (Berl)*. 1994 Jan; 113(3-4):322-7
40. Hoyer D, Clarke DE, Fozard JR, Hartig PR, Martin GR, Mylecharane EJ, Saxena PR, Humphrey PP (1994). "International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin)", *Pharmacol. Rev.* 46 (2): 157–203.
41. Frazer A, Hensler JG (1999). "Chapter 13: Serotonin Receptors", pp. 263–292, ISBN 0-397-51820-X
42. Nichols DE, Nichols CD (May 2008). "Serotonin receptors" *Chem. Rev.* 108 (5): 1614–41
43. Meyer-Bernstein E L, Morin L P. Differential serotonergic innervation of the suprachiasmatic nucleus and the intergeniculate leaflet and its role in circadian rhythm modulation. *J. Neurosci.* 1996;16:2097–2111.
44. Cases O, Seif I, Grimsby J. et al. "Aggressive behavior and altered amounts of brain serotonin and norepinephrine in mice lacking MAO A " *Science*1995; 268:1763–1766.
45. Shih JC. Molecular basis of human MAOA and B. *Neuropsychopharmacology.*1991; 4:1–3.
46. [Http://themedicalbiochemistrypage.org/steroid-hormones.html](http://themedicalbiochemistrypage.org/steroid-hormones.html)
47. CHROUSOS GP, GOLD PW: The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMS* 267:1244-1252, 1992.
48. DALLMAN MF, AKANA SF, CASCIO CS, DARLINGTON DN, JACOBSON L, LEVIN N: Regulation of ACTH secretion: variations on a theme of B. *Recent Prog Horm Res* 43: 113-173, 1987
49. KANT GJ, MOUGEY EH, MEYERHOFF JL: ACTH, prolactin, corticosterone and pituitary cyclic AMP responses to repeated stress. *Pharmacol Biochem Behav* 32: 557-561, 1989
50. VIGA. M, KVĚTNANSKÝ R, JURČOVICOVÁ J, JE.OVÁ D, TATAR P: Comparison of catecholamine and adenopituitary hormone responses to various stress stimuli in man. 1984, pp 865-882.
51. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26/#A461>
52. "The Hormones: Corticoids" Retrieved 2009-04-09.
53. "Hormones", Encyclopaedia Britannica, Inc. 1995;
54. Reul J, deKloet E. Two receptor systems for corticosterone in rat brain: Microdistribution and differential occupation. *Endocrinology* 117:2505–2511. 1985

55. Arriza J, Simerly R, Swanson L, Evans R. "The neuronal mineralocorticoid receptor as mediator of glucocorticoid response" *Neuron*.1988; 1:887–896.
56. Chao H, Choo P, McEwen B. Glucocorticoid and mineralocorticoid receptor mRNA expression in rat brain. *Neuroendocrinology* 50:365–371, 1989
57. Funder J. Adrenal steroids: New answers, new questions. *Science* 237:236–237, 1987
58. Herman J, Patel P, Akil H, Watson S. Localization and regulation of glucocorticoid and mineralocorticoid receptor messenger RNAs in the hippocampal formation of the rat. *Mol. Endocrinol.*1989; 3:1886–1894.
59. Elizabeth Culotta and Daniel E. Koshland Jr (1992) "NO news is good news. (nitric oxide; includes information about other significant advances & discoveries of 1992) (Molecule of the Year)" *Science* 258 (5090): 1862–1864.
60. Stryer, Lubert (1995). *Biochemistry 4th Edition*, W.H. Freeman and Company, p. 732, ISBN 0-7167-2009-4
61. Liu Q, Gross SS (1996) "Binding sites of nitric oxide synthases" *Meth. Enzymol.*268: 311–324.
62. Phil Dash "Nitric Oxide", Basic Medical Sciences, St.George's, University of London
63. Gorczynski and Stanely, *Clinical Immunology*. Landes Bioscience; Austin, TX. ISBN 1570596255
64. Wink, DA; et.al. (1991) "DNA deaminating ability and genotoxicity of nitric oxide and its progenitors" *Science* 254 (5034): 1001–3
65. Nguyen, T; Brunson D, Crespi CL, Penman BW, Wishnok JS, Tannenbaum SR (1992) "DNA damage and mutation in human cells exposed to nitric oxide in vitro". *Proc Natl Acad Sci USA* 89 (7): 3030–4.
