

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი
მიმართულება: ბიოქიმია

ნატალია დაჩანიძე

**ფსიქო-ემოციური სტრესის გავლენა გულ-სისხლძარღვთა
სისტემისა და სისხლის ფუნქციურ მდგომარეობაზე**

სადისერტაციო ნაშრომი შესრულებულია ივანე ჯავახიშვილის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტის, ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტის,
ბიოლოგიის დეპარტამენტის, ბიოქიმიის მიმართულებაზე ბიოლოგიის დოქტორის
აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

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

თბილისი 2016

ანოტაცია

ცივილიზაციის განვითარების სწრაფი ეტაპები, ერთი მხრივ, დადებითი შედეგის მომტანია კაცობრიობისთვის. თუმცა ისიც უნდა აღინიშნოს, რომ თანამედროვე ცხოვრების რიტმი, წარმოების ავტომატიზაცია და ინფორმაციის უკონტროლო ნაკადი ადამიანისთვის მუდმივ სტრესს წარმოადგენს.

უკანასკნელი წლების გამოკვლევები გვიჩვენებს, რომ ქრონიკული სტრესი ძლიერ ზეგავლენას ახდენს ორგანიზმის ბიოქიმიურ მაჩვენებლებზე. ლიტერატურული მონაცემების თანახმად, სტრესი არღვევს უჯრედის ფუნქციურ მდგომარეობას და იწვევს ან მნიშვნელოვნად აღრმავებს ისეთ დაავადებებს, როგორცაა გულ-სისხლძარღვთა, იმუნური სისტემისა და ნეიროდეგენერაციული პათოლოგიები, ასევე ავთვისებიანი სიმსივნეები და სხვა.

გამომდინარე იქიდან, რომ სტრესის კომბინირებული მოდელის (სოციალური იზოლაცია და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევა) პირობებში მიმდინარე ცვლილებების გავლენა ნაკლებადაა შესწავლილი გულის კუნთის უჯრედების მეტაბოლიზმზე, ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა იმ ბიოქიმიური ცვლილებების დახასიათება, რომელსაც მოსდევს გულ-სისხლძარღვთა სისტემის სხვადასხვა ტიპის პათოლოგიების ფორმირება.

დადგენილია, რომ სტრესის შედეგად იცვლება ორგანიზმის ნორმალური მეტაბოლიზმი, რაც გამოიხატება ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის პროცესის გაძლიერებით, ანტიოქსიდანტური სისტემისა და ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის დაქვეითებით და უარყოფითად აისახება ორგანიზმის ფუნქციურ მდგომარეობაზე. ასეთ პირობებში ზოგიერთი საკვები დანამატის ორგანიზმში ჭარბი რაოდენობით შეყვანა დადებითად მოქმედებს შეცვლილ ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმზე. მიუხედავად კრეატინის დადებითი ეფექტისა, ფაქტიურად შეუსწავლელია მისი გავლენა ორგანიზმში მიმდინარე სხვა მნიშვნელოვან პროცესებზე, მაგალითად სისხლის ლიპიდურ სპექტრზე, რომლის ცვლილება თავის მხრივ, მთელი რიგი პათოლოგიების მიზეზად მიიჩნევა. ნაშრომში შესწავლილია თეთრი ვირთაგვის სისხლში ლიპიდური სპექტრის ცვლილება ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში

ხანგრძლივი სოციალური იზოლაციით გამოწვეული ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში ორგანიზმში ეგზოგენური კრეატინის შეყვანის ფონზე. ნანახია, რომ სტრესის პირობებში ექსპერიმენტული ცხოველების სისხლში ადგილი აქვს ლიპიდური სპექტრის ცვლილებას, რაც გამოიხატება ქოლესტერინისა და ტრიგლიცერიდების რაოდენობრივმატებაში. ამავე პირობებში ადგილი აქვს ლიპოპროტეინების რაოდენობრივ ცვლილებებსაც.

ნაჩვენებია, რომ ისეთი დანამატი, როგორცაა კრეატინი, მნიშვნელოვნად ზრდის საერთო ლიპიდების, ქოლესტერინისა და დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების რაოდენობას სისხლში ათეროგენულობის კოეფიციენტის გაზრდის ფონზე, რაც ისეთი დაავადებების ჩამოყალიბების წინაპირობაა, როგორცაა ათეროსკლეროზი, გულის იშემიური დაავადება და გულ-სისხლძარღვთა სისტემის სხვა პათოლოგიები.

Abstract

While a speedy development of civilization is certainly beneficial for the mankind as a whole, the swift rhythm of current lifestyle, nearly total automation of production processes and uncontrolled streaming of information have turned into threatening sources of constant stress for the human.

Recent research has proved that chronic stress has a powerful impact on biochemical properties of human body. Literature data show that stress disrupts functional state of the cell and leads to or significantly intensifies various diseases, such as cardiovascular, immunity and neuro-degenerative pathologies, as well as tumor, etc.

Impact of changes caused by combined stressed model (social isolation and disrupted diurnal cycle) on the metabolism of myocard cells has been scarcely researched. Therefore, we aimed at studying the biochemical changes leading to formation of various pathologies in the cardio-vascular system.

It has been found that stress leads to a changed metabolism of the human body, portrayed by an intensified lipid peroxidation process, inhibited anti-oxidant system and lower energy metabolism. This results in an overall decline of the functional state of the organism. Under the described conditions, injection of certain nutrients positively affect the changed energy metabolism. Notwithstanding the fact that creatine has been found to be one of such helpful nutrients, its effect on other vital processes has been practically ignored. This, among others, includes its impact on the lipid profile of the blood, whose change has been considered to be one of the causes of a large number of pathologies. This work considers change in the blood lipid profile among rats injected with exogenous creatine, when the experimental animals had been subjected to disrupted diurnal cycle and psycho-emotional stress caused by extended social isolation. We found that stressed animals' blood lipid profile changes, reflected in the rise of cholesterol and triacylglycerol levels and varying level of lipoprotein content.

We try to show that creatine significantly increases the quantity of general lipids, cholesterol and low-density lipoproteins, simultaneously heightening blood atherogenic ratio, which is a precondition for development of various diseases, such as atherosclerosis, ischemic heart diseases and other cardio-vascular pathologies.

შინაარსი

აბრევიატურები და შემოკლებები.....	9
თავი I. შესავალი.....	11
I.1. ხანგრძლივი ფსიქო-ემოციური სტრესის გავლენა ორგანიზმზე.....	15
I.2. სტრესის ფონზე მეტაბოლიზმის ცვლილება გულ-სისხლძარღვთა სისტემაში.....	18
I.2.1 ხანგრძლივი იზოლაციითა და ცირკადული რიტმის დარღვევით გამოწვეული სტრესში მონაწილე ზოგიერთი ჰორმონის დახასიათება.....	18
I.2.1.1 მელატონინი.....	18
I.2.1.2 სეროტონინი.....	21
I.2.1.3 კორტიკოსტერონი.....	22
I.2.2 აზოტის ოქსიდი.....	23
I.2.3 ოქსიდაციური სტრესი და ანტიოქსიდანტური სისტემის ზოგიერთი ფერმენტი.....	25
I.2.3.1 ოქსიდაციური სტრესი და ჟანგბადის აქტიური ფორმები.....	25
I.2.3.2. ანტიოქსიდანტური სისტემის ზოგიერთი ფერმენტი.....	27
I.2.4 უჯრედის ენერგეტიკული მეტაბოლიზმში მონაწილე ზოგიერთი ფერმენტის დახასიათება.....	31
I.2.4.1. კრეატინფოსფოკინაზა.....	31
I.2.4.2. ალდოლაზა.....	32
I.2.4.3. კრებსის ციკლის ზოგიერთი ფერმენტი.....	33
I.2.5. სისხლის ლიპიდური ცვლის დარღვევები.....	34
I.2.5.1. ათეროგენეზის ლიპიდური რისკ-ფაქტორები.....	36
I.3 კრეატინი, როგორც ეგზოგენური დანამატი.....	40

I.4 პერიფერიული სისხლის მონონუკლეარული უჯრედები (PBMC).....	43
თავი II. კვლევის ობიექტი და მეთოდები.....	44
II.1. კვლევის ობიექტი.....	44
II.2. კრეატინის ინტრაპერიტონეალური მიწოდება.....	44
II.3. სუბუჯრედული ფრაქციების მიღება დე-რობერტისის მიხედვით.....	45
II.4 სისხლის პლაზმის მიღება.....	46
II. 5 პერიფერიული სისხლის მონონუკლეარული უჯრედების (PBMC) გამოყოფა.....	46
II.6. ჰორმონების რაოდენობის განსაზღვრა.....	46
II.7. აზოტის ოქსიდის რაოდენობის განსაზღვრა.....	46
II.8. აზოტის ოქსიდის სინთაზას აქტივობის განსაზღვრა.....	47
II.9. Ca ²⁺ -ის კონცენტრაციის განსაზღვრა.....	47
II.10. ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის ზოგიერთი პროდუქტის განსაზღვრა.....	48
II.11. სუპეროქსიდდისმუტაზას ფერმენტული აქტივობის განსაზღვრა.....	49
II.12. ფერმენტ კატალაზას აქტივობის განსაზღვრა.....	50
II.13. ფერმენტ გლუტათიონ რედუქტაზასა და გლუტათიონ პეროქსიდაზას აქტივობის განსაზღვრა.....	51
II.14. ფერმენტ აკონიტაზას აქტივობის განსაზღვრა.....	52
II.15. ფერმენტ ფუმარაზას აქტივობის განსაზღვრა.....	52
II.16. ფერმენტ სუქცინატდეჰიდროგენაზას აქტივობის განსაზღვრა.....	53
II.17. ფერმენტ ალდოლაზას აქტივობის განსაზღვრა.....	53
II.18. ატფ-ს რაოდენობრივი განსაზღვრა.....	54
II.19. ფერმენტ კრეატინკინაზას აქტივობის განსაზღვრა.....	54

II.20. კრეატინისა და ფოსფოკრეატინის რაოდენობრივი განსაზღვრა.....	55
II.21. კრეატინის მასინთეზირებელი ფერმენტის (GAMT) აქტივობისა და მატრანსპორტირებელი ცილის რაოდენობის განსაზღვრა.....	56
II.22. საერთო ქოლესტერინის და ტრიგლიცერიდების რაოდენობის განსაზღვრა.....	57
II.23. მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების (HDL) და დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების (LDL) რაოდენობის განსაზღვრა.....	57
II.24. დაჟანგული დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების (oxLDL) რაოდენობის განსაზღვრა.....	58
II.25. ჟანგბადის აქტიური რადიკალების რაოდენობის განსაზღვრა.....	59
II.26. ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრა ლოურის მეთოდით.....	59
II.27. სტატისტიკური ანალიზი.....	60

თავი III. მიღებული შედეგები და მათი განხილვა.....61

III.1. ფსიქო-ემოციური სტატუსის განსაზღვრა ხანგრძლივი იზოლირებისა და ცირკადული რიტმის დარღვევის პირობებში.....	61
III.2. გულის კუნთის ქსოვილსა და სისხლში აზოტის ოქსიდისა და ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის პროდუქტების რაოდენობრივი შემცველობის ცვლილება ხანგრძლივი ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში.....	65
III.3. გულის კუნთის ქსოვილსა და სისხლში ანტიოქსიდანტური სისტემის ზოგიერთი ფერმენტის აქტივობის ცვლილებები ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში.....	74
III.4. გულის კუნთის ქსოვილში ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმში მონაწილე ზოგიერთი ფერმენტის აქტივობის ცვლილება იზოლირებითა და დღე-ღამური რიტმის ცვლილებით გამოწვეული ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში.....	79
III.5. კრეატინის რაოდენობრივი ცვლილებები ხანგრძლივი ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში	83
III.6. ეგზოგენურად შეყვანილი კრეატინის გავლენა გულის კუნთის ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმსა და სისხლის ლიპიდურ სპექტრზე	90

მიღებული შედეგების მოკლე მიმოხილვა.....	102
დასკვნები.....	104
გამოყენებული ლიტერატურა.....	105
გამოქვეყნებული პუბლიკაციები.....	127
სამეცნიერო კონფერენციები.....	129

აბრევიატურები და შემოკლებები

5-HT-5-ჰიდროქსიტრიფტამინის რეცეპტორი

5-HTP-5-ჰიდროქსი-L-ტრიფტოფანი

AADC-5-ჰიდროქსიტრიფტოფან დეკარბოქსილაზა

AANAT-არალკილამინ-N-აცეტილტრანსფერაზა

ACTH-ადენოკორტიკოტროპული ჰორმონი

AGAT- L-არგინინ: გლიცინამიდინოტრანსფერაზა

cAMP-ციკლური ადენოზინმონოფოსფატი

CK-კრეატინკინაზა

CORT-კორტიკოსტერონი

CrT-კრეატინის ტრანსპორტერი

DMSO-დიმეთილსულფოქსიდი

EDRF-ენდოთელიუმის რელაქსაციის ფაქტორი

EDTA-ეთილენდიამინოტეტრააცეტატის მჟავა

eNOS-ენდოთელური აზოტის ოქსიდის სინთაზა

GAA-გუანიდინოაცეტატის მჟავა

GAMT-გუანიდინოაცეტატ-მეთილ ტრანსფერაზა

GPx-გლუტათიონ პეროქსიდაზა

GRF-კორტიკოტროპინ რილიზინგ ფაქტორი

GR-გლუკოკორტიკოიდული რეცეპტორები

GR-გლუტათიონ რედუქტაზა

GSH-გლუტათიონი

GSSG-გლუტათიონის დისულფიდი

H₂O₂-წყალბადის ზეჟანგი

HDL-მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინი

HPA-ჰიპოთალამუს-ჰიპოფიზ-თირკმელზედა ჯირკვლის ღერძი

iNOS-ინდუციბლური აზოტის ოქსიდის სინთაზა

LDL-დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინი

MCP-1-მონიციტების ქემოტაქსის ცილა-1
M-CSF-მაკროფაგების კოლონიის მასტიმულირებელი ფაქტორი
MM-LDL-მინიმალურად მოდიფიცირებული დსლპ
MR-მინერალოკორტიკოიდული რეცეპტორები
MT1-მელატონინის რეცეპტორი 1
MT2-მელატონინის რეცეპტორი 2
MTT 3-(4,5-დიმეთილთიაზოლი)-2,5-დიფენილტეტრაზოლიუმის ბრომიდი
nNOS-ნეირონული აზოტის ოქსიდის სინთაზა
NOS-აზოტის ოქსიდის სინთაზა
NO-აზოტის ოქსიდი
O₂⁻-სუპეროქსიდის რადიკალი
ONOO⁻-პეროქსინიტრიტი
oxLDL-დაჟანგული დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინი
PKA- cAMP-დამოკიდებულ პროტეინკინაზა A
PBMC-პერიფერიული სისხლის მონონუკლეარული უჯრედები
PKB-პროტეინკინაზა B
PMS-ფენაზილ მეტოსულფატი
ROS-ჯანგბადის აქტიური ფორმები
SNAT-სეროტონინ-N-აცეტილტრანსფერაზა
SOD-სუპეროქსიდდისმუტაზა
TMB-3,3',5,5'-ტეტრამეთილბენზიდინი
TPH-ტრიფტოფან ჰიდროქილაზა
აბრევიატურები და შემოკლებები
დსლპ-დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინები
კად-კორონარული არტერიების დაავადებები
მსლპ-მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინები
სსლპ-საშუალო სიმკვრივის ლიპოპროტეინები
ძდსპლ-ძალიან დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინები

შესავალი

ოცდამეერთე საუკუნემ გლობალიზაციის, ახალი ტექნოლოგიებისა და უამრავი სიახლის გარდა, მუდმივი სტრესის და ამ ფონზე განვითარებული ჯანმრთელობის დარღვევის რისკები წარმოშვა. თანამედროვე ცხოვრების რიტმი, წარმოების ავტომატიზაცია, ინფორმაციის უკონტროლო ნაკადი ადამიანისთვის მუდმივ სტრესს წარმოადგენს. თანამედროვე განმარტებით, სტრესი იმ დამცავი ფიზიოლოგიური რეაქციების ერთობლიობაა, რომლებიც ორგანიზმში გარემოს მავნე ფაქტორების ზემოქმედების საპასუხოდ და მათგან დასაცავად ცხადდება. თავდაპირველად, სტრესი დადებითად მოქმედებს ორგანიზმზე. ეს ზემოქმედება ინდივიდუალურად განსაზღვრული დროის მონაკვეთს მოიცავს. ხანმოკლე სტრესი ორგანიზმის ცხოველქმედების აუცილებელი ატრიბუტია, იმ დროს როდესაც ხანგრძლივმა სტრესმა შესაძლებელია ორგანიზმის დალუპვაც კი გამოიწვიოს. სტრესს-რეაქცია აღიძვრება არა მხოლოდ ძლიერი, ინტენსიური გამღიზიანებლის მოქმედებით, არამედ მისი გამოწვევა შეუძლია სუსტ გამღიზიანებელსაც ხანგრძლივი მოქმედების შემთხვევაში.

უკანასკნელი წლების გამოკვლევები გვიჩვენებს, რომ ქრონიკული სტრესი ძლიერ ზეგავლენას ახდენს ორგანიზმის ბიოქიმიურ მაჩვენებლებზე. ლიტერატურულ მონაცემების თანახმად, სტრესი არღვევს უჯრედის ფუნქციურ მდგომარეობას, აღრმავებს ან იწვევს ისეთ მნიშვნელოვან დაავადებებს, როგორცაა გულისა და ცერებროვასკულარული დაავადებები, ნეიროდეგენერაციული პათოლოგიები, დიაბეტი, ავთვისებიანი სიმსივნეები, ასთმა, ნევროზი, დეპრესია და სხვა [1-3], რაც გამოწვეულია სტრესის შედეგად უჯრედულ სტრუქტურებში მიმდინარე საპასუხო რეაქციებით, კერძოდ თავისუფალ-რადიკალური ჟანგვის გამღიერებით, უჯრედშიდა კალციუმის რაოდენობრივი ცვლილებებით, ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის დაქვეითებით და სხვა [4,5]. უკანასკნელ წლებში განსაკუთრებული ყურადღება ეთმობა სტრესის გავლენის შესწავლას გულ-სისხლძარღვთა სისტემის დაავადებების ფორმირების პროცესში [6,7].

ცნობილია, რომ სტრესის პირობებში ადგილი აქვს სისხლში დიდი რაოდენობით სპეციფიკური, ე.წ. „სტრესს-ჰორმონების“ გამოთავისუფლებას, რომლების აქტიურად

მოქმედებენ უჯრედში მიმდინარე მეტაბოლურ პროცესებზე და ცვლიან მათ მიმდინარეობას [8-10]. უჯრედული მეტაბოლიზმის ცვლილების ძირითად მახასიათებელს ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის (ლზჟ) აქტივაცია წარმოადგენს. ნორმალურ პირობებში ეს პროცესი განსაზღვრული ინტენსივობით აუცილებელია უჯრედის ფუნქციონირებისათვის. პროცესის მიმდინარეობა დამოკიდებულია ჟანგბადის აქტიური ფორმების წარმოქმნასა და უჯრედის ანტიოქსიდანტურ სისტემის ფუნქციონირების ხარისხზე. უჯრედის ფუნქციონირების პროცესში წარმოქმნილი თავისუფალი რადიკალები ურთიერთქმედებენ რა სხვადასხვა ტიპის მოლეკულებთან, მაგალითად აზოტის ოქსიდთან (NO), ინიცირებენ ლზჟ-ს პროცესს. NO თავის მხრივ, ადვილად ურთიერთქმედებს ჟანგბადის რადიკალთან, წარმოადგენს საკმაოდ ძლიერ დამჟანგველს (ONOO⁻) და აზიანებს გულის კუნთის უჯრედების მიტოქონდრიულ ფერმენტებს, ზემოქმედებს რა ცისტეინის ნაშთებზე, იწყება ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმში ჩართული სხვადასხვა ფერმენტის ინაქტივაცია. ასეთ ფერმენტებს მიეკუთვნება გლიცერალდეჰიდ-3-ფოსფატდეჰიდროგენაზა, კრეატინკინაზა (CK), NADH-დეჰიდროგენაზა, სუქცინატდეჰიდროგენაზა, ციტოქრომ C-რედუქტაზა, ATP-სინთაზა და სხვ., რასაც შესაბამისად მოსდევს ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ცვლილებები [11,12].