66. Li, CQ; Pang B, Kiziltepe T, Trudel LJ, Engelward BP, Dedon PC, Wogan GN (2006). "Threshold Effects of Nitric Oxide-Induced Toxicity and Cellular Responses in Wild-Type and p53-Null Human Lymphoblastoid Cells". *Chem Res Toxicol* 19 (3): 399–406.
67. Hibbs, JB; Taintor RR, Vavrin Z, Rachlin EM (1988). "Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule". *Biochem Biophys Res Commun* 157 (1): 87–94.
68. Shami, PJ; Moore, JO; Gockerman, JP; Hathorn, JW; Misukonis, MA; Weinberg, JB (1995). "Nitric oxide modulation of the growth and differentiation of freshly isolated acute non-lymphocytic leukemia cells". *Leukemia research* 19 (8): 527–33.
69. Surks, HK (2007). "cGMP-dependent protein kinase I and smooth muscle relaxation: a tale of two isoforms". *Circulation research* 101 (11): 1078–80.
70. Kaibori M., Sakitani K., Oda M., Kamiyama Y., Masu Y. and Okumura T. (1999). "Immunosuppressant FK506 inhibits inducible nitric oxide synthase gene expression at a step of NF-κB activation in rat hepatocytes". *J. Hepatol.* 30 (6): 1138–1145.
71. [Http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/N/NO.html](http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/N/NO.html)
72. Butler A. and Nicholson R.; "Life, death and NO." Cambridge 2003. ISBN 978-0-85404-686-7
73. Stadtman ER (August 1992) "Protein oxidation and aging" *Science* 257 (5074): 1220–4.
74. Ho YS, Magnenat JL, Gargano M, Cao J (1 October 1998). "The nature of antioxidant defense mechanisms: a lesson from transgenic studies". *Environ. Health Perspect.*106 (Suppl 5): 1219–28.
75. Guzik TJ, Korbout R, Adamek-Guzik T (December 2003) "Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation" *J. Physiol. Pharmacol.* 54 (4): 469–87.
76. Muller, F. L., Lustgarten, M. S., Jang, Y., Richardson, A. and Van Remmen, H. (2007). "Trends in oxidative aging theories" *Free Radic. Biol. Med.* 43 (4): 477–503.
77. Patel RP, T Cornwell, Darley-Usmar VM (1999). "The biochemistry of nitric oxide and peroxynitrite: implications for mitochondrial function". In Packer L, Cadenas E. *Understanding the process of aging: the roles of mitochondria, free radicals, and antioxidants*. New York, N.Y: Marcel Dekker. pp. 39–56. ISBN 0-8247-1723-6

78. Zhelong Xu, Xiang Ji, and Philip G. Boysen "Exogenous nitric oxide generates ROS and induces cardioprotection: involvement of PKG, mitochondrial KATP channels, and ERK", *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286:H1433-H1440, 2004. First published 4 December 2003;
79. Davies, KJ (1995). "Oxidative stress: The paradox of aerobic life". *Biochemical Society symposium* 61: 1–31.
80. "Lipid peroxidation *in vivo*, Evaluation and application of methods for measurement", Acta Universitatis Upsaliensis. Södergren E. 2000, pp 78; 949. ISBN 91-554-4791-0
82. *CRC Handbook of Free Radicals and Antioxidants*, vol 1 (1989), p209-221
83. Sies, Helmut (1997). "Oxidative stress: Oxidants and antioxidants". *Experimental physiology* 82 (2): 291–5. 71.
84. McCord JM, Fridovich I (1988). "Superoxide dismutase: the first twenty years (1968-1988)". *Free Radic. Biol. Med.* 5 (5-6): 363–9.
85. Tainer JA, Getzoff ED, Richardson JS, Richardson DC (1983). "Structure and mechanism of copper, zinc superoxide dismutase.". *Nature* 306 (5940): 284–7.
86. Borgstahl GE, Parge HE, Hickey MJ, Beyer WF Jr, Hallewell RA, Tainer JA (1992). "The structure of human mitochondrial manganese superoxide dismutase reveals a novel tetrameric interface of two 4-helix bundles" *Cell* 71 (1): 107–18.
87. Barondeau DP, Kassmann CJ, Bruns CK, Tainer JA, Getzoff ED (2004) "Nickel superoxide dismutase structure and mechanism" *Biochemistry* 43 (25): 8038–47.
88. Wuerges J, Lee JW, Yim YI, Yim HS, Kang SO, Djinnovic Carugo K (2004). "Crystal structure of nickel-containing superoxide dismutase reveals another type of active site" *Proc Natl Acad Sci* 101 (23): 8569–74
89. Nozik-Grayck E, Suliman H, Piantadosi C (2005). "Extracellular superoxide dismutase". *Int J Biochem Cell Biol* 37 (12): 2466–71.
90. Melov S, Schneider J, Day B, Hinerfeld D, Coskun P, Mirra S, Crapo J, Wallace D (1998). "A novel neurological phenotype in mice lacking mitochondrial manganese superoxide dismutase". *Nat Genet* 18 (2): 159–63.
91. Reaume A, Elliott J, Hoffman E, Kowall N, Ferrante R, Siwek D, Wilcox H, Flood D, Beal M, Brown R, Scott R, Snider W (1996). "Motor neurons in Cu/Zn superoxide dismutase-deficient mice develop normally but exhibit enhanced cell death after axonal injury". *Nat Genet* 13 (1): 43–7.
92. <http://www.worthington-biochem.com/SODBE/default.html>
93. Li Y, Huang TT, Carlson EJ, Melov S, Ursell PC, Olson JL, Noble LJ, Yoshimura MP, Berger C, Chan PH, Wallace DC, Epstein CJ (December 1995) "Dilated cardiomyopathy and neonatal lethality in mutant mice lacking manganese superoxide dismutase" *Nat. Genet.* 11 (4): 376–81.
94. Muller FL, Song W, Liu Y, Chaudhuri A, Pieke-Dahl S, Strong R, Huang TT, Epstein CJ, Roberts LJ, Csete M, Faulkner JA, Van Remmen H (June 2006). "Absence of CuZn superoxide dismutase leads to elevated oxidative stress and acceleration of age-dependent skeletal muscle atrophy". *Free Radic. Biol. Med.* 40 (11): 1993–2004.
95. Sentman ML, Granström M, Jakobson H, Reaume A, Basu S, Marklund SL (March 2006) "Phenotypes of mice lacking extracellular superoxide dismutase and copper- and zinc-containing superoxide dismutase". *J. Biol. Chem.* 281 (11): 6904–9.
96. Deng HX, Hentati A, Tainer JA, Iqbal Z, Cayabyab A, Hung WY, Getzoff ED, Hu P, Herzfeldt B, Roos RP, et al. (August 1993) "Amyotrophic lateral sclerosis and structural defects in Cu,Zn superoxide dismutase" *Science* 261 (5124): 1047–51.
97. Conwit RA (December 2006). "Preventing familial ALS: a clinical trial may be feasible but is an efficacy trial warranted?" *J. Neurol. Sci.* 251 (1-2): 1–2.
98. Al-Chalabi A, Leigh PN (August 2000). "Recent advances in amyotrophic lateral sclerosis" *Curr. Opin. Neurol.* 13 (4): 397–405.