აღნიშნულიდან გამომდინარე უჯრედის „ნგრევის“ პროცესი სტრესული სიტუაციებისას ინტენსიურად მიმდინარეობს და გრძელდება მანამ, სანამ პროცესში არ ჩაერთვება ანტიოქსიდანტური სისტემა, რომლის დანიშნულებაცაა უჯრედის დაცვა ჭარბი რაოდენობის თავისუფალი რადიკალებისგან. ცხოველური ორგანიზმის ანტიოქსიდანტური სისტემა წარმოდგენილია მთელი რიგი ენდოგენური ნაერთებითა და ფერმენტული სისტემებით. ანტიოქსიდანტური ფერმენტული სისტემების აქტივობა უჯრედში მუდმივი არ არის და ზოგიერთ ფიზიოლოგიურ პირობებში იცვლება, მათ შორის ხანგრძლივი და ძლიერმოქმედი სტრესის შემთხვევაში. პროოქსიდანტური პროცესების ინტენსიფიკაცია, რომელიც აჭარბებს უჯრედის ანტიოქსიდანტურ შესაძლებლობებს, განაპირობებს ისეთ მნიშვნელოვან პროცესს, როგორცაა ოქსიდაციური სტრესი [13-15].

უჯრედულ მეტაბოლურ პროცესებს შორის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანია ენერგეტიკული ჰომეოსტაზის შენარჩუნება, რომელიც უზრუნველყოფილია სხვადასხვა მეტაბოლური გზებით (გლიკოლიზი, კრებსის ციკლი, ჟანგვითი ფოსფორილირება, ცხიმოვანი მჟავების დაჟანგვა და სხვ.) ყველა ცოცხალი უჯრედი, წარმოშობისა და ტიპის მიუხედავად, საჭიროებს ენერგიას სასიცოცხლო ფუნქციების განსახორციელებლად. ადენოზინტრიფოსფატი (ატფ) უჯრედული ენერგიის ძირითად წყაროს წარმოადგენს და მისი შიდაუჯრედული დონის შენარჩუნებას გადამწყვეტი მნიშვნელობა აქვს უჯრედული პროცესის მიმდინარეობისთვის. თუ უჯრედი ვეღარ ასწრებს დახარჯული ატფ-ს ჩანაცვლებას. ასეთ შემთხვევებში ატფ-ის მარაგის გამოლევა და უჯრედის ენერგეტიკული დონის დაცემა ხშირად აპოპტოზით ან ნეკროზით მთავრდება [16-18].

ცნობილია, რომ სტრესული სიტუაციები მნიშვნელოვნად მოქმედებენ სისხლის ლიპიდურ სპექტრზე და ზრდიან გულ-სისხლძარღვთა პათოლოგიების განვითარების რისკს. განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია ოქსიდაციური სტრესის ფონზე დაჟანგული დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების წარმოქმნა, რომლის ჭარბი რაოდენობით დაგროვება უარყოფითად მოქმედებს, სისხლძარღვის კედლის მთლიანობაზე და უზრუნველყოფს „ქაფიანი უჯრედების“ ჩამოყალიბებას, რაც თავის მხრივ ათეროსკლეროზის ჩამოყალიბების წინაპირობაა [19-22].

სამუშაოს მიზანი

სამუშაოს მიზანს წარმოადგენდა თეთრი ლაბორატორიული ვირთაგვას გულის კუნთის ქსოვილსა და სისხლში მეტაბოლური პროცესების მიმდინარეობის თავისებურების დადგენა სოციალური იზოლაციითა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევით გამოწვეული ხანგრძლივი ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში.

აქედან გამომდინარე, მიზნად დავისახეთ შემდეგი:

1. სოციალური იზოლაციითა და დღე-ღამური რიტმის დარღვევით გამოწვეული ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში გულის კუნთის ქსოვილსა და სისხლში ოქსიდაციური პროცესების შესწავლა;

2. ხანგრძლივი ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში გულის კუნთის ქსოვილში ჟანგვითი ფოსფორილირებისა და შესაბამისად, ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის მიმდინარეობის შესწავლა;

3. ეგზოგენურად შეყვანილი კრეატინის პრევენციული როლის განსაზღვრა ვირთაგვას გულის კუნთის ქსოვილში მიმდინარე ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმზე;

4. ხანგრძლივი ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში, ვირთაგვას სისხლის პლაზმის ლიპიდური მაჩვენებლების შესწავლა.

მეცნიერული კვლევის სიახლე: ნაშრომში პირველადაა დახასიათებული სტრესის კომბინირებული მოდელის (ხანგრძლივი სოციალური იზოლაცია, რომელიც მიმდინარეობს დღე-ღამური რიტმის დარღვევის ფონზე) პირობებში გულის კუნთის ქსოვილსა და სისხლში მიმდინარე ენერგეტიკული და ჟანგვითი მეტაბოლური პროცესების მიმდინარეობა. ასევე პირველადაა შესწავლილი ხანგრძლივი დროით ეგზოგენურად შეყვანილი კრეატინის გავლენა სისხლის ლიპიდურ შემცველობაზე.

ნაშრომის სტრუქტურა: ნაშრომი წარმოდგენილია 129 გვერდზე და მოიცავს შესავალს, ლიტერატურულ მიმოხილვას, კვლევის მეთოდებს, მიღებულ მონაცემებსა და მათ განხილვას და ასევე გამოყენებული ლიტერატურის ჩამონათვალს. ნაშრომში შეტანილია 32 სურათი და 2 ცხრილი.

ლიტერატურული მიმოხილვა

I.1. ხანგრძლივი ფსიქო-ემოციური სტრესის გავლენა ორგანიზმზე

სტრესი ცხოველური ორგანიზმის სპეციფიკური ფიზიოლოგიური რეაქციაა, რომლის მიზეზია სხვადასხვა გარეგანი, თუ შინაგანი არახელსაყრელი ფაქტორების არსებობა.

სტრესი ეს არის გამღიზიანებლის (ინტოქსიკაციის, ინფექციის, ძლიერი განცდის, სისხლის დაკარგვის, მაიონიზებული გამოსხივების, ტრამვისა და სხვ.) მოქმედების შედეგად ორგანიზმში მიმდინარე ქიმიური პროცესების წონასწორობის დარღვევა, რასაც პირველ ეტაპზე შეუძლია გამოიწვიოს რთული დაცვითი რეაქციების კომპლექსი ე.წ. ადაპტური სინდრომი (სტრესის ცნება პირველად შემოიღო კანადელმა მეცნიერმა ჰ. სელიემ 1936 წ.) [22].

ცნობილია, რომ სტრესი სასიცოცხლო მნიშვნელობისაა და ნებისმიერ „არასტანდარტულ“ სიტუაციაში ორგანიზმის დამცველობითი რეაქციაა. ხანმოკლე სტრესის შედაგად ორგანიზმი „ფხიზლდება“, ემატება ტონუსი, მზადაა საბრძოლველად და თავის დასაცავად, ან გასაქცევად, მაგრამ სტრესორის ხანგრძლივად მოქმედების შედეგი ორგანიზმზე უარყოფითია და შეიძლება მისი დაღუპვაც კი გამოიწვიოს [23].

თავდაპირველად მიაჩნდათ, რომ სტრესს ორგანიზმზე ყოველთვის დამანგრეველი, ნეგატიური გავლენა ჰქონდა, მაგრამ მოგვიანებით იმავე ჰანს სელიემ სტრესები დადებითებად და უარყოფითებად დაყო. დადებით სტრესს ეუსტრესი უწოდა, ხოლო უარყოფითს - დისტრესი [24,25].

სტრესი ძირითადად ორი სახისაა-ფიზიოლოგიური და ფსიქოლოგიური. სტრესორის მოქმედების ხანგრძლივობის მიხედვით გამოყოფენ სტრესის 2 ფორმას: მწვავეს და ქრონიკულს.

სტრეს-რეაქცია სამ სტადიად მიმდინარეობს:

1. საბრძოლო სტადია- განგაშის სტადია, როცა ხდება ორგანიზმის მობილიზაცია და იგი უკვე მზადაა ბრძოლისათვის ან გაქცევისათვის; ამ ეტაპზე არასასურველი ფაქტორების შედეგად იწყება ზოგიერთი ჰორმონის (ადრენალინის, ადრენოკორტიკოტროპული ჰორმონისა და გლუკოკორტიკოიდების) გაძლიერებული სეკრეცია;
2. რეზისტენტობის ფაზა, რომლის დროსაც სისხლში გლუკოკორტიკოიდების ჭარბი რაოდენობა იწვევს არასასურველი ზემოქმედების მიმართ ორგანიზმის გამძლეობის განვითარებას;
3. ადაპტაციის ან გამოფიტვის ანუ დისტრესის ფაზა. მესამე ფაზის განვითარება დამოკიდებულია იმაზე, თუ ენერჯის რა მარაგი გააჩნია ორგანიზმს ე.ი. ორგანიზმის რეაქცია სტრესულ ზემოქმედებაზე რეალიზდება ზოგადი ადაპტაციური სინდრომის სახით. გამოფიტვის სტადიაში თირკმელზედა ჯირკვლები წყვეტს საკმაო რაოდენობით გლუკოკორტიკოიდების გამოყოფას. ეს უკანასკნელი (სელიეს მიხედვით) დაცვით ჰორმონებს წარმოადგენენ და ამის გამო, ზოგადად, ორგანიზმის მდგომარეობა მძიმდება [26].

სტრესული სიტუაციებისადმი ადაპტაციის პროცესში მონაწილეობს როგორც ცენტრალური, ასევე პერიფერიული ნერვული სისტემა და ენდოკრინული სისტემა [27].

სტრესულ სიტუაციებზე პასუხისმგებელია თავის ტვინის სამი უბანი: ნუშურა ჯირკვალი, ჰიპოკამპი და პრეფრონტალური ქერქი. სამივე უბანში განლაგებულია კორტიკოსტეროიდული რეცეპტორები, რომელიც თავის მხრივ 2 ტიპისაა: მინერალოკორტიკოიდული და გლუკოკორტიკოიდული რეცეპტორები. მინერალოკორტიკოიდულ რეცეპტორებს (MR) გააჩნიათ მაღალი აფინობა კორტიზოლის მიმართ. ჩვეულებრივ პირობებში, ისინი ნაწილობრივ აქტიურები არიან. მუდმივად აქტიურდებიან მაშინ, როცა ირღვევა ორგანიზმის ჰომეოსტაზი. მეორე ტიპის რეცეპტორებს, გლუკოკორტიკოიდულ რეცეპტორებს (GR) გააჩნიათ დაბალი აფინობა კორტიზოლის მიმართ და აქტივდებიან მხოლოდ მაშინ, როცა სტრესის ინტენსივობა პიკს აღწევს. ეს საშუალებას აძლევს ტვინს სწრაფად წარმოქმნას საპასუხო რეაქცია გამდიზიანებელზე, ამიტომ ვუმკლავდებით ადვილად სტრესულ სიტუაციებს პირველ ეტაპზე, როდესაც სტრესორის მოქმედება ორგანიზმზე ქრონიკულ ხასიათს

იღებს, ნერვულ სისტემაში უჯრედულ დონეზე იწყებ მეტაბოლური ცვლილებები, რასაც მოსდევს ჯანმრთელობისთვის საშიში მდგომარობა. მაგალითად, სტრესის შედეგად მკვეთრად მცირდება ჰემატოენცეფალური ბარიერის უნარი შეზღუდოს სხვადასხვა ქიმიური ნივთიერებების გადასვლა თავის ტვინში სისხლის მიმოქცევის სისტემიდან [28-30].

სტრესის საპასუხო პროცესები მიმდინარეობს პერიფერიულ ნერვულ სისტემაშიც. კერძოდ ავტონომიური ნერვული სისტემის აქტივაცია განაპირობებს მთელი რიგი ქიმიური რეაქციების დაწყებას. პრეგანგლიური ნერვული უჯრედებიდან ხდება აცეტილქოლინის გამოთავისუფლება. აღნიშნული ნეიროტრანსმიტერი ასტიმულირებს პოსტგანგლიური ნეირონებიდან ნორადრენალინის გამოყოფას, რომელიც უშუალოდ სისხლის მიმოქცევის სისტემაში ხვდება და განაპირობებს ნერვული და ენდოკრინული სისტემების აქტივაციას [31].

ნორადრენალინი ააქტივებს ჰიპოთალამუს-ჰიპოფიზ-თირკმელზედა ჯირკვლის ღერძს (HPA), რომელიც თავის მხრივ, ამუშავებს ინფორმაციას ჰიპოთალამუსში სტრესორის შესახებ. სიგნალი ჰიპოთალამუსიდან სწრაფად გადაეცემა ჰიპოფიზში და საბოლოოდ ხვდება თირკმელზედა ჯირკვლის ქერქში, რომლის საპასუხოდ იწყება კორტიკოსტეროიდების, კერძოდ : კორტიზოლისა და კორტიკოსტერონის სეკრეცია[32].

გარდა ბიოქიმიური ცვლილებებისა, სტრესულ სიტუაციებს ორგანიზმი პასუხობს ფიზიოლოგიური ცვლილებებითაც. საბოლოოდ ქრონიკული სტრესი უარყოფით გავლენას ახდენს ორგანიზმზე და შესაძლოა მისი დაღუპვა გამოიწვიოს.

I.2. სტრესის ფონზე მეტაბოლიზმის ცვლილება გულ-სისხლძარღვთა სისტემაში

I.2.1 ხანგრძლივი იზოლაციითა და ცირკადული რიტმის დარღვევით გამოწვეული სტრესში მონაწილე ზოგიერთი ჰორმონის დახასიათება

I.2.1.1 მელატონინი

მელატონინი (N-აცეტილ-5-მეტოქსიტრიფტოფანი) აღმოჩენილია ცხოველებში, მცენარეებში, სოკოებსა და ბაქტერიებში. ხერხემლიანებში ეს ჰორმონი არეგულირებს დღე-ღამური რიტმს და მონაწილეობს სხვადასხვა ფიზიოლოგიური პროცესის ნორმალიზებაში [33]. მელატონინის ბიოლოგიური ეფექტი ვლინდება მისი რეცეპტორების აქტივაციის შემდგომ, გარდა ამისა, იგი განიხილება როგორც ძლიერი ანტიოქსიდანტი და მონაწილეობს ბირთვული და მიტოქონდრიული დნმ-ის დაცვაში [34-36].

ორგანიზმში მელატონინი წარმოიქმნება ეპიფიზის უჯრედებში – პინეალოციტებში N-აცეტილსეროტონინისაგან. მისი სეკრეცია სისხლში ხდება ღამით. დადგენილია, რომ ადამიანის ძილი მთლიანად დამოკიდებულია სინთეზირებული ჰორმონის რაოდენობაზე. ლიტერატურული მონაცემებით ეპიფიზში სეროტონინი გამომუშავდება დღისით და იგი მელატონინში გადადის ღამით. სინათლისა და სიბნელის ამგვარი მონაცვლეობა ასრულებს ერთგვარი ზამზარის როლს, რომელსაც მოძრაობაში მოყავს ეპიფიზში განლაგებული თავისებური ბიოლოგიური საათი [37-39]. ხშირ შემთხვევაში ნეიროდეგენერაციული პათოლოგია და სეზონური აფექტური აშლილობა გამოწვეულია ღამის საათებში მელატონინის სეკრეციის დაბალი დონით. მელატონინი აქტიურად მონაწილეობს ენდოკრინული, იმუნური, ვეგეტატიური და ცენტრალური ნერვული სისტემის მუშაობის რეგულაციაში [40-42]. გარდა ამისა, მელატონინი წარმატებით გამოიყენება ოსტეოპოროზის, გლაუკომის, ალცჰეიმერის, პარკისონის და სხვა დაავადებათა სამკურნალოდ [43]. იგი ადვილად ლახავს თავის ტვინის ჰემატოენცეფალურ ბარიერს და ხანგრძლივი მოხმარების შემთხვევაშიც კი არ

იწვევს გვერდით მოვლენებს. მელატონინი ამჟამად რეკომენდირებულია აშშ-სა და ევროპის მრავალ ქვეყანაში, როგორც კვებითი დანამატი (აშშ-ის 1994 წლის აქტის შესაბამისად კვებითი დანამატის შესახებ – Dietary Supplement Health and Education Act).

მრავალრიცხოვანი გამოკვლევების საფუძველზე დადგენილია, რომ მელატონინი სელექციურად დამთრგუნველ მოქმედებას ავლენს კიბოს უჯრედების გამრავლებაზე და ამუხრუჭებს მათ მიტოზურ დაყოფას in vitro და in vivo პირობებში. კერძოდ, in vitro ონკოსტატიკური ეფექტი ნაჩვენებია მკერდის ჯირკვლის კიბოსა და მელანომის უჯრედების კულტურებზე. თუმცა უჯრედის სიმსივნურ ზრდაზე მელატონინის მოქმედების მექანიზმი ბოლომდე არ არის გამოკვლეული [44].

მელატონინის ბიოსინთეზი ადამიანებსა და ცხოველებში მიმდინარეობს ჯალღუზისებურ სხეულში (ეპიფიზი). მელატონინს ეპიფიზი ამინომჟავა ტრიფტოფანისგან უპირატესად ღამით გამოიმუშავებს, ხოლო დღისით ეპიფიზში ტრიფტოფანისგან ნეირომედიატორი – სეროტონინი წარმოიქმნება [45,46].

მელატონინის სინთეზი მიმდინარეობს 4 სტადიად. პირველ და მეორე ეტაპზე ამინომჟავა L-ტრიფტოფანი ფერმენტ ტრიფტოფან-5-ჰიდროქსილზას მეშვეობით გარდაიქმნება 5-ჰიდროქსი-L-ტრიფტოფანად (5-HTP). შემდგომ ეტაპზე 5-HTP დეკარბოქსილირდება 5-ჰიდროქსიტრიფტოფან დეკარბოქსილზას მეშვეობით და მიიღება სეროტონინი.

სიბნელის პირობებში აქტივდება საკვანძო ფერმენტი არალკილამინ-N-აცეტილტრანსფერაზა (AANAT) იგივე, სეროტონინ-N-აცეტილტრანსფერაზა (SNAT) და ახდენს სეროტონინის გარდაქმნას N-აცეტილსეროტონინად, რომელსაც საბოლოოდ გარდაიქმნება მელატონინად ფერმენტი აცეტილსეროტონინ-O-მეთილტრანსფერაზას მიერ [47,48]. ცნობილია, რომ AANAT გენი აქტივდება მხოლოდ ფოტოპერიოდის გავლენით და ადამიანებში იგი ლოკალიზებულია მე-7 ქორმოსომაში.

ხერხემლიანებში მელატონინის სეკრეცია რეგულირდება ნორადრენალინით. ნორადრენალინი მაღლა წევს უჯრედშიდა cAMP-ის კონცენტრაციას ბეტა-ადრენერგული რეცეპტორების მეშვეობით და ააქტიურებს cAMP-დამოკიდებულ პროტეინკინაზა A-ს (PKA). ამ უკანასკნელის მეშვეობით მიმდინარეობს AANAT-ის

ფოსფორილირება. დღის სინათლის ზემოქმედებით კი ხდება ნორადრენერგული სტიმულაციის შეჩერება [49]. ცნობილია, რომ ლურჯი ფერის, 460-480 ნმ-ის ტალღის სიგრძის ნათება იწვევს მელატონინის სეკრეციის ინჰიბირებას და ინჰიბირების ინტენსივობა სინათლის ინტენსივობისა და ხანგრძლივობის პროპორციულია [50].

ორგანიზმის დაბერებასთან ერთად მცირდება ეპიფიზის მიერ მელატონინის გამომუშავების უნარი და იმავდროულად მისი მაქსიმალური კონცენტრაციის გამომუშავების პერიოდი სულ უფრო და უფრო უახლოვდება ღამის დამთავრების საათებს. როგორც აღმოჩნდა, ეს ფაქტი საფუძვლად უდევს ადამიანის დაბერების სიმპტომების გაჩენას. მელატონინი მთავარ მაინიცირებელ ფუნქციას ასრულებს ადამიანის ორგანიზმის ორგანოებისა და სისტემების მუშაობის აღდგენაში ძილის დროს [51-53].

გარდა სინქრონიზაციის რეგულირებისა, მელატონინს გააჩნია ანტიოქსიდანტური თვისებები. მას ადვილად შეუძლია გადალახოს უჯრედის მემბრანა და ჰემატოენცეფალური ბარიერი, რის შემდეგაც უკავშირდება ისეთ თავისუფალ რადიკალებს, როგორებიცაა O_2^- , NO^- , OH^- [54,55]. მელატონინი მოქმედებს სხვა ანტიოქსიდანტებთან ერთად და უზრუნველყოფს მათ ეფექტურ მუშაობას. იგი 2-ჯერ აქტიურია, ვიდრე ისეთი ძლიერი ანტიოქსიდანტი, როგორიცაა ვიტამინი E და ითვლება, რომ არის ყველაზე ლიპოფილური ანტიოქსიდანტი [56].

ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ მელატონინი მონაწილეობს იმუნური სისტემის რეგულირებაში. მას გააჩნია მაღალი აფინურობა MT1 და MT2 რეცეპტორებთან მიმართებაში. პრეკლინიკური კვლევები ადასტურებს, რომ მელატონინმა შეიძლება გაზარდოს ციტოკინების პროდუქცია და ამით გაუწიოს წინააღმდეგობა ორგანიზმში მიმდინარე იმუნოდეფიციტურ მდგომარეობებს. მას ასევე გააჩნია დადებითი ეფექტი ისეთი ინფექციური დაავადებების წინააღმდეგ ბრძოლაში, როგორიცაა აივ-ი და ბაქტერიული ინფექციები, თუმცა რა მექანიზმით ხორციელდება ყოველივე ზემოთ აღნიშნული, ჯერჯერობით უცნობია [57].

I.2.1.2 სეროტონინი

სტრესორის ზემოქმედებისას ორგანიზმში მიმდინარე ცვლილებები 2 სახისაა: ქცევითი და ნეიროენდოკრინული, რომელიც თავის მხრივ ხორცილედება სიმპატიკური ნერვული სისტემისა და HPA-ღერძის აქტივაციის შედეგად. არსებობს უამრავი მტკიცებულება იმის შესახებ, რომ სტრესის შედეგად თავის ტვინის სხვადასხვა უბანში (ჰიპოკამპში, ჰიპოთალამუსში, ქერქში და ა.შ.) აქტივებიან სეროტონინერგული რეცეპტორები, რის შედეგადაც გამოთავისუფლდება სეროტონინი და იწყება სხვადასხვა მეტაბოლური ცვლილებები [58,59].

სეროტონინი წარმოადგენს ამინის ჯგუფის შემცველ ნეიროტრანსმიტერს, რომელიც მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ცენტრალურ ნერვულ სისტემის და საჭმლის მომნელებელ ტრაქტის ფუნქციონირებაში. ორგანიზმში სინთეზირებული სეროტონინის უდიდესი ნაწილი მოდის საჭმლის მომნელებელ ტრაქტზე, სადაც იგი არეგულირებს ნაწლავების პერისტალტიკას და ასევე საჭმლის მონელებასთან დაკავშირებულ სხვა პროცესებს. ორგანიზმში არსებული სეროტონინის დაახლოებით 20% გამოუმუშავდება თავის ტვინში და მონაწილეობს ემოციური სტაბილურობის და ხასიათის რეგულირებაში. იგი ასევე მოქმედებს ცირკადულ რიტმზე [60,61].

სეროტონინის სინთეზი მიმდინარეობს ორ ეტაპად: პირველ ეტაპზე L-ტრიფტოფანისგან ფერმენტ ტრიფტოფან ჰიდროქილასას (TPH) მეშვეობით წარმოიქმნება 5-ჰიდროქსიტრიფტოფანი, შემდგომ ეტაპზე კი სინთეზირებული პროდუქტი განიცდის დეკარბოქსილირებას და ფერმენტ 5-ჰიდროქსიტრიფტოფან დეკარბოქსილასას (AADC) მეშვეობით, რასაც მოსდევს 5-ჰიდროქსიტრიფტამინის ანუ სეროტონინის სინთეზი [62].

სეროტონინის ეფექტი რეალიზდება მას შემდეგ, რაც გააქტივდება მისი რეცეპტორები. ცნობილია სეროტონინის რეცეპტორთა რამოდენიმე ოჯახი (5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆, 5-HT₇), რომლებიც G-ცილებთან ასოცირებული რეცეპტორებია. გამონაკლისია 5-HT₃, რომელიც ლიგანდ-დაჭიმურული იონური არხია. 5-HT₃ რეცეპტორის გააქტივება იწვევს Ca²⁺ -ის შედინებას უჯრედებში, თუმცა ამ პროცესის განხორციელების მექანიზმი უცნობია [63].

აღსანიშნავია, რომ აღნიშნული რეცეპტორებიდან ყველა არაა მგრძობიარე სტრესის ზემოქმედებისადმი. ამ პროცესში წამყვანი როლი აკისრია 5-HT_{1A} რეცეპტორს, რომელიც წარმოადგენს აუტორეცეპტორს და მნიშვნელოვან როლს ასრულებს სეროტონინის გამოთავისუფლებაში. არსებობს მონაცემები იმის შესახებ, რომ მწვავე სტრესის პირობებში შესაძლოა გააქტიურდეს ან ინჰიბირდეს ჰიპოკამპსა და ქერქში არსებული 5-HT_{1A} რეცეპტორი [64-66].

ნანახია, რომ ქრონიკული სტრესის დროს სეროტონინის შემცველობა სისხლში მკვეთრად მატულობს, რაც თავის მხრივ, გავლენას ახდენს კორტიკოსტერონისა და კორტიზოლის გამოთავისუფლების პორცესზე.

სეროტონინის ჭარბი რაოდენობა ააქტივებს ენდოთელიალურ აზოტის ოქსიდის სინთაზას (eNOS), რომელიც თავის მხრივ ასინთეზირებს NO-ს [67]. ასევე ენტეროქრომაფინული უჯრედების მიერ სინთეზირებული სეროტონინის სისხლის მიმოქცევის სისტემაში მოხვედრის შემდგომ, მას აქტიურად მიიტაცებენ თრომბოციტები და თრომბის შექმნის დროს გამოყოფენ, ამ შემთხვევაში სეროტონინს გააჩნია ვაზოკონსტრიქციული ეფექტი [68].

I.2.1.3 კორტიკოსტერონი

გლუკოკორტიკოიდები მოქმედებენ თავის ტვინზე, კერძოდ ჰიპოფიზის წინა წილზე, როგორც სტრესული პირობებით ინდუცირებული კორტიკოტროპინ რილიზინგ ფაქტორისა (GRF) და ადენოკორტიკოტროპული ჰორმონის (ACTH) სეკრეციის ინჰიბიტორები. სტრესის პირობებში ირღვევა აღნიშნული კავშირი, რასაც მოსდევს კორტიკოსტერონის ჭარბი რაოდენობით გამოთავისუფლება [69].

თირკმელზედა ჯირკვალში სინთეზირებული კორტიკოსტერონი წარმოადგენს ერთ-ერთ ძირითად სტრესს ჰორმონს, რომელიც მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ლიმბური სისტემის ნეირონთა ნორმალურ ფუნქციონირებაში [70-72]. ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ კორტიკოსტერონი გავლენას ახდენს ცენტრალურ ნერვულ სისტემაში სინაფსური კავშირებით განპირობებულ პროცესებსა და იონურ არხების ფუნქციონირებაზე [73]. კერძოდ, იგი მოქმედებს L-ტიპის კალციუმის არხებზე და

ზრდის მათ განვლადობას, თუმცა რა მექანიზმით ხორციელდება ეს პროცესი, ჯერჯერობით დაუდგენელია [74-77].

კორტიკოსტერონი მოქმედებს მინერალოკორტიკოიდულ და გლუკოკორტიკოიდულ რეცეპტორებზე [78,79]. ამ ჰორმონის მატება სისხლში იწვევს ინსულინის და ლეპტინების რაოდენობრივ ცვლილებებს, რაც თავის მხრივ, გავლენას ახდენს ორგანიზმში მიმდინარე მეტაბოლიზმზე. სტრესული სიტუაციების შედეგად ხდება ჰიპოთალამუს-ჰიპოფიზ-თირკმელზედა ჯირკვლის (HPA) ფუნქციური ჯაჭვის დისრეგულაცია, რა დროსაც მნიშვნელოვან როლს თამაშობს კორტიკოსტერონი (CORT), რასაც შესაძლო მოყვეს დეპრესიის მსგავსი სინდრომის განვითარება [80].

I.2.2 აზოტის ოქსიდი

აზოტის ოქსიდი, ქიმიური ფორმულით NO წარმოადგენს სისხლძარღვთა ტონუსის რეგულატორს. დღეისათვის მისი მნიშვნელობა ბიოლოგიასა და მედიცინაში ეჭვს არ იწვევს. აზოტის ოქსიდი არატიპიური სასიგნალო მოლეკულაა. უჯრედის ფუნქციური პასუხი NO-ს მოქმედებაზე სხვადასხვაგვარია და მნიშვნელოვანწილად დამოკიდებულია არა მხოლოდ სამიზნე უჯრედის ფენოტიპზე, არამედ NO-ს რაოდენობაზე უჯრედში, ასევე NO-სა და გარშემო არსებული მოლეკულების ჟანგვა-აღდგენით მდგომარეობაზე [81-87].

აზოტის ოქსიდი აქტიურად მონაწილეობს მრავალ ფიზიოლოგიურ და ბიოქიმიურ პროცესში. NO უჯრედში სინთეზირდება L-არგინინისა და ჟანგბადისაგან აზოტის ოქსიდის სინთაზას (NO-S) მეშვეობით. რეაქცია მიმდინარეობს NADPH₂-ისა და O₂-ის თანაობისას, შედეგად კი მიიღება ციტრულინი, NADP⁺ და NO.

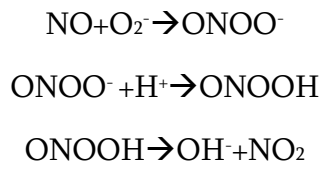
ცნობილია NOS-ს სამი იზოფორმა: ენდოთელური NOS (eNO-S, ტიპი III), ინდუცირებული NOS (iNO-S, ტიპი II) და ნეირონული NOS (nNO-S, ტიპი I). მათგან ორი, კერძოდ nNOS-ს და eNOS სტაციონარულია. აუცილებელია აღინიშნოს, რომ ნებისმიერი ქსოვილი, რომელთაც აქვთ NO-ს წარმოქმნის უნარი სხვადასხვა ფიზიოლოგიური მდგომარეობის დროს, შეიძლება შეიცავდეს NOS-ის ერთზე მეტ ფორმას [88-91].

აზოტის ოქსიდის სასიგნალო ფუნქციის განსახორციელებლად მოლეკულურ სამიზნეს წარმოადგენს ხსნადი გუანილატციკლაზა. აზოტის ოქსიდი ააქტივებს გუანილატციკლაზას ჰემში შემავალი რკინის დაკავშირებით, რასაც მოსდევს უჯრედში cGMP-ს შეცვლა. სწორედ ეს უდევს საფუძვლად NO-ს მიერ განხორციელებულ გლუვი კუნთის მოდუნებასა და ვაზოდილატაციას. თავის ტვინში იგი ააქტიურებს NMDA რეცეპტორს და აპროდუცირებს ნეიროტრანსმიტერს, რომელიც ახორციელებს სასუნთქი სისტემის, საშარდე გზების, გლუვი კუნთებისა და ნაწლავების რელაქსაციას [92].

NO-ს სამიზნეა ასევე ცილების შემადგენლობაში არსებული სულფჰიდრილური ჯგუფები, რომლებთან ურთიერთქმედებით წარმოიქმნება ნიტროზოთიოლი [93]. ნიტროზილირებული ჰემოგლობინი ბუნებრივი ტრანსპორტერია, რომელიც ქმნის NO-ს მარაგს [94]. გულის კუნთის უჯრედებში აზოტის ოქსიდი უკავშირდება მემბრანაში არსებული რიანოდინის რეცეპტორის HS- ჯგუფს და იწვევს მის გააქტივებას. ეს უკანასკნელი წარმოადგენს კალციუმის არხს [95].

ჭარბი რაოდენობით აზოტის ოქსიდის დაგროვებამ შეიძლება გამოიწვიოს მიტოქონდიის სუნთქვის ჯაჭვის I და IV კომპლექსების ინჰიბირება, რაც თავის მხრივ, უჯრედის ენერგეტიკული გამოფიტვის წინაპირობას წარმოადგენს [96].

მნიშვნელოვანია აზოტის ოქსიდის როლი ოქსიდაციური სტრესის მიმდინარეობისას. აზოტის ოქსიდი წარმოადგენს ანიონ-რადიკალს, თუმცა მისი ჟანგვა-აღდგენითი პოტენციალი შედარებით სუსტია. სუპეროქსიდური ანიონ-რადიკალის თანაობისას, იგი ჯერ პროქსინიტრიტის რადიკალს, ხოლო შემდგომ ჰიდროქსილის რადიკალს წარმოქმნის:



ამ რეაქციის გამო, აზოტის ოქსიდი, რომელიც ფიზიოლოგიურ კონცენტრაციებში ნორმალურ მეტაბოლურ რეაქციებში იღებს მონაწილეობას, მაღალ კონცენტრაციებში

ხდება ტოქსიკური და უჯრედული კომპონენტების ნგრევას განაპირობებს. მაგალითად, მაგროფაგები უცხო უჯრედის დესტრუქციას აზოტის ოქსიდით და სუპეროქსიდ-რადიკალით იწვევენ. ამიტომ, აზოტის ოქსიდის დიდი რაოდენობის წარმოსაქმნელად იმუნურ უჯრედებს დამატებითი NO-სინთაზას ინდუცირებადი გენი გააჩნია [97].

eNOS მნიშვნელოვან როლს ასრულებს სისხლძარღვთა ფუნქციის რეგულირებაში, ჭარბი რაოდენობით მის მიერ NO-ს წარმოქმნამ შეიძლება გამოიწვიოს ათეროსკლეროზის განვითარება. დაზიანებულ ენდოთელიუმში ძლიერდება ზეჟანგური ჟანგვის პროცესები, კერძოდ ადგილი აქვს ოქსიდაციური სტრესის ჩამოყალიბებას და LDL-ის ჟანგვით მოდიფიკაციას [98].

I.2.3 ოქსიდაციური სტრესი და ანტიოქსიდანტური სისტემის ზოგიერთი ფერმენტი

I.2.3.1 ოქსიდაციური სტრესი და ჟანგბადის აქტიური ფორმები (ROS)

ცნობილია, რომ ნებისმიერი სტრესის შედეგად ცოცხალი ორგანიზმის უჯრედში იწყება საპასუხო რეაქციები, კერძოდ თავისუფალ-რადიკალური ჟანგვა, უჯრედშიდა კალციუმის რაოდენობრივი ცვლილებები, ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის დაქვეითება, და სხვა, რაც საბოლოოდ მთავრდება მთელი რიგი პათოლოგიების ჩამოყალიბებით [99]. უკანასკნელ წლებში განსაკუთრებული ყურადღება ეთმობა ამ ფაქტორების გავლენის შესწავლას გულ-სისხლძარღვთა სხვადასხვა ტიპის დაავადებების ფორმირების პროცესში [100].

უჯრედში გამუდმებით მიმდინარეობს ჟანგვა-აღდგენითი რეაქციები, რომელიც საფუძვლად უდევს ქიმიური ენერჯის წარმოქმნას, რთული ციკლური აღნაგობის მქონე ნივთიერებების ბიოსინთეზას და მათ დეგრადაციას. ყოველ უჯრედს გააჩნია თავისი რედოქს-სტატუსი, რომელიც დამოკიდებულია ჟანგვითი და აღდგენითი რეაქციების ინტენსივობაზე [101]. ის ძირითად ნივთიერებები, რომლებიც განსაზღვრავენ უჯრედის ჟანგვა-აღდგენით სტატუსს შემდეგია: გლუტათიონი, NADH₂, და NADPH₂.

უჯრედში ჟანგვითი პოტენციალის მატებასა და მისი ჰომეოსტაზის გადანაცვლებას ჟანგვითი პროცესებისკენ, ოქსიდაციური სტრესი ეწოდება. დამჟანგავ და აღმდგენელ სისტემებში ბალანსის დარღვევა შეიძლება განპირობებული იქნას ჟანგბადის აქტიური ფორმების (ROS) ინტენსიური წარმოქმნით, ან ანტიოქსიდანტური სისტემების დეფიციტით. სხვადასხვა ტიპის ეგზოგენურმა სტრესმა შესაძლებელია უჯრედში ოქსიდაციური სტრესი გამოიწვიოს. ჟანგბადის მოხმარების მატება ასევე იწვევს დიდი რაოდენობით ზეჟანგური პროდუქტების წარმოქმნას. სხვადასხვა ქსენობიოტიკებმაც, განსაკუთრებით ანტიბიოტიკებმა, ციტოქრომ P450-ის გააქტივების შედეგად შეიძლება ოქსიდაციური სტრესი წარმოქმნას [102].

იმ შემთხვევაში, როდესაც ოქსიდაციური სტრესი უჯრედის სასიცოცხლო ფუნქციებზე მოქმედებს, მაგალითად იწვევს ცვლილებებს დნმ-ში მოლეკულაში, იგი შეუქცევადი და უჯრედისათვის ლეტალური ხდება. თუ ოქსიდაციური სტრესი ხანოკლეა, მაშინ ის შექცევად ხასიათს ატარებს. ამიტომ ანტიოქსიდანტური სისტემების აქტივობის ხანგრძლივი დაქვეითება, ან ქრონიკული ანთებითი პროცესები უჯრედის დაღუპვის მიზეზი ხდება.