99. Groner Y, Elroy-Stein O, Avraham KB, Schickler M, Knobler H, Minc-Golomb D, Bar-Peled O, Yarom R, Rotshenker S (1994) "Cell damage by excess CuZnSOD and Down syndrome" *Biomed. Pharmacother.* 48 (5-6): 231–40.
100. 85. Seguí J, Gironella M, Sans M, Granell S, Gil F, Gimeno M, Coronel P, Piqué JM, Panés J (September 2004). "Superoxide dismutase ameliorates TNBS-induced colitis by reducing oxidative stress, adhesion molecule expression, and leukocyte recruitment into the inflamed intestine". *J. Leukoc. Biol.* 76 (3): 537–44.
101. Campana F, Zervoudis S, Perdereau B, Gez E, Fourquet A, Badiu C, Tsakiris G, Koulaloglou S (2004) "Topical superoxide dismutase reduces post-irradiation breast cancer fibrosis" *J. Cell. Mol. Med.* 8 (1): 109–16.
102. Loew O (May 1900) "A New Enzyme of General Occurrence in Organisms" *Science (journal)* 11 (279): 701–702.
103. Sumner JB, Dounce AL (April 1937) "Crystalline catalase" *Science (journal)* 85 (2206): 366–367.
104. Sumner JB, Gralén N (March 1938) "The molecular weight of crystalline catalase" *Science (journal)* 87 (2256): 284–284.
105. 89. Schroeder WA, Shelton JR, Shelton JB, Robberson B, Apell G (May 1969) "The amino acid sequence of bovine liver catalase: a preliminary report" *Arch. Biochem. Biophys.* 131 (2): 653–655.
106. Murthy MR, Reid TJ, Sicignano A, Tanaka N, Rossmann MG (October 1981) "Structure of beef liver catalase" *J. Mol. Biol.* 152 (2): 465–499.
107. Goodsell DS (2004-09-01) "Catalase" *Molecule of the Month*. RCSB Protein Data Bank.
108. Chelikani P, Fita I, Loewen PC (January 2004) "Diversity of structures and properties among catalases" *Cell. Mol. Life Sci.* 61 (2): 192–208.
109. Maehly A, Chance B (1954) "The assay of catalases and peroxidases" *Methods Biochem Anal.* Methods of Biochemical Analysis 1: 357–424.
110. Aebi H (1984). Aebi, Hugo. ed. "Catalase in vitro" *Meth. Enzymol.* Methods in Enzymology 105: 121–126.
111. "EC 1.11.1.6 - catalase". *BRENDA: The Comprehensive Enzyme Information System*. Department of Bioinformatics and Biochemistry, Technische Universität Braunschweig.
112. Toner K, Sojka G, Ellis R. "A Quantitative Enzyme Study; CATALASE" , 2007-02-11.
113. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2002) "Peroxisomes" *Molecular Biology of the Cell* (4th ed.). New York: Garland Science. ISBN 0-8153-3218-1.
114. Chelikani P, Fita I, Loewen P (2004) "Diversity of structures and properties among catalases" *Cell Mol Life Sci* 61 (2): 192–208.
115. Zámocký M, Koller F (1999) "Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and *in vitro* mutagenesis" *Prog Biophys Mol Biol* 72 (1): 19–66.
116. "Catalase". *Worthington Enzyme Manual*. Worthington Biochemical Corporation. Retrieved 2009-03-01.
118. Hengge A (1999-03-16). "Re: how is catalase used in industry?". *General Biology*. MadSci Network. Retrieved 2009-03-01.
119. "textile industry". *Case study* 228. International Cleaner Production Information Clearinghouse. Retrieved 2009-03-01.
120. 105. Wood JM, Decker H, Hartmann H, Chavan B, Rokos H, Spencer JD, Hasse S, Thornton MJ, Shalhaf M, Paus R, Schallreuter KU (February 2009). "Senile hair graying: H₂O₂-mediated oxidative stress affects human hair color by blunting methionine sulfoxide repair". *FASEB J.* 23 (7): 2065–2075.