ოქსიდაციური სტრესის ინიცირებაში მნიშვნელოვანი როლი აკისრია ჟანგბადის აქტიური ფორმებს (ROS), რომელთა ბიოლოგიური ეფექტი, კონცენტრაციის შესაბამისად, შეიძლება იყოს რეგულატორული ან ტოქსიური. ROS მოიცავს, როგორც თვისუფალ რადიკალებს (O_2^- , OH^-) ასევე არარადიკალურ ფორმებს (მაგ. H_2O_2) [103].

ჟანგბადის აქტიური ფორმების წარმოქმნის ძირითად წყაროს უჯრედებში წარმოადგენს მიტოქონდრიები. ROS-ების რაოდენობა მატულობს ჟანგბადის გაძლიერებული მოწოდების ან მიტოქონდრიების სუნთვის ჯაჭვის მუშაობის დარღვევის შედეგად. მათი წარმოქმნის მიზეზი ასევე ხდება ენდოპლაზმურ რეტიკულუმში, პეროქსისომებსა და პლაზმურ მემბრანაში მიმდინარე სხვადასხვა პროცესი [104].

ფიზიოლოგიურ პირობებში ROS-ს დიდი მნიშვნელობა აქვს, რადგან ისინი ჩართული არიან ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების წარმოქმნისა და ბაქტერიებისა და ვირუსების გაუვნებელყოფის პროცესში, ასევე ნივთიერებათა ცვლაში

და სხვა მნიშვნელოვან პროცესებში. მცენარეულ და ცხოველურ უჯრედში დაბალ და საშუალო კონცენტრაციის პირობებში ასრულებენ მეორადი მესენჯერის როლს [105-107].

ROS-ინდუცირებული დნმ-ს ჟანგვითი პროცესები ყველაზე ხშირად იწვევს მუტაციების წარმოქმნას, რაც თავის მხრივ განაპირობებს გენომურ არასტაბილურობას და პირდაპირ უწყობს ხელს კარცინოგენეზის განვითარებას [108].

ლიტერატურიდან ცნობილია ROS-ის როლი აპოპტოზისა და ნეკროზის განვითარებაში. იგი აქტიურად მონაწილეობს ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის პროცესში და ცვლის მემბრანის განვლადობას, რასაც საბოლოოდ მივყავართ ამ უკანასკნელის სტრუქტურულ რღვევამდე [109,110].

როგორც უკვე ავღნიშნეთ, ჭარბი რაოდენობით ჟანგბადის აქტიური ფორმები (ROS) ინიცირებს ოქსიდაციური სტრესის განვითარებას, რომელიც მთავარ როლს ასრულებს დაბერების, ათეროსკლეროზის, გულის იშემიური დაავადების, სარქველოვანი დაზიანების, გულის უკმარისობის და სხვა დაავადებების პათოგენეზში.

გარდა ზემოთ აღნიშნულისა, ჟანგბადის აქტიური ფორმების ჭარბმა კონცენტრაციამ შესაძლოა უარყოფითად იმოქმედოს უშუალოდ ანტიოქსიდანტური სისტემის ფერმენტების ნორმალურ ფუნქციონირებაზე [111,112].

I.2.3.2. ანტიოქსიდანტური სისტემის ზოგიერთი ფერმენტი

ჭარბი რეაქციული ჟანგბადის გაუვნებელყოფისთვის უჯრედში ფუნქციონირებს ე.წ. ანტიოქსიდანტური სისტემა. ამ სისტემის ფუნქციონირების შედეგად ადგილი აქვს ოქსიდაციური პროცესების შეფერხებას. ანტიოქსიდანტური სისტემის ფუნქციონირებაში ჩართულია მთელი რიგი ფერმენტული და არაფერმენტული, დაბალმოლეკულური ნაერთები, რომლებსაც ანტიოქსიდანტები ეწოდება. ოქსიდაციური და ანტიოქსიდაციური რეაქციების ერთობლივობა ორგანიზმში ქმნის ერთგვარ ფუნქციურ სისტემას, რომლის მოქმედების საბოლოო მიზანია უჯრედის ჰომეოსტაზის შენარჩუნება [113,114].

უჯრედში არსებული ანტიოქსიდანტური ფერმენტები რამდენიმეა, რომლებიც ქმნიან უჯრედის დაცვის გარკვეულ რგოლს. დაცვითი სისტემის პირველი რგოლი წარმოდგენილია ფერმენტით სუპეროქსიდდისმუტაზა (SOD). სოდ-ის დახმარებით უჯრედში არსებული სუპეროქსიდ რადიკალი (O_2^-) გადადის ელექტრონეიტრალურ ფორმაში - H_2O_2 , რომელიც შემდგომ ფერმენტ კატალაზას მეშვეობით შესაძლოა გარდაქმნას წყლად (H_2O) და თავისუფალ ჟანგბადად (O_2) ან გლუტათიონპეროქსიდაზას მოქმედებით წარმოქმნილი წყალბადის ზეჟანგიდან და აღდგენილი გლუტათიონიდან წარმოიქმნას წყლის მოლეკულა, რეაქციის შედეგად აღდგენილი აქვს გლუტათიონის დაჟანგვა. გარდა აღნიშნულისა წყალბადის ზეჟანგმა ნეიტრალური მოლეკულის სახით, შეიძლება დატოვოს უჯრედი [115,116].

გარდა ფერმენტული სისტემებისა, ციტოპლაზმაში არსებობს სხვადასხვა დაბალმოლეკულური ნივთიერებები, რომელთაც ასევე აქვთ ანტიოქსიდანტური თვისებები. ასეთებია ასკორბინის მჟავა, უბიქინონი, α -ტოკოფეროლი და სხვ. [117].

ა) სუპეროქსიდდისმუტაზა (SOD)

სუპეროქსიდდისმუტაზების ოჯახს მიეკუთვნება ფერმენტები, რომლებიც აკატალიზებს ROS-ის დისმუტაციის რეაქციას, რის შედეგად წარმოიქმნება მოლეკულური ჟანგბადი და წყალბადის ზეჟანგი [118]. ფერმენტი წარმოდგენილია ყველა უჯრედსა და აგრეთვე უჯრედგარე სითხეებში. მის შემადგენლობაში კოფერმენტების სახით გვხვდება სპილენძი, მაგნიუმი, თუთია ან რკინა. ფერმენტში მეტალის რაობა დამოკიდებულია ფერმენტის იზოენზიმურ ფორმებზე. მაგალითად, ადამიანებში სპილენძი/თუთიას შემცველი სუპეროქსიდდისმუტაზა წარმოდგენილია ციტოზოლში (SOD1), მაშინ როცა მაგნიუმის შემცველი SOD-ი გვხვდება მიტოქონდრიაში (SOD2) [119]. არსებობს მესამე ტიპის სოდ-ი, რომელიც ძირითადად წარმოდგენილია ექსტრაუჯრედულ სითხეებში, და კოფერმენტის სახით შეიცავს თუთიასა და სპილენძს (SOD3) [120].

ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობის გაზრდისას სუპეროქსიდდისმუტაზა ვეღარ ახორციელებს ROS-ის სწრაფ და ეფექტურ შებოჭვას, ამიტომ პორცესს შესაძლოა

მოყვეს უჯრედის აპოპტოზის ან ნეკროზი. SOD1-ის მუტაციამ და აქტივობის ცვლილება ხდება ისეთი პათოლოგიების ჩამოყალიბება, როგორცაა ამიოტრიფული ლატერალური სკლეროზი (მოტორული ნეირონების დაზიანება) და სხვ. დაუნის სინდრომისას ნეირონებში ნანახია SOD1 ზეექსპრესია [121]. ექსპერიმენტულად თავგებში ნანახია, რომ SOD3-ის რაოდენობრივი მატება იწვევს ჰიპერტენზიის განვითარებას [122].

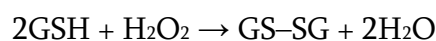
SOD გამოიყენება ფარმაკოლოგიური მიზნებითაც, კერძოდ ქრონიკული ანთების დროს SOD-ის ინტრავენური შეყვანა იწვევს დაზიანებულ არეში ოქსიდაციური პროცესების ნორმალიზაციას, რაც გამოიხატება ანთების კერაში პროცესის ინტენსივობის დაქვეითებით [123].

ბ) კატალაზა

ფერმენტი კატალაზა წარმოადგენს ტეტრამერს და ნანახია თითქმის ყველა ცოცხალ ორგანიზმში. იგი გარდაქმნის წყალბადის ზეჟანგს წყლად და მოლეკულურ ჟანგბადად, რისთვისაც იყენებს რკინასა და მაგნიუმს, როგორც კოფაქტორებს. ეუკარიოტულ უჯრედებში ფერმენტი უმეტესად წარმოდგენილია პეროქსისომებში. კატალაზას აქტივობის დაქვეითება იწვევს ოქსიდაციური პროცესების გაძლიერებას [124]. ადამიანის ორგანიზმში კატალაზას მოქმედების ოპტიმალურ ტემპერატურას 45°C წარმოადგენს, თუმცა ტემპერატურაზე დამოკიდებულება ვარირებს სახეობათა მიხედვით [125]. ფერმენტის არარსებობისას ვითარდება ისეთი ტიპის აუტოსომურ-რეცესიული დაავადება, როგორცაა აკატალაზემია [126].

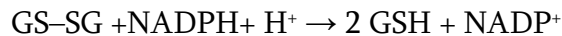
გ) გლუტათიონ პეროქსიდაზა (GPx) და გლუტათიონ რედუქტაზა (GR)

გლუტათიონ პეროქსიდაზა ბიოლოგიური როლი მდგომარეობს დაიცვას უჯრედი ჭარბი ჟანგვითი პროცესებისგან. იგი აკატალიზებს რეაქციას, რის შედეგადაც 2 მოლეკულა გლუტათიონისა (GSH) და წყალბადის პეროქსიდისაგან, მიიღება გლუტათიონის დისულფიდი (GSSG) და წყალი.



არსებობს გლუტათიონ პეროქსიდაზას რამოდენიმე იზოფორმა. ყველაზე გავრცელებულია გლუტათიონ პეროქსიდაზა 1 (GPx1), რომელიც ნანახია ყველა ცხოველურ ორგანიზმის ციტოპლაზმაში. GPx4 ცნობილია, როგორც ფოსფოლიპიდური ჰიდროპეროქსიდი, რომელიც პლაზმურ მემბრანასთანაა ასოცირებული. GPx2-ნანახია ნაწლავსა და ექსტრაცელულარულ არში, ხოლო GPx3 პლაზმაში, რომლის შემცირებულმა რაოდენობამ შესაძლოა დამოიწვიოს ვიტლიგოს განვითარება [127]. კვლევებით ნანახი იქნა, რომ გლუტათიონ პეროქსიდაზას, კატალაზასა და სუპეროქსიდდისმუტაზას აქტივობის შემცირება ზრდის გულის იშემიური დაავადების რისკს [128].

გლუტათიონ-რედუქტაზა აკატალიზებს დაჟანგული GSSG აღდგენას GSH-ად. აღნიშნული პროცესს, მნიშვნელოვანი როლი გააჩნია ოქსიდაციური სტრესის რეგულაციაში.



აღნიშნული ფერმენტი არის ჰომოდიმერული ფლავოპროტეინი. მისი მაკოდირებელი გენის მუტაცია იწვევს მემკვიდრეობით გლუტათიონ რედუქტაზას დეფიციტს, რაც კლინიკურად გამოიხატება ჰემოლიზური ანემიის განვითარებაში (ფავიზმი) [129].

ასეთი მძლავრი დაცვითი ანტიოქსიდანტური მექანიზმების არსებობის გამო რეაქციული ჟანგბადის შემცველი ნაერთები მიტოქონდრიაში შედარებით ნაკლები რაოდენობით წარმოიქმნება. მაგრამ საკმარისია კვების დეფიციტი, რათა ტოქსინების ან სხვა პათოგენური ზემოქმედების შედეგად სუნთქვითი ჯაჭვის მსვლელობა შეფერხდეს, რასაც მოსდევს ჟანგბადის არასრული აღდგენა და დიდი რაოდენობით თავისუფალი რადიკალების დაგროვება. ეს უკანასკნელი უპირველეს ყოვლისა, მიტოქონდრიებს აზიანებს, რითაც კიდევ უფრო მძიმდება დარღვეული მეტაბოლიზმი. ბუნებრივია, თუ გამაუვნებელმყოფელი სისტემების აქტივობა დაქვეითებულია, მიტოქონდრიების დაზიანება გარდაუვალია.

I.2.4 უჯრედის ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმში მონაწილე ზოგიერთი ფერმენტის დახასიათება

სტრესული სიტუაციების შედეგად სხვადასხვა პათოლოგიების განვითარება დაკავშირებულია უჯრედში მიმდინარე მეტაბოლური პროცესების დარღვევასთან. ცნობილია, რომ მეტაბოლური პროცესების ნორმალიზირებისათვის აუცილებელია უჯრედში ატფ-ის ოპტიმალური რაოდენობის არსებობა.

ნორმალურ პირობებში ატფ-ის 95% სინთეზირდება მიტოქონდრიაში ჟანგვითი ფოსფორილირების გზით. დარჩენილი 5% წარმოიქმნება გლიკოლიზის შედეგად [130,131]. წარმოქმნილი ენერჯის 60-70% იხარჯება გულის კუნთის შეკუმშვისთვის, ხოლო 30-40% კი ენერგოდამოკიდებული იონური არხების მუშაობისათვის, განსაკუთრებით Ca^{2+} -ატფ-აზა-ს ფუნქციონირებისათვის სარკოპლაზმურ რეტიკულუმში [132]. გულის კუნთის უჯრედების მეტაბოლიზმში ასევე დიდ როლს ასრულებს Cr/CK/PCr სისტემა, რომელიც სწრაფად და დინამიურად ადადგენს დახარჯული ატფ-ს დონეს უჯრედებში. სტრესული სიტუაციებისას ენერგეტიკული მეტაბოლიზმი ირღვევა, რაც გამოიხატება პროცესში მონაწილე ფერმენტების აქტივობის ცვლილებით, რისი მიზეზიც შესაძლოა იყოს სუბსტრატის რაოდენობრივი ცვლილებები ან თვით ფერმენტის მოდიფიკაცია. ასეთ სიტუაციებში უჯრედის უზრუნველყოფა ველარ ხდება საჭირო რაოდენობის ატფ-ით, ენერგეტიკული დონის დაცემა კი ხშირად უჯრედის აპოპტოზით ან ნეკროზით მთავრდება [133].

I.2.4.1. კრეატინფოსფოკინაზა

ცნობილია ფერმენტ კრეატინკინაზას რამდენიმე იზოფორმა. ფერმენტის მიტოქონდრიული იზოფორმა ლიკალიზირებულია მიტოქონდრიის მემბრანათაშორის სივრცეში და ახდენს ჟანგვითი ფოსფორილირების შედეგად სინთეზირებული ატფ-იდან კრეატინის ფოსფორილირებას და ფოსფოკრეატინის წარმოქმნას. ამ გზით მიღებული ფოსფოკრეატინი გარე მემბრანის გავლით მემბრანათაშორისი სივრციდან ციტოზოლში გადაადგილდება. ციტოზოლში განთავსებული ფერმენტის

ციტოზოლური იზოფორმები ფოსფოკრეატინის უკუ-ფოსფორილირებას აწარმოებს უჯრედის იმ უბნებში, სადაც ატფ-ს მოთხოვნა გაზრდილია. ერთ-ერთ ასეთ უბანს წარმოადგენს მემბრანული ატფ-აზები, რომლებსაც გამუდმებით ესაჭიროება ატფ-ის ენერჯია. ამ პროცესში გამონთავისუფლებული კრეატინი კვლავ მიტოქონდრიას უბრუნდება, სადაც ფერმენტის მიტოქონდრიული იზოფორმის მონაწილეობით ისევ მიმდინარეობს კრეატინის ფოსფორილირების პროცესი [134,135].

ცნობილია კრეატინკინაზას 3 იზოფორმა: CK-MM რომელიც უმეტესად კუნთებში გვხვდება, CK-BB თავის ტვინში და CK-MB გულის კუნთის უჯრედებში [136]. სხვადასხვა დაავადებისას (მიოკარდიუმის ინფარქტი, რაბდომიოლიზი, მიოზიტი და მიოკარდიტი) ფერმენტის რაოდენობრივ მომატებას სისხლში სადიაგნოსტიკო-კლინიკური მნიშვნელობა გააჩნია. კერძოდ, CK-MB-ს მატება მიანიშნებს უჯრედების დაზიანებაზე [137-139]. თუმცა უნდა აღინიშნოს, რომ ენდოკრინული დარღვევებისას, ავთვისებიანი ჰიპერთერმიისა და ნეიროლევსიური სინდრომისასაც შესაძლოა გაზრდილი იყოს ფერმენტის რაოდენობა [140,141].

I.2.4.2. ალდოლაზა

ალდოლაზა გლიკოლიზის პროცესში ჩართული ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი ფერმენტია, რომელიც ფრუქტოზო-1,6-დიფოსფატს გარდაქმნის გლიცერალდეჰიდ-3-ფოსფატად და დიჰიდროქსიაცეტონფოსფატად [142]. ცნობილია ფერმენტის სამი იზოფორმა (A,B,C).

ალდოლაზა A- ნანახია ემბრიონსა და მოზრდილი ადამიანის კუნთებში, ასევე ღვიძლში, თირკმელსა და ნაწლავებში. იგი ლოკალიზდება ციტოპლაზმაში, მაგრამ უჯრედული ციკლის S ფაზაში, დნმ-ის სინთეზისას, მას შეუძლია ბირთვშიც გადაინაცვლოს. ბირთვში მისი ლოკალიზაცია რეგულირდება პროტეინკინაზა B (PKB) და p38-ის მიერ. ალდოლაზა A შესაძლოა ლოკალიზებული იყოს მიტოქონდრიაშიც [143]. ფერმენტის აქტივობა რეგულირდება მეტაბოლიზმში მონაწილე სხვადასხვა სუნსტრატებით, მაგალითად გლუკოზით, ლაქტატითა და გლუტამინით [144].

აღდოლაზა A-ს მაკოდირებელი გენი განსაკუთრებული ინტენსივობით ექსპრესირდება სხვადასხვა სახის სიმსივნის დროს (მაგ. ფილტვის ბრტყელუჯრედოვანი კარცინომა), რაც იწვევს გლიკოლიზის პროცესის გააქტიურებას და შესაბამისად, სიმსივნური უჯრედების ზომაში სწრაფ ზრდას. მისი გააქტიურება მიანიშნებს მეტასტაზების გავრცელებაზე, ხოლო დაქვეითება ამცირებს სიმსივნური უჯრედების გადაადგილებას. ასე რომ, აღდოლაზა A მიიჩნევა ფილტვის ბრტყელუჯრედიანი კარცინომის ერთგვარ მარკერად [145,146].

აღდოლაზა B უმეტესად ღვიძლში ლოკალიზირდება და მისი დეფიციტი მკვეთრად აფერხებს გლიკოლიზისა და გლუკონეოგენეზის მიმდინარეობას. ასევე, მისმა დეფიციტმა შესაძლოა გამოიწვიოს ფრუქტოზის აუტანლობა, რომელიც მემკვიდრეობით ხასიათს ატარებს [147].

აღდოლაზა C-ს ლოკალიზაციის ადგილს წარმოადგენს თავის ტვინი. ფერმენტი განსაკუთრებით აქტივდება შიზოფრენიის დროს, თავის ტვინის სიმსივნეებისა და ასევე ალცჰაიმერის დაავადებისას [148].

ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ სტრესის პირობებში მან შეიძლება განიცადოს სტრუქტურული მოდიფიკაცია, რის გამოც მისი აქტივობა მნიშვნელოვნად კლებულობს [149].

I.2.4.3. კრებსის ციკლის ზოგიერთი ფერმენტი

კრებსის ციკლი წარმოადგენს რთული ქიმიური რეაქციების ჯაჭვს, რომელიც მიმდინარეობს 8 სტადიად მიტოქონდრიულ მატრიქსში.

ციკლის პირველ ფერმენტს აკონიტაზა წარმოადგენს, რომელსაც ენერჯის პროდუქციაში მნიშვნელოვანი როლი აკისრია, იგი წარმართავს იზომერიზაციის რეაქციას, რომლის შედეგად ციტრატიდან მიიღება იზოციტრატი. ფერმენტს სპეციფიური აგებულება გააჩნია, აქტიური ცენტრი წარმოდგენილია რკინა-გოგირდოვანი კლასტერით (Fe-S-ჯგუფი), რის გამოც იგი მგრძნობიარეა ჟანგბადის აქტიური რადიკალების მიმართ. ROS-ის მაღალი კონცენტრაციით არსებობისას ხდება ფერმენტის აქტიური ცენტრის ინაქტივაცია, რასაც ფერმენტის ინჰიბირება და

შესაბამისად, მეტაბოლიზმის პროცესი შეფერხება მოსდევს. გარდა აღნიშნულისა, აკონიტაზას ციტოზოლურ ფორმა ფუნქციონირებს, როგორც რკინა-დამაკავშირებელი ცილა (IRP) და მონაწილეობს რკინის ჰომეოსტაზში [150,151].

სუქცინატდეჰიდროგენაზა, ან სუქცინატ კოენზიმ Q რედუქტაზა წარმოადგენს სუნთქვის ჯაჭვისა და კრების ციკლის ფერმენტს, მოთავსებულია მიტოქონდრიის შიდა მემბრანაზე. 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. ფერმენტული კომპლექსი წარმოდგენილია შემდეგი სუბერთეულებით: SdhA, SdhB, SdhC და SdhD. ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ B, C და D სუბერთეულების მუტაცია განაპირობებს ოქსიდაციური სტრესის ინიცირებას [152,153].

სუქცინატდეჰიდროგენაზას მიერ წარმოქმნილი ფუმარატი ფერმენტ ფუმარაზას მეშვეობით გარდაიქმნება მალატად. არსებობს ფერმენტის ორი იზოფორმა: ციტოზოლური და მიტოქონდრიული. მიტოქონდრიული იზოფორმა ჩართულია კრების ციკლში, ხოლო ციტოზოლური იზოფორმა ამინომჟვებისა და ფუმარატის მეტაბოლიზმში მონაწილეობს [154]. ფუმარაზას მაკოდირებელი გენის მუტაციამ შესაძლოა გამოიწვიოს თირკმლის კარცინომა და კანის ლეიომიომა. ფერმენტის დეფიციტი განაპირობებს ენცეფალოპათიის განვითარებას, რისი მიზეზი ორგანიზმში დიდი რაოდენობით ფუმარის მჟავის დაგროვებაა [155].

I.2.5. სისხლის ლიპიდური ცვლის დარღვევები

სტრესის შედეგად ორგანიზმში განვითარებული მეტაბოლური ცვლილებები შესაძლოა გახდეს გულ-სისხლძარღვთა დაავადების მაპროვოცირებელი ფაქტორი. თანამედროვე მედიცინაში დიდი მნიშვნელობა ენიჭება ლიპიდური ცვლის დარღვევებს, რომელიც თავის მხრივ, წარმოადგენს რთული ბიოქიმიური და ფიზიოლოგიური პროცესების ერთობლიობას. ლიპიდების მეტაბოლიზმი მოიცავს ლიპიდების დაშლასა და შეწოვას საჭმლის მომნელებელ ტრაქტში, მათ ტრანსპორტს ნაწლავებიდან

ქილომიკრონების საშუალებით, ასევე ტრიგლიცერიდების, ფოსფოლიპიდების, ქოლესტერინის ცვლას, ლიპოგენეზს, ლიპოლიზს და ცხიმოვანი მჟავების კატაბოლიზმს.

ლიპიდური ცვლის დარღვევა (დისლიპიდემია) უმეტეს შემთხვევაში გულისხმობს სისხლში სხვადასხვა წარმოშობის ლიპიდების სიჭარბეს. ამ დროს მომატებულია ტრიგლიცერიდებისა და ქოლესტერინის დონე, რაც თავის მხრივ, წარმოადგენს ათეროსკლეროზისა და მასთან დაკავშირებული გულ-სისხლძარღვთა დაავადებების მნიშვნელოვან რისკ-ფაქტორს. გარდა ამისა, სისხლში იცვლება ლიპოპროტეინების დონე, რომლებიც განსხვავებული შემადგენლობის გამო სხვადასხვა ზომისა და სიმკვრივის არიან. ლიპოპროტეინები სიმკვრივის მიხედვით იყოფიან:

- ქილომიკრონებად
- ძალიან დაბალის სიმკვრივის ლიპოპროტეინებად (ძდსლპ)
- საშუალო სიმკვრივის ლიპოპროტეინებად (სსლპ)
- დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინებად (დსლპ)
- მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინებად (მსლპ)

უზომოდ აღებულ სისხლის ნიმუშში ლიპოპროტეინების სამი ძირითადი კლასია წარმოდგენილი: ძდსლპ, მსლპ და ძსლპ. სსლპ-ის გამოყოფა კლინიკაში პრაქტიკულად არ ხერხდება (ძდსლპ და ძსლპ შორის მათი შუალედური მდგომარეობის გამო) და ეს ლიპოპროტეინები ძსლპ-ში კლასიფიცირდება [156].

თანამედროვე მონაცემებით, ათეროსკლეროზი ლიპოპროტეინების და სისხლის სხვა კომპონენტების ლოკალური დაგროვების შედეგად განვითარებული ცვლილებების ერთიანობაა, რის შედეგადაც ათეროსკლეროზის მორფოლოგიური საფუძველი, კერძოდ ათეროსკლეროზული ფოლაქი ყალიბდება. ეს წარმონაქმნი არტერიული სისხლძარღვის სანათურს ავიწროებს და ამცირებს მის ელასტიურობას. ამ მიზეზის გამო ირღვევა შესაბამისი რეგიონის სისხლით მომარაგება [157]. გარდა ზემოაღნიშნულისა, სხვადასხვა ფაქტორის ზემოქმედებით შესაძლოა ადგილი ჰქონდეს ათეროსკლეროზული ფოლაქის ფიბროზული კაფსულის გახეთქვას და მისი ცხიმოვანი ბირთვის კომპონენტების სისხლძარღვის სანათურში ჩაღვრას, რაც ქსოვილოვანი

ფაქტორების გამოთავისუფლებისა და თრომბოზის განვითარების მაპროვოცირებელ ფაქტორად გვევლინება [158, 159]. არტერიულ სისხლძარღვთა ათეროსკლეროზული დაზიანება ძირითადად ოთხ არეს მოიცავს, რასაც თან ახლავს შესაბამისი კლინიკური გამოვლინება: • კორონარული სისხლძარღვების დაზიანება, ცერებრული სისხლძარღვების დაზიანება, პერიფერიული სისხლძარღვების დაზიანება, მუცლის ან გულმკერდის აორტის ათეროსკლეროზული დაზიანება. საყურადღებოა ის ფაქტი, რომ ზემოთ ჩამოთვლილთაგან ერთ-ერთი სისხლძარღვის ათეროსკლეროზული დაზიანების დროს მაღალია სხვა სისხლძარღვების ათეროსკლეროზული დაზიანების ალბათობაც. მაგალითად, ინსულტის მქონე პაციენტებს მომატებული აქვთ კორონარული არტერიების დაზიანების განვითარების რისკი [160-164].

I.2.5.1 ათეროგენეზის ლიპიდური რისკ-ფაქტორები

ა) დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინები

სისხლში ქოლესტერინის კონცენტრაციის მომატება (ჰიპერქოლესტერინემია) არტერიულ სისხლძარღვთა ათეროსკლეროზის ერთერთი წამყვანი პათოგენეზური ფაქტორია. ათეროგენეზის თვალსაზრისით განსაკუთრებული რისკის მატარებელი დსლპ-ის ქოლესტერინია; სწორედ ამ ლიპოპროტეინშია ლოკალიზებული პლაზმის საერთო ქოლესტერინის 7 უდიდესი ნაწილი. სისხლში დსლპ-ის ქოლესტერინის კონცენტრაცია 25-60 მგ/დლ-ის ფარგლებში სავსებით საკმარისია ორგანიზმის ნორმალური ფუნქციონირებისათვის. ეპიდემიოლოგიური კვლევებით ათეროგენულად ითვლება დსლპ-ის ქოლესტერინის მაღალი კონცენტრაცია (100 მგ/დლ-ზე მეტი) [165-168].

სისხლში დსლპ-ის ქოლესტერინის კონცენტრაცია <100 მგ/დლ-ზე კად-ის განვითარების საკმაოდ დაბალ რისკთან არის ასოცირებული. იმ შემთხვევაში კი, როდესაც სისხლში დსლპ-ის ქოლესტერინის დონე ოპტიმალურ მაჩვენებელთან არის მიახლოებული (100-129 მგ/დლ), ათეროგენეზის განვითარების რისკი უკვე არსებობს,

და ამდენად, ეს მაჩვენებელი ცნობილია ასევე როგორც ოპტიმალურზე მაღალი მაჩვენებელი. სისხლში დსლპ-ის ქოლესტერინის მაღალთან მიახლოებული ან მოსაზღვრედ მაღალი მაჩვენებლების დროს (130-159 მგ/დლ), ათეროსკლეროზის განვითარების რისკი უკვე საკმაოდ მნიშვნელოვანია, ხოლო მაღალი (160-189 მგ/დლ) და ძალიან მაღალი (≥ 190 მგ/დლ-ზე) მაჩვენებლების დროს ათეროგენეზი პრაქტიკულად გარდაუვალია. აღნიშნული კორელაცია სისხლში დსლპ-ის ქოლესტერინსა და კორონარული არტერიების დაავადების განვითარების რისკს შორის საკმაოდ მრავალრიცხოვან პოპულაციაზე ჩატარებული მრავალი კვლევების შედეგად არის გამოვლენილი [169,170].

ბ) მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინები

ათეროგენეზის თვალსაზრისით დსლპ-ის ქოლესტერინის მაღალ კონცენტრაციასთან ერთად მნიშვნელობა სისხლში მსლპ-ის ქოლესტერინის დაბალ მაჩვენებელსაც ენიჭება. მსლპ-ის ანტიათეროგენული ეფექტი რამდენიმე გზით ხორციელდება: მსლპ განაპირობებს პერიფერიული ქსოვილებიდან, მათ შორის, არტერიულ სისხლძარღვთა კედლებიდან და ათეროგენული ფოლაქიდან, ქოლესტერინის ტრანსპორტს ღვიძლში (ქოლესტერინის ე.წ. რევერსიბელური ან შექცევადი ტრანსპორტი) [171]; მაკროფაგებში ამცირებს ქოლესტერინის რაოდენობას და აღნიშნულთან ერთად, მსლპ-ის ანთების საწინააღმდეგო და ანტიოქსიდანტური თვისებები ხელს უწყობს ათეროგენეზის დათრგუნვას და ამცირებს ათეროგენულ ფოლაქში ანთებით აქტივობას [172-177]. ამრიგად, მსლპ ანტიათეროგენული ეფექტი ორგანიზმიდან ჭარბი ქოლესტერინის გამოდევნას და ათეროსკლეროზის პროგრესირების შეფერხებას განაპირობებს. აქედან გამომდინარე, სისხლში მსლპ-ის ქოლესტერინის 40 მგ/დლ-ზე დაბალი კონცენტრაცია კად-ის განვითარების რისკად განიხილება. მრავალრიცხოვანი ეპიდემიოლოგიური კვლევით დადგენილია, რომ მსლპ-ის ქოლესტერინის კონცენტრაციის დაქვეითება სისხლში, კად-ის დამოუკიდებელი და საკმაოდ მნიშვნელოვანი პრედიქტორია (მსლპ-ის ქოლესტერინის ყოველი 5 მგ/დლ-ით დაქვეითებისას მიოკარდიუმის ინფარქტის განვითარების რისკი 25%-ით მატულობს).

ამავე კვლევებით დგინდება, რომ სისხლში მსლპ-ის ქოლესტერინის კონცენტრაციის ყოველი 1 მგ/დლ-ით მატება, ამცირებს კორონარული არტერიების დაავადების აღმოცენების რისკს დაახლოებით 2-3%-ით.

გ) ტრიგლიცერიდები

სისხლში ტრიგლიცერიდების და ტრიგლიცერიდებით მდიდარი ლიპოპროტეინების კონცენტრაციის მომატება ათეროგენეზის რისკ-ფაქტორად განიხილება. სისხლში ტრიგლიცერიდების მომატებულ მაჩვენებელსა და სისხლძარღვთა ათეროსკლეროზულ დაზიანებას შორის კავშირი მრავალი ეპიდემიოლოგიური კვლევითაა დადგენილ [178,179]. თუმცა უნდა აღინიშნოს ისიც, რომ ადრეული მულტივარიაციული ანალიზით, ტრიგლიცერიდები, როგორც კორონარული არტერიების დაავადების დამოუკიდებელი რისკის ფაქტორი, გამოვლენილი ვერ იქნა [180]. საქმე იმაშია, რომ კვლევის სირთულე თვით ჰიპერტრიგლიცერიდემიის ბუნებაშია, რაც იმას ნიშნავს, რომ ათეროგენეზის რისკის უამრავი ფაქტორი, როგორც ლიპიდური (საერთო, დსლპ-ის და მსლპ-ის ქოლესტერინი), ასევე, არალიპიდური (სიმსუქნე, არტერიული ჰიპერტენზია, დიაბეტი და თამბაქოს მოხმარება), საკმაოდ მჭიდრო ურთიერთკავშირშია სისხლში ტრიგლიცერიდების დონის მატებასთან [181]. აღნიშნულიდან გამომდინარე, ფაქტორთა ამ ერთობლიობიდან, ტრიგლიცერიდების სეპარირება და მისი, როგორც ათეროგენეზის დამოუკიდებელი რისკის ფაქტორის შესწავლა გარკვეულ სირთულეებთან არის ასოცირებული და მომავალი კვლევების პრეროგატივას წარმოადგენს. თუმცა აქვე უნდა ითქვას, რომ ლიტერატურაში უკვე გამოჩნდა მსგავსი კვლევების ანალიზის შედეგები, სადაც ტრიგლიცერიდები კად-ის დამოუკიდებელი რისკ-ფაქტორად გვევლინება [182,183]. ათეროგენეზში ტრიგლიცერიდების დამოუკიდებელი მონაწილეობის აღიარება იმის მანიშნებელია, რომ ტრიგლიცერიდებით მდიდარი ლიპოპროტეინები (ძდსლპ, სსლპ და მათი რემნანტები) ათეროგენული ლიპოპროტეინებია.

დ) დაჟანგული დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინები

კლინიკური, ლაბორატორიული და ეპიდემიოლოგიური კვლევების საფუძველზე დადგენილი იქნა, რომ პლაზმის დაბალის სიმკვრივის ქოლესტერინის მომატება გულ-სისხლძარღვთა დაავადებების რისკ-ფაქტორია. დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების დაგროვების მექანიზმი სისხლძარღვის კედელზე დიდი ხნის განმავლობაში იყო შესწავლის საგანი, თუმცა მხოლოდ დსლპ-ის მომატება ვერ გამოიწვევს გულ-სისხლძარღვთა დაავადებებს. ამის მიზეზი არის ის, რომ ჭარბი ქოლესტეროლის არსებობის პირობებში დსლპ-ის რეცეპტორი ინჰიბირდება და აღარ იკმირებს ქოლესტეროლით მდიდარ დსლპ-ს. თუმცა, არსებობს დსლპ-ის მოდიფიცირებული ფორმა, დაჟანგული დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინი (oxLDL), რომელიც უკავშირდება მემბრანაზე არსებულ სკავენჯერულ რეცეპტორებს და უზრუნველყოფს ქოლესტეროლის დაგროვებას უჯრედის შიგნით და ე.წ. ქაფიანი უჯრედების წარმოქმნას, რომელიც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს ათეროსკლეროზის პათოგენეზში [184].

დსლპ-ის დაჟანგვა არტერიის ინტიმაში მიმდინარეობს [185-187]. დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების დაჟანგვა შიძლება მოხდეს მეტალების იონების (რკინა, სპილენძი), გააქტივებული ფაგოციტების მემბრანასთან ასოცირებული NADPH-ოქსიდაზას, ზოგიერთი უჯრედულ ფერმენტის (მაგ. 15-ლიპოოქსიგენაზა), ჰემის შემცველი ცილების, მიელოპეროქსიდაზასა და გააქტივებული მაკროფაგების მიერ. კერძოდ, მიელოპეროქსიდაზას პროდუქტები ჰიდროქლორის მჟავა და ტიროზოლის რადიკალი ახდენს დსლპ-ის დაჟანგვას. აზოტის ოქსიდისგან წარმოქმნილი პეროქსინიტრიტი ასევე ზრდის დსლპ-ის მოდიფიკაციის რისკს [188,189].

დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების დაჟანგვის დროს თავდაპირველად წარმოიქმნება მინიმალურად მოდიფიცირებული დსლპ (MM-LDL), რომელიც გროვდება სუბენდოთელურ შრეში. MM-LDL აღიქმება ჩვეულებრივად LDL-ის რეცეპტორის მიერ. MM-LDL, თავის მხრივ, აინდუცირებს ლეიკოციტებისა და ენდოთელიუმის ადჰეზიას, ასევე ახდენს ენდოთელიუმიდან მონიციტების ქემოტაქსის ცილა-1 ის (MCP-1) და მაკროფაგების კოლონიის მასტიმულირებელი ფაქტორის (M-CSF) სეკრეციასაც [190], რის

შემდგომ იწყება მონოციტების დაგროვება ენდოთელურ შრეში და შემდგომ მათი მიგრირება სუბენდოთელურ შრეში, სადაც M-CSF მონაწილეობს მაკროფაგების დიფრენცირებაში. წარმოქმნილი მაკროფაგები ახდენენ MM-LDL-ის მოდიფიცირებას უფრო რეაქტიულ ფორმად, რომელიც აღარ აღიქმება დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინის რეცეპტორის მიერ და აღიქმება უკვე მონოციტ-მაკროფაგის სკავენჯერული რეცეპტორის მიერ, რასაც მოსდევს ქოლესტეროლის დაგროვება მაკროფაგებში და საბოლოოდ, ქაფიან უჯრედების ჩამოყალიბება.