121. Khan MA, Tania M, Zhang D, Chen H (2010) "Antioxidant enzymes and cancer" *Chin J Cancer Res* 22 (2): 87–92.

122. Fiskum G. 2000 Mitochondrial participation in ischemic and traumatic neural cell death. *Journal of Neurotrauma*, Volume 17, Issue 10, Pages 843–855
123. Ichas F and Mazat JP. 1998. From calcium signaling to cell death: two conformations for the mitochondrial permeability transition pore. Switching from low- to high- conductance state. *Biochimica et Biophysica Acta*, Volume 1366, Issues 1–2, Pages 33–50.
124. Alano CC, Beutner G, Dirksen RT, Gross RA, and Sheu S-S. 2002. Mitochondrial permeability transition and calcium dynamics in striatal neurons upon intense NMDA receptor activation. *Journal of Neurochemistry*, Volume 80, Issue 3, Pages 531-538.
125. Haworth RA and Hunter DR. 1979. The Ca²⁺-induced membrane transition in mitochondria II. Nature of the Ca²⁺ trigger site. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Volume 195, Issue 2, Pages 460-467.
126. Crompton M. 1999 "The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death" *Biochemical Journal*. Volume 341, Pages 233-249.
127. Fiskum G. 2001 "Mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of acute neuronal cell death" Chapter 16 In *Mitochondria in pathogenesis*. Lemasters JJ and Nieminen AL, eds. Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York. Pages 317–331.
128. Sullivan PG, Thompson M, and Scheff SW. (2000). Continuous infusion of Cyclosporin A postinjury significantly ameliorates cortical damage following traumatic brain injury. *Experimental Neurology*. Volume 161, Issue 2, Pages 631-637.
129. Wu AH (January 1989) "Creatine kinase isoforms in ischemic heart disease". *Clin. Chem.* 35 (1): 7–13.
130. Borel JF (2002). "History of the discovery of cyclosporin and of its early pharmacological development". *Wien. Klin. Wochenschr.* 114 (12): 433–7.
131. Pritchard DI (2005) "Sourcing a chemical succession for cyclosporin from parasites and human pathogens". *Drug Discov. Today* 10 (10): 688–91.
132. "Ciclosporin *Drug Discovery - A History*" John Wiley & Sons. pp. 298–299
133. William F. Ganong. Review of medical physiology, 22nd edition, Lange medical books, chapter 27, page 530. ISBN 0-07-144040-2
134. Brustovetsky N, Brustovetsky T, Jemmerson R, and Dubinsky JM. 2002. Calcium induced cytochrome c release from CNS mitochondria is associated with the permeability transition and rupture of the outer membrane. *Journal of Neurochemistry*, Volume 80, Issue 2, Pages 207-218.
135. Garcia-Ruiz C, Colell A, Paris R, and Fernandez-Checa JC. 2000. Direct interaction of GD3 ganglioside with mitochondria generates reactive oxygen species followed by mitochondrial permeability transition, cytochrome c release, and caspase activation. *FASEB Journal*, Volume 14, Issue 7, Pages 847-858.
136. Nicholls DG and Brand MD. 1980. The nature of the calcium ion efflux induced in rat liver mitochondria by the oxidation of endogenous nicotinamide nucleotides. *Biochemical Journal*, Volume 188, Issue 1, 113-118
137. Gunter TE, Gunter KK, Sheu SS, and Gavin CE. 1994. [Mitochondrial calcium transport: physiological and pathological relevance.] "American journal of Physiology, Volume 267, Issue 2, Pages C313-C339. PMID
138. Haworth RA and Hunter DR. 1979. The Ca²⁺-induced membrane transition in mitochondria II. Nature of the Ca²⁺ trigger site. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Volume 195, Issue 2, Pages 460-467.