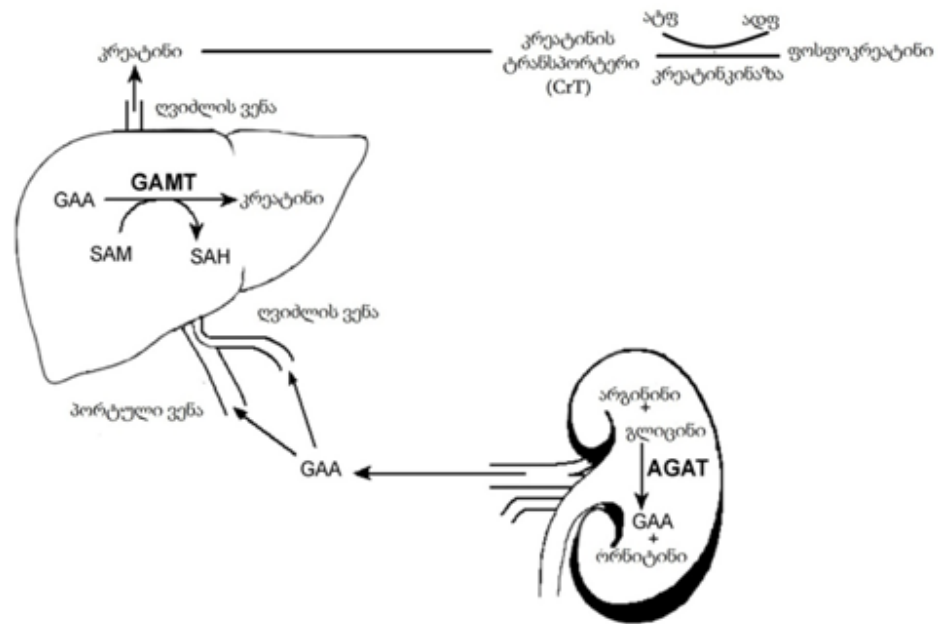
დაჟანგული დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინები ააქტივებს სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორს და ამის საპირისპიროდ, აინჰიბირებს ენდოთელიუმის რელაქსაციის ფაქტორით (EDRF) გავნითარებულ ვაზოდილატაციას [191,192].

I.3 კრეატინი, როგორც ეგზოგენური დანამატი

კრეატინი წარმოადგენს ნიტროგენულ ორგანულ მჟავას, რომელიც ძირითადად თირკმელსა და ღვიძლში სინთეზირდება და შემდეგ სისხლის მიმოქცევის სისტემის მეშვეობით ტვინს, გულს, კუნთს და სხვა ქსოვილებს მიეწოდება.

ორგანიზმში კრეატინის ბიოსინთეზი ორსაფეხურიანი პროცესია. რეაქციის პირველ საფეხურზე თირკმელში არგინინიდან და გლიცინიდან ფერმენტ L-არგინინ: გლიცინამიდინოტრანსფერაზის (AGAT) მიერ მიმდინარეობს ამინომჟავა გლიცინის ამიდინირება. რეაქციის შედეგად L-ორნიტინი და გუანიდინოაცეტატის მჟავა (GAA) მიიღება. წარმოქმნილი გუანიდინოაცეტატი პორტული ვენისა და ღვიძლის ვენის მეშვეობით გადაიტანება ღვიძლში, სადაც ბიოსინთეზის მეორე და საბოლოო საფეხურზე გუანიდინოაცეტატის მეთილირებით ფერმენტ გუანიდინოაცეტატ-მეთილ ტრანსფერაზის (GAMT) მონაწილეობით კრეატინი მიიღება, რომელიც ღვიძლიდან სისხლის მიმოქცევის სისტემაში გადაინაცვლებს. ბუნებრივია, რომ კრეატინის უჯრედში შელწევა მხოლოდ აქტიური სატრანსპორტო მექანიზმის საშუალებითაა შესაძლებელი. ამ პროცესს აწარმებს სპეციალური სატრანსპორტო ცილა - კრეატინის ტრანსპორტერი (CrT). ამ ცილის მოქმედება ნატრიუმისა და ქლორის იონურ

ტუმბოსთანაა შეუღლებული. 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 კრეატინფოსფოკინაზას სუბსტრატს წარმოადგენს და ფოსფორილირების შედეგად ფოსფოკრეტინად გარდაიქმნება [193, 194] .



კრეატინის ბიოსინთეზი

AGAT- არგინინ: გლიცინამიდიდნოტრანსფერაზა, GAA-გუანიდინოაცეტატი, GAMT- გუანიდინოაცეტატ-მეთილ ტრანსფერაზა, SAM-S-ადენოზილმეთიონინი, SAH-S- ადენოზილჰომოცისტინი.

კრეატინი, როგორც პრეპარატი გამძლეობის გასაზრდელად პირველად გამოიყენეს 1992 წელს ბარსელონას ოლიმპიადაზე მონაწილე მძლეოსნებმა.

ადამიანის ორგანიზმის ყოველ ერთ კილოგრამ მასაზე 2 გრამი კრეატინი მოდის, რომელიც განთავსებულია კუნთის ბოჭკოებში კრეატინფოსფატის სახით და როცა კუნთის მუშაობისას იხარჯება ატფ -ის მარაგი (რომელიც საკმარისია მხოლოდ რამოდენიმე წამის განმავლობაში), სწორედ ამ დროს კუნთის დასახმარებლად გამოიყენება კრეატინფოსფატი, რომელიც ახდენს ატფ-ის რესინთეზს, რის შემდეგაც

კუნთი აგრძელებს მუშაობას. სწორედ ამ მიზნისათვის იყენებენ სპორტსმენები კრეატინს [195,196].

კრეატინი დადებითად მოქმედებს გულის კუნთის მუშაობაზე, განსაკუთრებით ინფარქტის შემდეგ გულის კუნთის ფუნქციის აღდგენაში. ასევე ის ირიბად მოქმედებს ცხიმის მასაზე. კრეატინი გამძლეობასთან ერთად ზრდის ძალას და კუნთოვან მასას. ის აკავებს წყალს კუნთის უჯრედებში, რითაც ზრდის კუნთის მოცულობას.

კრეატინის (Cr) ძირითადი როლი მდგომარეობს დააკმაყოფილოს მაღალენერგეტიკული მოთხოვნების უჯრედები ენერჯით [197]. თუმცა, მრავალი კვლევების შედეგად დასტურდება მისი ანტიოქსიდანტური ეფექტიც [198-202]. მაგალითად, არსებობს მონაცემები იმის შესახებ, რომ *in vitro* სისტემაში კრეატინი ბოჭავს თავისუფალ რადიკალების, იცავს მიტოქონდრიულ დნმ-ს ოქსიდაციური დაზიანებისგან [203]; ასევე ახორციელებს იმ ფერმენტების up-რეგულაციას, რომლებიც ჩართული არიან უჯრედშიდა ჟანგვითი პროცესების წინააღმდეგ ბრძოლაში. პაციენტები, რომელთაც აღენიშნებათ კრეატინის დეფიციტი, მათ ორგანიზმში მკვეთრად მატულობს ოქსიდაციური სტრესი [204], ხოლო კრეატინის ეგზოგენური შეყვანა თავგებში აუმჯობესებს ნეირომუსკულატორული დაავადებების მიმდინარეობას და მკვეთრად ამცირებს ჟანგბადის აქტიური ფორმების შემცველობას (ROS), როგორც სისხლში ასევე უჯრედში [205]. უფრო კონკრეტულად, ეგზოგენურად შეყვანილი კრეატინი გულის კუნთში აუმჯობესებს იმემიურ-რეპერფუზიული სინდრომის მიმდინარეობას [206]. თუმცა, კრეატინი ზუსტად რა მექანიზმით ახორციელებს ანტიოქსიდანტურ და კარდიოპროტექტორულ მოქმედებას ჯერჯერობით უცნობია.

კრეატინი დადებით ეფექტს ახდენს ნეირომუსკულატორული და ნეიროდეგენერაციული დაავადების მიმდინარეობაზე. ასევე გამოიყენება ართრიტისა და დეპრესიის მკურნალობაში. ექსპერიმენტებში პარკინსონით დაავადებულ ვირთაგვებში ეგზოგენურად შეყვანილი კოენზიმი Q და კრეატინის კომბინაცია იცავს ნეირონებს დაზიანებისაგან. ალცჰაიმერის დაავადების შემთხვევაში კრეატინი იცავს ჰიპოკამპის ნეირონებს ბეტა-ამილოიდის ტოქსიკური ეფექტისგან და შესაბამისად ამცირებს ამილოიდური ფოლაქების წარმოქმნას. ამიოტროფული სკლეროზისას კრეატინის

დადებითი ეფექტი ვლინდება ოქსიდაციური სტრესის შემცირებაში. კლინიკური ცდები ადასტურებს, რომ კრეატინის მოხმარებით იზრდება კუნთების სიმტიცე და ძალა, კლებულობს დაღლილობის შეგრძნება. ჰანტინგტონის დაავადებისას იგი აქვეითებს ლაქტატის დონეს, აუმჯობესებს სხეულის წონას, მოტორულ ფუნქციებს და აფერხებს ტვინში მიმდინარე ატროფიულ პროცესებს [207].

I.4 პერიფერიული სისხლის მონონუკლეარული უჯრედები (PBMC)

პერიფერიული სისხლის მონონუკლეარული უჯრედები მოიცავს ლეიკოციტებს (T უჯრედები, B უჯრედები და NK უჯრედები), მონოციტებსა და დენდრიტულ უჯრედებს. ადამიანებში, ამ უჯრედთა შეფარდება მეტნაკლებად განსხვავდება, თუმცა ძირითად შემთხვევებში ლიმფოციტები, როგორც წესი PBMC-ის საერთო რაოდენობის 70-90%-ს შეადგენს, მონოციტების პროცენტული შემცველობა მერყეობს 10 - 30%-მდე, ხოლო დენდრიტული უჯრედები ძალზე იშვიათია და PBMC-ის საერთო რაოდენობის მხოლოდ 1 - 2%-ს შეადგენს [208]. PBMC-ის უჯრედებს გააჩნიათ ოვალური ფორმის ბირთვი. მნიშვნელოვანი როლი აკისრია ინფექციური დაავადებების მიმდინარეობაში, ლეიკემიებისა და ტრანსპლანტაციის შემთხვევაში იმუნოლოგიური რეაქციები განვითარების პროცესში [209].

II. კვლევის ობიექტი და მეთოდები

II.1. კვლევის ობიექტი

ექსპერიმენტები ტარდებოდა მამრობითი სქესის, თეთრ, ლაბორატორიულ ვირთაგვებზე. სოციალური იზოლაციის მიზნით ვირთაგვებს ვათავსებდით ინდივიდუალურ გალიებში, სიბნელის პირობებში (თანაფარდობა სიბნელესა და სინათლეს შორის შეადგენდა 23.5სთ/0.5სთ.). ცხოველები 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 იზოლაციის შემდეგ ვირთაგვებს ვაძინებდით ქლოროფორმით და ვახდენდით მათ დეკაპიტაციას, რის შემდგომაც ცივ პირობებში ხდებოდა სისხლისა და გულის კუნთის აღება.

II.2. კრეატინის ინტრაპერიტონეალური მიწოდება

კრეატინის ინტრაპერიტონეალურ მიწოდებას ვახდენდით პერასოსა და სხვათა მოდიფიცირებული მეთოდით [210].

120 ±5 გრ წონის თეთრ, მამრ ვირთაგვებს უკეთდებოდათ კრეატინის ხსნარის (140 მგ/100მლ; 5% DMSO - დიმეთილსულფოქსიდი) ინტრაპერიტონეალური ინექცია (14მგ/100გრ წონაზე), 30 დღის განმავლობაში. საკონტროლო ჯგუფის შემთხვევაში შეგვყავდა 5% DMSO-ს ხსნარი, რომელიც მიღებულია ორგანიზმისათვის არატოქსიურ კონცენტრაციად [211].

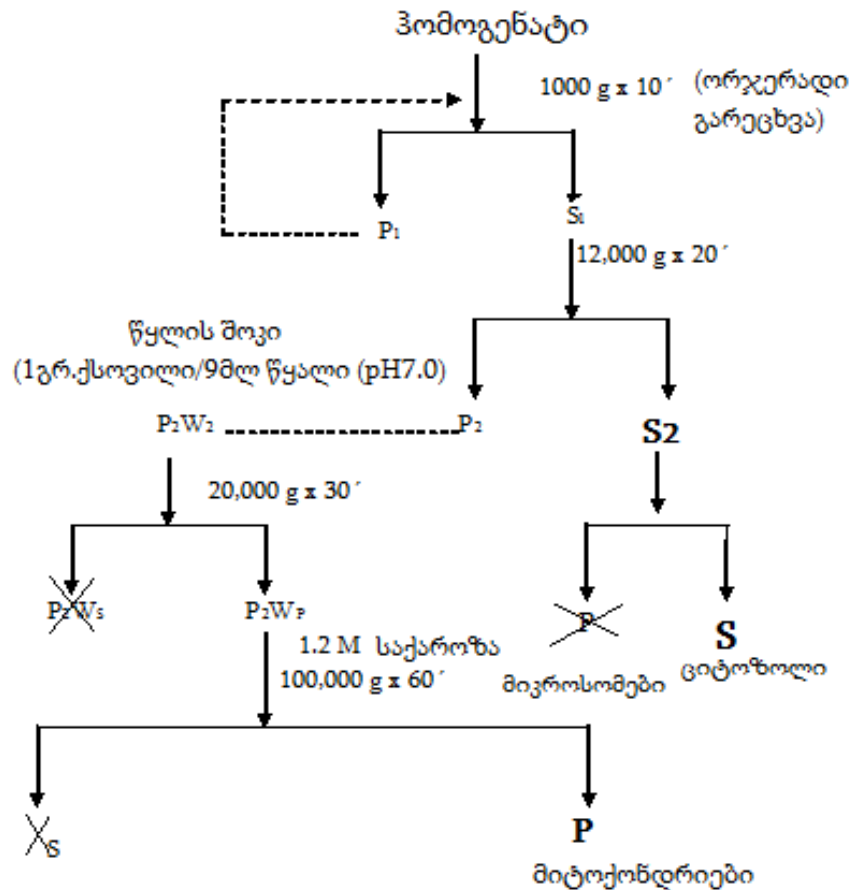
II.3. სუბუჯრედული ფრაქციების მიღება დე-რობერტისის მიხედვით

გულის კუნთის ქსოვილის მიტოქონდრიულ და ციტოზოლურ ფრაქციებს ვიღებდით დიფერენციალური ცენტრიფუგირებით საქაროზას გრადიენტში [212]:

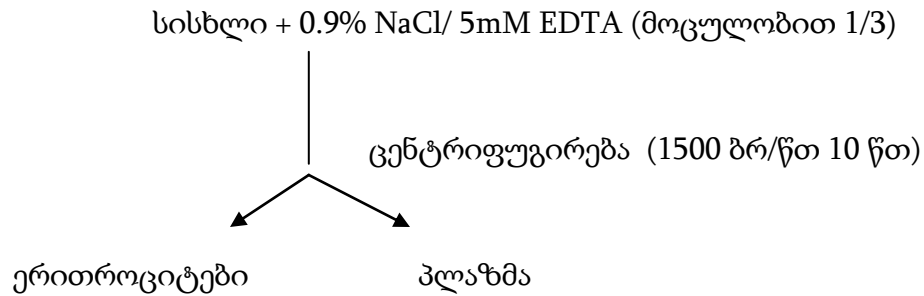
1. ვიღებდით ლაბორატორიული ვირთაგვების გულის კუნთის სუმაარულ მასალას ჯგუფების მიხედვით: საკონტროლო და საცდელი (სტრესირებული).

2. ვახდენდით მათ ჰომოგენიზაციას საქაროზას გრადიენტში (0.32M საქაროზა/40mM Tris-HCl, pH -7.4).

3. მიტოქონდრიულ და ციტოზოლურ ფრაქციებს ვღებულობდით შემდეგი თანმიმდევრობით:



II.4 სისხლის პლაზმის მიღება



II. 5 პერიფერიული სისხლის მონონუკლეარული უჯრედების (PBMC)

გამოყოფა

პერიფერიული სისხლის მონონუკლეარული უჯრედები გამოყოფილი იქნა ჰეპარინიზებული სისხლიდან ცენტრიფუგირებით ფიკოლის გრადიენტში (1.077გ/ლ). გამოყოფილი უჯრედები ირეცხებოდა ორჯერ ფოსფატის ბუფერის ხსნარით (PBS) და შემდგომში ხდებოდა მისი რესუსპენზირება RPMI-1640-ს 10%-იან ხსნარში. უჯრედების კონცენტრაცია შეადგენა 1×10^6 /მლ [213].

II.6. ჰორმონების რაოდენობის განსაზღვრა

სეროტონინის, კორტიკოსტერონისა და მელატონინის რაოდენობას ვსაზღვრავდით ELISA ტესტ-სისტემების საშუალებით, იმუნოფერმენტული მეთოდით (Serotonin ELISA kit; Corticosterone ELISA kit, Melatonin ELISA kit; IBL International, აშშ).

II.7. აზოტის ოქსიდის რაოდენობის განსაზღვრა

აზოტის ოქსიდის (NO) რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის ვიყენებდით პაჰანისა და სხვ. მოდიფიცირებულ მეთოდს [214].

ცდების საწყის ეტაპზე სინჯარაში გადაგვექონდა 2 მლ მიტოქონდრიული სუსპენზია, რის შემდეგაც ვუმატებდით 0.8 მლ დისტილირებულ წყალს და 0.6 მლ NaOH-ს (0.3 M), ვურევდით და ვაყოვნებდით 5 წუთის განმავლობაში და ვუმატებდით 0.6 მლ ZnSO₄-ს (5%).

ნარევს ვაცენტრიფუგირებდით (3000 g x 30') და მიღებულ სუპერნატანტს ვუმატებდით 0.4 მლ გრისის რეაქტივს (20%).

შემდგომში სუსპენზიას ვაინკუბირებდით 15 წუთის განმავლობაში 37°C-ზე და შეფერილობის ინტენსივობას ვზომავდით სპექტროფოტომეტრულად ($\lambda=540$ ნმ).

II.8. აზოტის ოქსიდის სინთაზას აქტივობის განსაზღვრა

აზოტის ოქსიდის სინთაზას აქტივობას ვსაზღვრავდით NOS Activity Colorimetric Assay Kit-ის მეშვეობით (K205-100, Biovision Inc, აშშ). მეთოდის პრინციპი ემყარებოდა აზოტის ოქსიდის სინთაზას რეაქციაში შესვლას გრისის რეაქტივთან 1 და 2, რის შედეგადაც მიიღება შეფერილი პროდუქტი. NOS-ის აქტივობა ისაზღვრება სპექტროფოტომეტრულად 540 ნმ-ზე. ფერმენტის კატალიზურ აქტივობას ვითვლიდით 1 მგ ცილაზე გადაანგარიშებით (U/მგ ცილა).

II.9. Ca²⁺-ის კონცენტრაციის განსაზღვრა

Ca²⁺-ის იონის რაოდენობას ვითვლიდით Calcium colorimetric assay kit-ის გამოყენებით (Biovision Inc, აშშ). მეთოდის პრინციპი ემყარებოდა ქრომოგენული კომპლექსის უტილიზაციას ($\lambda=575$ ნმ), რომელიც ყალიბდება Ca²⁺-ის იონსა და 0-ქრეზოპტალეინს შორის.

II.10. ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის ზოგიერთი პროდუქტის განსაზღვრა

ა) მალონის დიალდეჰიდის რაოდენობრივი განსაზღვრა

ცდის წინ მიტოქონდრიების სუსპენზიას ვრეცხავდით 0.025M -იანი ტრის-HCl -ის ბუფერით (pH=7.4) საქაროზის მოსაცილებლად, რომელიც ხელს უშლის ფერის წარმოქმნას.

მიტოქონდრიული სუსპენზია (2.0 მლ) გადაგვექონდა ცენტრიფუგის სინჯარებში, ვუმატებდით სამქლორომმარმეავას (1 მლ) და ვაცენტრიფუგირებდით 4000 g x 10' განმავლობაში. მიღებული სუპერნატანტის 2 მლ-ს ემატებოდა 1 მლ 0.8%-იან თიობარბიტურის მჟავას (თბმ). სინჯარებს ვათავსებდით მდულარე წყლის აბაზანაში (90-100°C) და ვახდენდით ნარევის ინკუბაციას 10 წთ-ის განმავლობაში და შემდგომ ვაციებდით ოთახის ტემპერატურამდე (20-25°C).

საკონტროლო სინჯარაში მიტოქონდრიული სუსპენზიის ნაცვლად ემატებოდა 2.0 მლ ბუფერს ხსნარი (0.025M ტრის-HCl; pH=7.4).

მალონის დიალდეჰიდის რაოდენობას ვითვლიდით ფორმულით:

$$C = \frac{E_{\text{საშ}}}{\epsilon \times l} \quad \mu\text{M}$$

სადაც:

C - ნივთიერების კონცენტრაცია;

$E_{\text{საშ}}$ - მიღებული შუქშთანთქმების მაჩვენებლის საშუალო სიდიდე.

მიღებულ ვარდისფერი შეფერილობის ინტენსივობა ისაზღვრებოდა სპექტროფოტომეტრულად $\lambda=532$ ნმ- ის ტალღის სიგრძეზე [215].

ბ) უჯერი ცხიმოვანი მჟავების დიენური კოიუგატების განსაზღვრა

უჯერი ცხიმოვანი მჟავების დიენური კონიუგატების განსაზღვრისათვის ვახდენდით მიღებული მიტოქონდრიების რესუსპენზირებას 0.1 M ფოსფატის ბუფერში (pH=7.6), რის შემდეგაც 1 მლ მიტოქონდრიულ სუსპენზიას ($\approx 10-15$ მგ ცილა) ემატებოდა 9 მლ სპეციალური ხსნარი (ჰეპტანი:იზოპროპილენი - 1:1) და ჰომოგენიზირდებოდა მინის ჰომოგენიზატორში 15 წუთის განმავლობაში. მიღებული ჰომოგენატი გადაგვქონდა ცენტრიფუგის სინჯარებში, და ვაცენტრიფუგებდით 4000 გ-ზე 10წთ- ის განმავლობაში.

ცენტრიფუგირებით მიღებული სუპერნატანტი გადაგვქონდა გრადულირებულ სინჯარებში და ვუმატებდით დისტილირებულ წყალს (1/10), ვანჯღრევდით და ვაყოვნებდით 5 წთ-ის განმავლობაში. დაშრევების შემდეგ ფრთხილად ვაცილებდით ჰეპტანის ფაზას. სინჯარაში დარჩენილი ხსნარის 0.5 მლ-ს ვუმატებდით ეთილის სპირტს (1:5/1:10) და ვსაზღვრავდით შუქშთანთქმას სპექტროფოტომეტრულად - $\lambda=233$ ნმ ტალღის სიგრძეზე [216].

II.11. სუპეროქსიდისმუტაზას ფერმენტული აქტივობის განსაზღვრა

მეთოდის პრინციპი მდგომარეობს ნიტროლურჯი ტეტრაზოლიუმის აღდგენის რეაქციის შეზღუდვის ხარისხის განსაზღვრაში [217].

3 მლ საინკუბაციო არეს, რომელიც შეიცავდა ნიტროლურჯ ტეტრაზოლიუმს (0.41 mM), EDTA-ს (0.33 mM) და მეთილფენაზოლსულფატს (0.01 mM; pH=8.3), ვუმატებდით 0.02 მლ საკვლევ სუსპენზიას.

შემდგომ ეტაპზე ვსაზღვრავდით მიღებული ხსნარის შუქშთანთქმის სიდიდეს სპექტროფოტომეტრულად ($\lambda=540$ ნმ), რის შემდეგაც ვუმატებდით 0.1 მლ NADH-ის ხსნარს (0.8 mM), ვურევდით და ვახდენდით ინკუბაციას 20'-ის განმავლობაში ($t=37^{\circ}\text{C}$).

ინკუბაციის შემდეგ ვსაზღვრავდით ხსნარის შუქშთანთქმას სპექტროფოტომეტრულად ($\lambda=540$ ნმ).

რეაქციის ინტენსივობაზე ვმსჯელობდით I და II მაჩვენებელს შორის სხვაობით და ფერმენტული აქტივობას (A) ვადგენდით შემდეგი ფორმულებით:

$$T\% = \frac{E_0 - E_{20}}{E_{20}} \times 100\%,$$

$$A = \frac{T\%}{100\% - T\%}$$

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

II.12. ფერმენტ კატალაზას აქტივობის განსაზღვრა

ფერმენტული აქტივობის განსაზღვრის მეთოდი დამყარებულია წყალბადის ზეჟანგის (H₂O₂) თვისებაზე, წარმოქმნას მოლიბდატის მარილებთან მყარი ფერადი კომპლექსი [218].

ექსპერიმენტის საწყის ეტაპზე 0.1 მლ საკვლევ მასალას (100 მგ ქსოვილი/1 მლ ტრის-HCl (0.05 M), pH=7.8) ვუმატებდით 2 მლ წყალბადის ზეჟანგს (0.03%), ხოლო ბრმა ცდისთვის განკუთვნილ სინჯარაში საკვლევ მასალის ნაცვლად შეგვქონდა 0.1 მლ დისტილირებული წყალი. მიღებულ ნარევს ვაყოვნებდით 10 წუთი, რის შემდეგაც, ვახდენდით რეაქციის შეჩერებას 1 მლ ამონიუმის მოლიბდატის 4% -იანი ხსნარის დამატებით და წარმოქმნილ შეფერილობას ვსაზღვრავდით სპექტოფოტომეტრულად ($\lambda=410$ ნმ).

საკონტოლო სინჯარაში წყალბადის ზეჟანგის ნაცვლად შეგვქონდა 2 მლ დისტილირებული წყალი.

ფერმენტის აქტივობას ვითვლიდით ფორმულით:

$$E = (A_{\text{ბრმა ცდა}} - A_{\text{ცდა}}) \times V \times t \times K \text{ } \mu\text{kat/L}$$

სადაც:

E - ფერმენტის აქტივობა

$A_{\text{ბრმა ცდა}}$ }
 $A_{\text{ცდა}}$ } მიღებული შუქშთანთქმის სიდიდეები

V - შეტანილი ნიმუშის მოცულობა (0.1 მლ)

t - ინკუბაციის დრო (10 წთ)

K - წყალბადის ზეჟანგის მილიმორალური კოეფიციენტი ($22.2 \times 10^3 \text{ mM}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$)

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

II.13. ფერმენტ გლუტათიონ რედუქტაზასა და გლუტათიონ პეროქსიდაზას აქტივობის განსაზღვრა

გლუტათიონ რედუქტაზას აქტივობის განსაზღვრა ხდებოდა Glutathione Reductase Activity Assay Kit-ის მეშვეობით (K761-200, Biovision Inc, აშშ). მეთოდის პრინციპი ემყარებოდა, დაჟანგული გლუტათიონის გადაყვანას გლუტათიონში, რომელიც ურთიერთქმედებს 2-ნიტრობენზონის მჟავასთან (DTNB) და წარმოიქმნება TNB 2- (ყვითელად შეფერილი პროდუქტი). იგი იზომება სპექტროფოტომეტრულად $\lambda = 405 \text{ ნმ}$.

გლუტათიონ პეროქსიდაზას აქტივობის განსაზღვრა ხდებოდა Glutathione Peroxidase Activity Assay Kit-ის მეშვეობით (K762-100, Biovision Inc, აშშ). მეთოდის პრინციპი ემყარებოდა NADPH-ის რაოდენობის შემცირებას, რომელიც პროპორციულია GPx-ის აქტივობისა, გაზომვა ხდება $\lambda = 340 \text{ ნმ}$ ტალღის სიგრძეზე. ფერმენტ გლუტათიონ რედუქტაზას და გლუტათიონ პეროქსიდაზას აქტივობას ვითვლიდით 1 მგ ცილაზე გადაანგარიშებით (U/მგ ცილა).

II.14. 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 ნაღP, 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) [219].

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

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

სუპერნატანტში ფუმარატის რაოდენობას ვსაზღვრავდით სპექტროფოტომეტრულად ($\lambda=240$ ნმ) [220].

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

II.16. ფერმენტ სუქცინატდეჰიდროგენაზას აქტივობის განსაზღვრა

ფერმენტ სუქცინატდეჰიდროგენაზას აქტივობის განსაზღვრავად ვიყენებდით აბესა და მატსუკის მოდიფიცირებულ მეთოდს [221].

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 ბუფერზე. მიღებულ სუსპენზიას ვაინკუბირებდით 45 წუთის განმავლობაში 37°C-ზე და ვაცენტრიფუგებდით (16,000 rpm x 10'). მიღებულ ნალექს ვხსნიდით 800 μ ლ დიმეთილსულფოქსიდიში, ვანჯღრევდით საღებავის გადმოსვლამდე და კვლავ ვაცენტრიფუგირებდით (16,000 rpm x 5').

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

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

II.17. ფერმენტ ალდოლაზას აქტივობის განსაზღვრა

ალდოლაზას აქტივობის განსაზღვრავად ვიყენებდით ჩაპელისა და ჰოლმის მოდიფიცირებულ მეთოდს [222].

ალდოლაზური აქტივობა ისაზღვრებოდა ტრიფოსფატებში არსებული ლაბილური ფოსფორის რაოდენობის მიხედვით. საინკუბაციო ხსნარი შეიცავს 1 მლ გლიცინის ბუფერს (0.1 M, pH 9.0), 0.25 მლ ფრუქტოზო-1,6-დიფოსფატის (2 mM) ხსნარს და 0.25 მლ ჰიდრაზინის ხსნარს (0.1 M). რეაქცია ჩერდება 2 M NaOH-ის დამატებით. ფერმენტის აქტივობა ისაზღვრება სპექტროფოტომეტრულად 340 ნმ ტალღის სიგრძეზე .

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

II.18. ატფ-ს რაოდენობრივი განსაზღვრა

ატფ-ს რაოდენობას ვსაზღვრავდით ATP Colorimetric/Fluorimetric Assay Kit გამოყენებით (Biovision Inc, აშშ). მეთოდის პრონციპი ემყარება ფოსფორილირებული გლიცეროლის მიერ წარმოქმნილი პროდუქტის გამოთავისფლებას, რომელიც ადვილად ისაზღვრება კოლორიმეტრულად ($\lambda=570\text{nm}$).

II.19. ფერმენტ კრეატინკინაზას აქტივობის განსაზღვრა

ფერმენტ კრეატინკინაზას აქტივობას ვსაზღვრავდით შუმანისა და სხვათა მოდიფიცირებული მეთოდით [223-225].

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 ამგ, 0.2 mM N-აცეტილცისტეინი, 10 μM დიადენოზინ პენტაფოსფატი, 2 mM ნადგ, >4 U ჰექსოკინაზა, 25 mM SH-სტაბილიზატორი; pH=6.5) და მეორე რეაქტივს (2 mM ადგ, >2.8 U G6P-DH, 30 mM კრეატინფოსფატი), შეფარდებით 4:1. მიტოქონდრიული კრეატინკინაზას აქტივობის გასაზღვრისას მეორე რეაქტივი შეიცავდა ატფ-სა და კრეატინს, pH=7.2.

შემდგომ ეტაპზე 50 $\mu\text{ლ}$ მიტოქონდრიულ სუსპენზიას ვუმატებდით 1 მლ სამუშაო რეაგენტს, ვურევდით და ვახდენდით მის ინკუბაციას 5 წუთის განმავლობაში 37°C-ზე, რის შემდეგაც ვზომავდით ხსნარის შუქშთანთქმის სიდიდეს სპექტროფოტომეტრულად ($\lambda=340\text{ nm}$) 1, 2, 3 წუთის შემდეგ (A1, A2, A3).

ფერმენტის აქტივობას ვითვლიდით შემდეგი ფორმულით:

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

სადაც:

E - ფერმენტის აქტივობაა,

$$\Delta A = \frac{(A1 + A2 + A3)}{3} - \text{მიღებული შუქშთანთქმის სიდიდეთა საშუალო}$$

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

II.20. კრეატინისა და ფოსფოკრეატინის რაოდენობრივი განსაზღვრა

კრეატინის რაოდენობას ვსაზღვრავდით Creatine Colorimetric/Fluorimetric Assay Kit-ის გამოყენებით (Biovision Inc, აშშ). აღნიშნული ტეტესტ სისტემა მაქსიმალური სიზუსტით ზომას კრეატინის რაოდენობას ბიოლოგიურ ნიმუშებში. კრეატინი ფერმენტულად კონვერტირდება სარკოზინში, რომელიც სპეციფიკურად იჟანგება და გვამღევს საბოლოო ეტაპზე შეფერილ პროდუქტს, რომელიც იზომება სპექტროფოტომეტრულად $\lambda=570$ ნმ ტალღის სიგრძეზე ან კოლორიმეტრულად ($E_x/E_m = 538/587$ nm)

ფოსფოკრეატინის კონცენტრაციას ნიმუშებში ვსაზღვრავდით Szasz et al მოდიფიცირებული მეთოდით [226].

მეთოდის პრინციპი მდგომარეობს ფოსფოკრეატინის დეფოსფორილირებასა და რიგი ფერმენტული რეაქციების შემდგომ აღდგენილი NADPH წარმოქმნაში.

სარეაქციო არე შეიცავდა 250 mM გლიცილ-გლიცინის ბუფერს (pH 7.4), 20 mM ადფ, 1 mM გლუკოზა, 20 mM NADP⁺, 300 mM MgCl₂, 50 U/ml გლუკოზო-6-ფოსფატდეჰიდროგენაზა და ჰექსოკინაზას, 50 U/ml კრეატინფოსფოკინაზა და ფოსფოკრეატინის სტანდარტული ხსნარი (2მგ/25 მლ).

ნარევს ვზომავდით $\lambda=340$ ნმ, ვაყოვნებდით 30°C-ზე 5 წთ და შემდეგ ისევ ვზომავდით. ფოსფოკრეატინის კონცენტრაციას ვითვლიდით სპეციალური ფორმულის გამოყენებით:

$$C = [(\Delta A_{\text{ნიმუში}} - \Delta A_{\text{სტანდარტი}}) \times (3.1) \times (25)] / 6.22 \mu\text{M/L}$$

II.21. კრეატინის მასინთეზირებელი ფერმენტის (GAMT) აქტივობისა და მატრანსპორტირებელი ცილის რაოდენობის განსაზღვრა

კრეატინის მასინთეზირებელი ფერმენტის GAMT-ის აქტივობა ისაზღვრებოდა ოგავას მოდიფიცირებული მეთოდის მეშვეობით [227,228].

ვირთაგვას ღვიძლების ჰომოგენიზაცია ხდებოდა სპეციალურ ბუფერში, რომელიც შეიცავდა 0.25 M საქაროზას, 10mM HEPES და 1mM EDTA. ღვიძლის ჰომოგენატს ვაცენტრიფუგირბდით 10000 გ' 4° C-ზე 1სთ-ის განმავლობაში. მიღებული სუპერნატანტი გამოიყენებოდა GAMT-ის აქტივობის განსაზღვრავად. ტესტი შეიცავდა 35 mM Tris-ის ბუფერს (pH 7.4), 7 mM 2-მერკაპტოეთანოლი, 50 μ M SAM და 0.2 mM GAA (გუანიდინოაცეტატის მჟავა). GAA-ს დამატებამდე ნიმუშებს უტარდებოდა პრეინკუბაცია 10 წთ-ის განმავლობაში. ბრმა ცდა არ შიცავდა GAA-ს. ჰომოგენატს ვაინკუბირებდითა 37° C , რეაქციის შეწყვეტა ხდებოდა 75 მკლ 15%-ანი ტრიქლორმმარმჟავას დამატებით. შემდეგ რეაქციის განეიტრალება დაუყოვნებლივ ხდებოდა μ l 72 მკლ 1M ტრის (pH 7.4) დამატებით. პრეციპიტირებული ცილის ცენტრიფუგირება ხდებოდა 10,000 გ' 5 წუთი ოთახის ტემპერატურაზე. GAMT-ის აქტივობაზე ვმსჯელობდით მიღებული კრეატინის რაოდენობით, რომელიც ისაზღვრაბოდა სპეციალური ტესტ- სისტემების მეშვეობით.

კრეატინის ტრანსპორტერის რაოდენობრივ მაჩვენებელს ვსაზღვრავდით Elisa - ტესტ-სისტემის მეშვეობით (MBS086588, MyBioSource, აშშ.). მეთოდის პრინციპი მდგომარეობს შემდეგში: მიკროპლანშეტი წინასწარ დაფარული იყო კრეატინის ტრანსორტერ-სპეციფიკური ანტისხეულებით, სტანდარტებსა და ნიმუშებს შემდგომში ემატებოდა ბიოტინ-კონუგირებული ანტისხეულებით, რომლებიც სპეციფიკურია კრეატინის მიმართ. HRP-თან კონუგირებული ავიდინი ემატებოდა მიკროპლანშეტს და ხდებოდა მისი ინკუბირება, შემდგომში TBM სუბსტრატი ემატებოდა მხოლოდ იმ ნიმუშებს, რომლებიც შეიცავდნენ CrT-ს. რეაქცისა წყდებოდა გოგირდმჟავას დამატებით. შეფერილობა ისაზღვრებოდა სპექტროფოტომეტრულად $\lambda=450$ ნმ ტალღის სიგრძეზე.

II.22. საერთო ქოლესტერინის და ტრიგლიცერიდების რაოდენობის განსაზღვრა

საერთო ქოლესტერინის რაოდენობა ისაზღვრებოდა Total Cholesterol Colorimetric /Fluorometric Assay Kit (K603-100, Biovision Inc, აშშ). მეთოდის პრინციპი ემყარება სისხლში წარმოქმნილი ქოლესტერინი დაჟანგვას წყალბადის ზეჟანგის მიერ, რომელიც მგრძნობიარეა ნიმუშის მიმართ და გვაძლევს შეფერილ პროდუქტს, რომელიც იზომება $\lambda=570$ ნმ ტალღის სიგრძეზე.

ტრიგლიცერიდების რაოდენობა პლაზმაში ისაზღვრებოდა Triglyceride Quantification Colorimetric/Fluorometric assay kit (K622-100, Biovision Inc, აშშ). მეთოდის პრინციპი ემყარებოდა, ტრიგლიცერიდების გარდაქმნას თავისუფალ ცხიმოვან მჟავებად და გლიცეროლად. წარმოქმნილი გლიცეროლი იჟანგება და წარმოქმნის პროდუქტს, რომელიც ურთიერთქმედებს ნიმუშთან და გვაძლევს შეფერილობას, რომელიც სპექტროფოტომეტრულად იზომება $\lambda = 570$ ნმ ტალღის სიგრძეზე.

II.23. მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების (HDL) და დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების (LDL) რაოდენობის განსაზღვრა.

მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების რაოდენობის დადგენა ხდებოდა HDL and LDL/VLDL Cholesterol Quantification Kit-ის მეშვეობით (K613-100, Biovision Inc, აშშ). მეთოდის პრინციპი ემყარება მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების გამოყოფას LDL/VLDL-სგან. კერძოდ ქოლესტეროლ ოქსიდაზა სპეციფიურად უკავშირდება თავისუფალ ქოლესტერინს და წარმოქმნის პროდუქტს, რომელიც სპეციფიკურდა ურთიერთქმედებს ნიმუშთან და გვაძლევს შეფერილობას, რომელიც ისაზღვრება სპექტროფოტომეტრულად $\lambda=570$ ნმ ტალღის სიგრძეზე.