139. Ichas F and Mazat JP. 1998. From calcium signaling to cell death: two conformations for the mitochondrial permeability transition pore. Switching from low- to high- conductance state. *Biochimica et Biophysica Acta*, Volume 1366, Issues 1-2, Pages 33-50

140. Schinder AF, Olson EC, Spitzer NC, and Montal M. 1996. Mitochondrial dysfunction is a primary event in glutamate neurotoxicity. *Journal of Neuroscience*, Volume 16, Issue 19, Pages 6125-6133.
141. <http://www.jbc.org/content/286/8/6345.long>
142. Fiskum G. 2001 "Mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of acute neuronal cell death" Chapter 16 In *Mitochondria in pathogenesis*. Lemasters JJ and Nieminen AL, eds. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. Pages 317–331
143. Sullivan PG, Thompson M, and Scheff SW. (2000). Continuous infusion of Cyclosporin A postinjury significantly ameliorates cortical damage following traumatic brain injury. *Experimental Neurology*. Volume 161, Issue 2, Pages 631-637.
144. Deniaud A, Sharaf El Dein O, Maillier E, Poncet D, Kroemer G, Lemaire C, Brenner C. 2007. Endoplasmic reticulum stress induces calcium-dependent permeability transition, mitochondrial outer membrane permeabilization and apoptosis. *Oncogene*, August 13, 2007, published online ahead of print.
145. Chinopoulos C, Starkov AA, Fiskum G. Cyclosporin A-insensitive permeability transition in brain mitochondria: Inhibition by 2-aminoethoxydiphenyl borate. *J Biol Chem*. 2003 Jul 25; 278(30):27382-9.
146. Friberg H and Wieloch T. 2002. [Mitochondrial permeability transition in acute neurodegeneration.] *Biochimie*, Volume 84, Issues 2-3, Pages 241-250.
147. Brustovetsky N, Brustovetsky T, Purl KJ, Capano M, Crompton M, and Dubinsky JM. 2003 "Increased susceptibility of striatal mitochondria to calcium-induced permeability transition" *The Journal of Neuroscience*. Volume 23 Issue 12, Pages 4858-4867.
148. Hunter DR and Haworth RA 1979 "The Ca²⁺-induced membrane transition in mitochondrial transitional Ca²⁺-release" *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Volume 195, Issue 2, Pages 468-477.
149. Beutner G, Rück A, Riede B, Brdiczka D. 1998 „Complexes between porin, hexokinase, mitochondrial creatine kinase and adenylate translocator display properties of the permeability transition pore. Implication for regulation of permeability transition by the kinases" *Biochimica et Biophysica Acta*, Volume 1368, Issue 1, Pages 7-18.
150. Hunter DR and Haworth RA 1979 "The Ca²⁺-induced membrane transition in mitochondria I. The protective mechanisms" *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Volume 195, Issue 2, Pages 453-459.
151. Haworth RA and Hunter DR. 1979. The Ca²⁺-induced membrane transition in mitochondria II. Nature of the Ca²⁺ trigger site. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Volume 195, Issue 2, Pages 460-467
152. Mitochondrial Permeability Transition (PT) from www.Celldeath.de
153. Schinder AF, Olson EC, Spitzer NC, and Montal M. 1996 "Mitochondrial dysfunction is a primary event in glutamate neurotoxicity" *Journal of Neuroscience*, Volume 16, Issue 19, Pages 6125-6133.
154. White RJ and Reynolds IJ. 1996. Mitochondrial depolarization in glutamate-stimulated neurons: An early signal specific to excitotoxin exposure. *Journal of Neuroscience*, Volume 16, Number 18, Pages 5688–5697.
155. <http://www.jbc.org/content/286/8/6345.long>
156. Stavrovskaya IG and Kristal BS 2005 "The powerhouse takes control of the cell: Is the mitochondrial permeability transition a viable therapeutic target against neuronal dysfunction and death?" *Free Radical Biology and Medicine*. Volume 38, Issue 6, Pages 687-697
157. Büki A, Okonkwo DO, Wang KKW, and Povlishock JT. 2000 "Cytochrome c release and caspase activation in traumatic axonal injury" *Journal of Neuroscience*. Volume 20, Issue 8, Pages 2825-2834

158. Luetjens CM, Bui NT, Sengpiel B, Münstermann G, Poppe M, Krohn AJ, Bauerbach E, Krieglstein J, and Prehn JHM. 2000. Delayed mitochondrial dysfunction in excitotoxic neuron death: Cytochrome *c* release and a secondary increase in superoxide production. *The Journal of Neuroscience*, Volume 20, Issue 15, Pages 5715-5723.
159. De Robertis E. Structural components of the synaptic region.// *Handbook of Neurochemistry*, 1969-2- pp.365-372
160. Pahan K., Liu X., McKinney M.J., Wood C., Sheikh F.G., Raymond J.R. Induction of nitric oxide synthase and activation of nuclear factor- κ B in primary astrocytes. *J.Neurochem.* 2000.-v.74 –p. 2288-2295
161. Uchiyama M, Michara M (1978) Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Biochem* 86; 271-384
162. Skernyakov VI, Kozhemyakin LA, Smirnov VV (1988) Lipid Peroxidation Products in cerebrospinal fluid in patients with craniocerebral traumas. *Lab. Delo* 8; 14-16
163. Sukhia L.A. Sami Al'Saidi (2009) The importance of Research Enzymes Neutralize Free Radical Oxygen Species in the Lens in Patient with age cataract. *Lab delo* 13; 144-149
164. Koroliuk MA, Ivanova LI, Mayorova IG, Tokarev VE (1988) Method for detection of catalase activity. *Lab Delo* 1; 16-9
165. Kaptain S. Downey W.E. Tang C. Philpott C. Haile D, Orloff D. A regulated RNA binding protein also possesses aconitase activity . *Proc Natl. Acad Sci, USA* 1991,88.
167. Abe K., Matsuki A. Measurement of cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT) reduction activity and LDH release using MTT.// *J.Neurosci. Res.* -1974.-v.38.-p. 325–329.
168. Bartels, H. et.al. *Clin.Chim. Acta* 32, 81 (1971)
169. Popper, H. et.al. *Biochem.Zeitschr.* 291, 354 (1937)
170. Schumann, G. et.al. *Clin Chem Acta*, 327, 69-79 (2003)
171. Klauke, R. et. al.*Eur.J.Clin.Chem.Clin.Biochem.* 15, 901-909 (1993)
172. Tietz, N. W. (ed.), *Clinical Guide to Laboratory test*; 3rd edition, WB Saunders Co, (1995)
173. Brookes P.S., Darley-Usmar V.M. “Role of Calcium and Superoxide Dismutase in Sensitizing mitochondria to Peroxynitrite-induced Permeability Transition” *Am. J. Physiol Hearty Circ. Physiol.* - 2004 - 286, #1 - P.H39-H46
174. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J., (1951) Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent *J. Biol. Chem.*, 193 ,265-275.
175. [Http://www.springerlink.com/content/wh03133240567463](http://www.springerlink.com/content/wh03133240567463)
176. Dzaja PP, Terzic A “Phosphotransfer networks and cellular energetics” *J Exp Biol* 2003, 206:2039-2047
177. Dolder M., Walzel B., Speer O. et.al “Inhibition of the mitochondrial permeability transition by creatine kinase substrates” *J. Biol. Chem.* 2003; 278:17760-17766

გამოქვეყნებული პუბლიკაციების ჩამონათვალი

1. “Long-lasting stress, quantitative changes in nitric oxide concentration and functional state of brain mitochondria”; Kuchukashvili Z, Burjanadze G, Menabde K, Chachua M, Dachanidze N, Mikadze M, Koshoridze N., *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2012; 72(1):40-50

გავლილი საგნების ჩამონათვალი

1. მეცნიერების მენეჯმენტი - 5 კრედიტი
2. შესავალი კურსი SPSS სტატისტიკაში - 5 კრედიტი