LDL ქოლესტერინის კონცენტრაცია (LDL-C) გამოითვლება საერთო ქოლესტერინის (TC), მაღალი სიმკვრივის ქოლესტერინის (HDL-C) და ტრიგლიცერიდების (TG) კონცენტრაციების საშუალებით:

$$\text{LDL-C} = \text{TC} - \text{HDL-C} \times \text{TG}/5 (\text{მგ/დლ}) \text{ ან } \text{LDL-C} = \text{TC} - \text{HDL-C} \times \text{TG}/2.2 (\text{მმოლი/ლ})$$

II.24. დაჟანგული დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების (oxLDL)

რაოდენობის განსაზღვრა

დაჟანგული დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების განსაზღვრა ხდებოდა ტესტ-სისტემების მეშვეობით, იმუნოფერმენტული მეთოდით (CN:MBS728710; MyBioSource Inc, აშშ).

OxLDL ELISA ნაკრების პრინციპი დამყარებულია კონკურენტულ იმუნოფერმენტულ იმუნოანალიზზე, რომლის დროსაც ხდება მონოკლონური OxLDL ანტისხეულებისა და OxLDL-HRP კონიუგატის უტილიზაცია. ექსპერიმენტის საწყის ეტაპზე მოვახდინეთ ნიმუშისა და ბუფერის ინკუბაცია, წინასწარ დაფარულ პლანშეტზე, OxLDL-HRP კონიუგატთან ერთი საათის განმავლობაში. ინკუბაციის შემდეგ გადავრეცხეთ ფოსოები ხუთჯერ და დავუმატეთ HRP ფერმენტის სუბსტრატი. ფერმენტული რეაქციის შედეგად წარმოიქმნება მოლურჯო შეფერილობის კომპლექსი.

საბოლოო ეტაპზე სარეაქციო არეში დავამატეთ სტოპ-ხსნარი, რომელმაც წარმოქმნილი ფერი გარდაქმნა ყვითელში. ფერის ინტენსივობა განისაზღვრა სპექტროფოტომეტრულად 450 ნმ ტალღის სიგრძეზე, მიკროპლანშეტურ წამკითხველზე (Multiscan Go, ThermoFischer Scientific)

II.25. ჟანგბადის აქტიური რადიკალების რაოდენობის განსაზღვრა

ა) ჟანგბადის აქტიური რადიკალების განსაზღვრა ხდებოდა ტესტ-სისტემების მეშვეობით, იმუნოფერმენტული მეთოდით (CN: MBS039665; MyBioSource Inc, აშშ).

წინასწარ მონიშნულ ანტისხეულებს წარმოადგენს ვირთაგვის ROS-მონოკლონური ანტისხეული. გამოსავლენი ანტისხეული არის პოლიკლონური ანტისხეულები და ბიოტინი. ნიმუშებისა და ბიოტინის მარკირებულ ანტისხეულები გადაიტანება ELISA-ს პლანშეტზე და ირეცხება PBS-ით. შემდეგ ავიდინ-პეროქსიდაზა ემატება თითოეულ ნიმუშს; სუბსტრატის შეღებისთვის გამოიყენება TMB (3,3',5,5'-ტეტრამეთილბენზიდინი). ამის შემდგომ ნიმუშები ირეცხება ისევ PBS-ით. საბოლოო ეტაპზე წარმოიქმნება ყვითელი ფერის ნაერთი, რომელიც იზომება $\lambda=450$ ნმ ტალღის სიგრძეზე.

ბ) ჟანგბადის აქტიური რადიკალების განსაზღვრა PBMC-ის უჯრედებში გამდინარე ციტომეტრიის საშუალებით

ROS-ების შემცველობას PBMC-ის უჯრედებში ისაზღვრებოდა გამდინარე ციტომეტრიის გამოყენებით (Becton Dickinson). ამისთვის ვიყენებდით ორ საღებავს: დიჰიდროეთიდიუმს (DHE) და 2-7-დიჰიდრო-ფლუორესცინ დიაცეტატი (DCFH-DA, Sigma). DCFH-DA გამოიყენება ROS-ების საერთო შემცველობის დასადგენად უჯრედში, ხოლო DHE მიუთითებს უშუალოდ სუპეროქსიდ-რადიკალების რაოდენობაზე. ფლუორესცენციის ინტენსივობა (MFI) იზომებოდა 530 ნმ ტალღის სიგრძეზე [229,230].

II.26. ცილის კონცენტრაციის განსაზღვრა ლოურის მეთოდით

ფოლინ-ჩოკალტეუს ფენოლოურ რეაქტივთან ცილის მოლეკულის შემადგენლობაში არსებული ამინომჟავები (ცისტეინი, თიროზინი) წარმოქმნიან ლურჯი შეფერილობის კომპლექსს. ეს უკანასკნელი ფოლინის აღდგენის შედეგად წარმოიქმნება [231].

ექსპერიმენტის პირველ ეტაპზე 0.4 მლ მიტოქონდრიულ სუსპენზიას ვუმატებდით 2 მლ C რეაქტივს, რომელიც თავის მხრივ მზადდება A (NaHCO_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 ($\lambda=750 \text{ nm}$) და ვითვლიდით ცილის კონცენტრაციას შემდეგი ფორმულით:

$$C = (E_{\text{საშ}} - b) / a \text{ mg/ml}$$

სადაც:

C - ცილის კონცენტრაცია

$E_{\text{საშ}}$ - მიღებული შუქშთანთქმების საშუალო

a – y ღერძის გადაკვეთის წერტილი

b - ხაზის დახრილობა

II.27. სტატისტიკური ანალიზი

სტატისტიკური ანალიზისათვის გამოვიყენეთ Student's t-ტესტი არადამოკიდებელი მონაცემებისათვის და სარწმუნოდ იქნა მიჩნეული $p \leq 0.05$ და $p \leq 0.01$ მაჩვენებელი.

III. მიღებული შედეგები და მათი განხილვა

III.1. ფსიქო-ემოციური სტატუსის განსაზღვრა ხანგრძლივი იზოლირებისა და ცირკადული რიტმის დარღვევის პირობებში

დადგენილია, რომ ორგანიზმის ხანგრძლივი სოციალური იზოლაცია იწვევს ფსიქო-ემოციურ სტრესის განვითარებას, რომელიც თავის მხრივ განაპირობებს სხვადასხვა ქცევით დარღვევებს, გაზრდილ აგრესიულობას და ა.შ. ამავე დროს, მრავალრიცხოვანი კვლევები ადასტურებენ კავშირს სოციალური იზოლაციასა და სხვადასხვა სახის, მათ შორის გულ-სისხმარღვთა პათოლოგიას შორის. გარდა ზემოთ აღნიშნულისა, ერთ-ერთ მნიშვნელოვან სტრეს-ფაქტორს წარმოადგენს ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევაც. სამეცნიერო ლიტერატურიდან კარგადაა ცნობილი ამ ფაქტორის ნეგატიური როლი ცხოველური ორგანიზმის ნორმალურ ფუნქციონირებაზე, რაც საბოლოოდ ვლინდება სხვადასხვა ტიპის პათოლოგიური პროცესისა და დაავადებების ჩამოყალიბებაში [232-234].

ბუნებრივი პირობების ნებისმიერი ტიპის ცვლილება, პირველ რიგში მოქმედებს ცნს-ზე, რაც გამოიხატება პერიფერიული ნერვული სისტემის აქტივირებითა და შესაბამისად, სხვადასხვა ჰორმონების სეკრეციით სისხლში [235]. სტრესის ზემოქმედებით სისხლში იზრდება ცირკულირებადი სტრეს-ჰორმონის (კორტიკოსტრონი) რაოდენობა, რომელიც ააქტივებს გლუკოკორტიკოიდულ რეცეპტორებს და ახდენს ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების პროდუქციას, რაც თავის მხრივ, უჯრედულ დონეზე აღრმავებს ოქსიდაციური სტრესის მიმდინარეობას, რაც პათოლოგიური პროცესის ჩამოყალიბების მიზეზი ხდება [236].

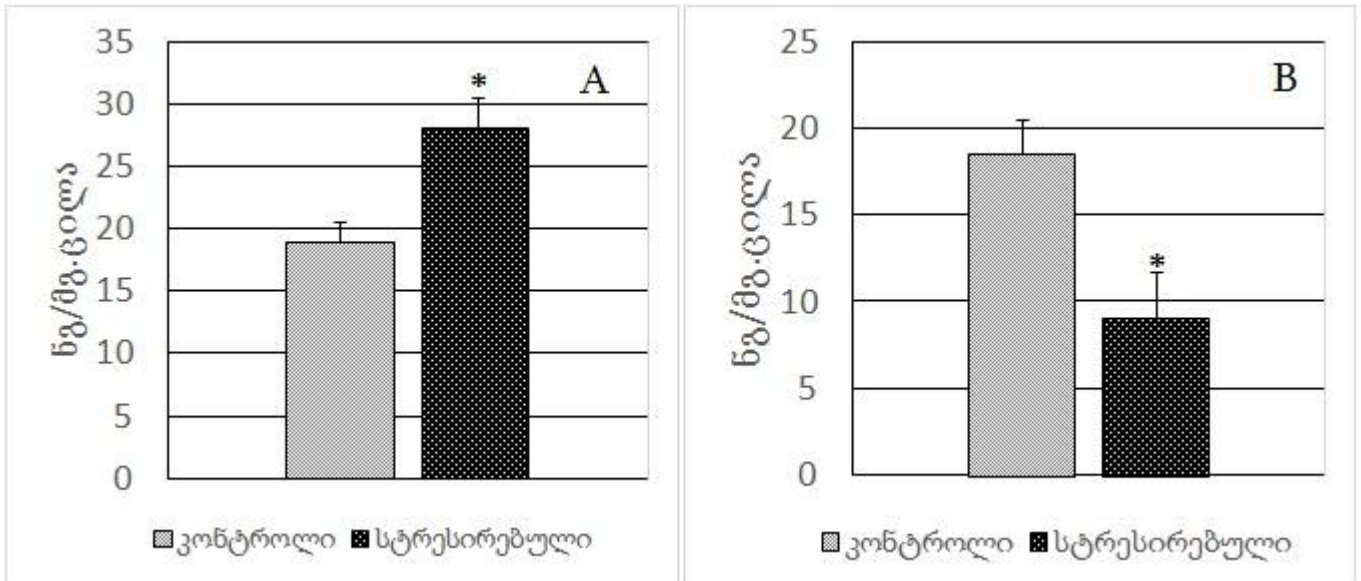
ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ სტრესული მდგომარეობის შემფასებელ ბიოქიმიურ მარკერად ფართოდ გამოიყენება საკვლევი ინდივიდის სისხლში (პლაზმა) სტრესული ჰორმონების რაოდენობრივი ცვლილებები. აღნიშნულიდან გამომდინარე, ექსპერიმენტის საწყის ეტაპზე განისაზღვრა 30-დღიანი სოციალური იზოლაციისა და

ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში საცდელი ცხოველების სისხლში ისეთი ჰორმონების რაოდენობრივი შემცველობა, როგორცაა კორტიკოსტერონი და სეროტონინი. ამისათვის

ცნობილია, რომ ორგანიზმის სისხლში არსებული კორტიკოსტერონის უდიდესი წილის სეკრეცია თირკმელზედა ჯირკვლიდან ხორციელდება დილის საათებში, რის შემდგომაც პროცესის ინტენსივობა მცირდება [237]. აქედან გამომდინარე, ჰორმონების განსაზღვრისათვის სისხლს ექსპერიმენტული ცხოველებიდან ვიღებდით დილის საათებში (9.00-10.00სთ). მიღებული მონაცემები წარმოდგენილია სურათზე 1.

სურათიდან ჩანს, რომ ცხოველების იზოლირება და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევა გავლენას ახდენს ორგანიზმის ჰორმონალურ სტატუსზე, კერძოდ კორტიკოსტერონის რაოდენობა სტრესირებულ ცხოველებში საკონტროლო სიდიდესთან შედარებით შემცირებულია, იმ დროს, როცა სეროტონინის შემცველობა, პირიქით, მატულობს. როგორც ცნობილია, მათი რაოდენობა ამა თუ იმ პირობებში ანტაგონისტურად იცვლება, თუმცა ჯერ-ჯერობით დაუზუსტებელია აღნიშნული ცვლილების ზუსტი ხასიათი, სტრესულ სიტუაციებში ნანახია როგორც ერთი, ასევე მეორე ჰორმონის რაოდენობრივი მატება [238]. მწვავე სტრესის შედეგად, ადგილი აქვს კორტიკოსტერონის რაოდენობის მატებას და მის პარალელურად, სეროტონინის რაოდენობის კლებას, მაშინ, როცა ქრონიკული სტრესის პირობებში საპირისპირო შედეგები ფიქსირდება. ანალოგიური მონაცემები საცდელი ცხოველების ჰორმონალურ სტატუსზე სხვა ავტორების მონაცემებშიაც არის ნანახი [238].

როგორც სურათი 1-დან ჩანს, ცხოველების ხანგრძლივი, 30-დღიანი სოციალური იზოლირება და ბუნებრივი რიტმის დარღვევა იწვევს სეროტონინის კონცენტრაციის $\approx 36\%$ -იან ზრდას, მაშინ როცა კორტიკოსტერონის შემცველობა დაახლოებით 47% -ითაა შემცირებული. სავარაუდოდ, მიღებული მონაცემები 30-დღიანი სტრესირებული ცხოველების ე.წ. "გამოფიტვის" სტადიაში ყოფნის შედეგია.

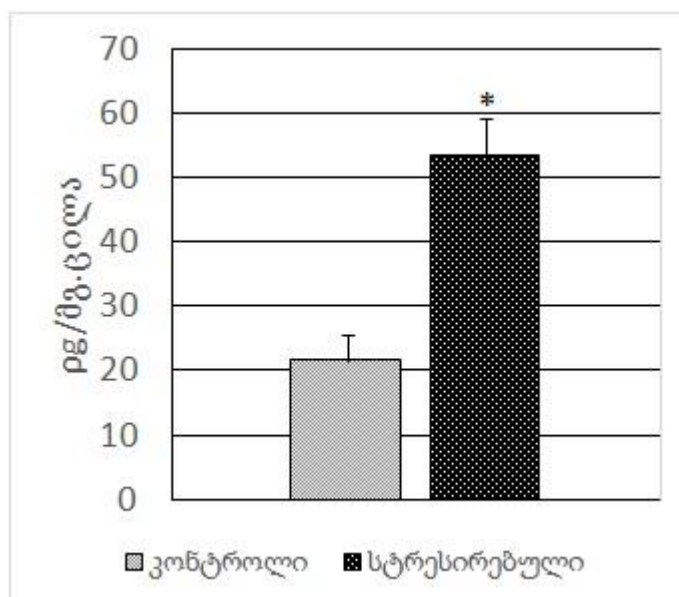


სურათი 1. თეთრი ვირთაგვას სისხლში სეროტონინისა (A) და კორტიკოსტერონის (B) რაოდენობრივი ცვლილებები 30- დღიანი სოციალური იზოლაციისა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში

*ორდინატთა ღერძზე - ჰორმონის კონცენტრაცია (ნგ/მგ ცილა); * $p < 0.05$*

გამომდინარე იქიდან, რომ დარღვეული იყო საცდელი ობიექტის ბუნებრივი ცირკადული რიტმი, შემდგომ ცდებში განსაზღვრული იქნა ჰორმონ მელატონინის რაოდენობრივი შემცველობა. ცნობილია, რომ ეს ჰორმონი პასუხისმგებელია ორგანიზმის „ცირკადული საათის“ ნორმალურ ფუნქციონირებაზე და მისი სინთეზი ეპიფიზში მიმდინარეობს სიბნელის პირობებში. როგორც სურათი 2-დან ჩანს, ხანგრძლივი სოციალური იზოლაციისას, რომელიც მიმდინარეობს ბუნებრივი ცირკადული რიტმის პირობებში, მელატონინის შემცველობა ექსპერიმენტული ვირთაგვების სისხლის პლაზმაში დაახლოებით 2,5-ჯერაა მომატებული. მელატონინი გარდა იმისა, რომ მონაწილობს დღე-ღამური ციკლის რეგულირებაში, ასევე წარმოადგენს ძლიერ ენდოგენურ ანტიოქსიდანტს, ჭარბი რაოდენობის შემთხვევაში მას გააჩნია გარკვეული დამცავი მოქმედება, კერძოდ ოქსიდაციური სტრესის გააქტივების ფონზე მას შეუძლია შებოჭოს სისხლში არსებული თავისუფალი რადიკალები, რითაც ხელი შეუშალოს

მოცირკულირე დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების დაჟანგვას, რაც თავის მხრივ, ათეროსკლეროზული ფოლაქის ჩამოყალიბების რისკ-ფაქტორი ხდება [239].



სურათი 2. თეთრი ვირთაგვას სისხლში მელატონინის რაოდენობრივი შემცველობის ცვლილება 30 დღიანი სოციალური იზოლაციისა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში
*ორდინატა ღერძზე - ჰორმონის კონცენტრაცია (pg/მგ ცილა); * $p < 0.05$*

ცნობილია, რომ სტრესის შედეგად გამოწვეული ჰორმონალური დისბალანსი შესაძლოა გახდეს ჰიპოკამპის დაზიანების მიზეზი, რომელიც პასუხისმგებელია ფსიქო-ემოციურ სტატუსსა და მეხსიერებაზე [240]. ამის გათვალისწინებით, საინტერესო იყო ექსპერიმენტულ ცხოველებზე სტრესის ზეგავლენა შეგვემოწმებინა ფიზიოლოგიური ტესტებითაც. მიღებული მონაცემები წარმოდგენილია ცხრილში 1.

როგორც მიღებული მონაცემებიდან იკვეთება, რომ სოციალურ იზოლაციასა და ბუნებრივი ცირკადული რიტმის დარღვევის პირობებში მოხვედრილი ცხოველების ჰორმონალური სტატუსის გარდა, შეცვლილია ასევე მათი ფიზიოლოგიური მახასიათებლებიც, კერძოდ სარწმუნოდაა გაზრდილი შიშის რეაქციები შემცირებული კვლევითი აქტივობის ფონზე. მსგავსი შედეგები ნანახი იქნა ჩვენს წინა კვლევებშიც.

ცხოველების ფიზიოლოგიური მახასიათებლები ხანგრძლივი სოციალური იზოლაციისა და ცირკადული რიტმის დაღვევით გამოწვეული სტრესის პირობებში

* $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$

აქტივობის ტიპი ჯგუფები	შიშის რეაქციები				კვლევითი აქტივობა				
	დეჟეკაცია	გრუმინგის ხანგრძლივობა (წმ)	გარინდვა (რაოდენობა)	გარინდვის ხანგრძლივობა (წმ)	ვერტიკალური დგომი	ცენტრში ყოფნის ხანგრძლივობა	ცენტრში ყოფნის რაოდენობა	ცენტროსკეპული მოძრაობების რაოდენობა	მოძრაობა (სექტორების გადაკვეთის რიცხვი)
კონტროლი	3.6±0.20	3.7±0.23	3.2±0.17	14.4±0.85	11.6±0.78	4.0±0.25	1.85±0.14	5.3±0.26	4.1±0.22
სტრესი	5.6±0.23*	17.2±0.85**	9.8±0.55**	21.4±0.82**	3.2±0.17*	2.2±0.29*	0.83±0.09*	0.63±0.11**	0**

ამრიგად, მიღებული მონაცემები მიუთითებენ, რომ ინდივიდის ხანგრძლივი სოციალური იზოლაცია, რომელიც მიმდინარეობს დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში, ცხოველებში სტრესული ფონის განვითარებას უწყობს ხელს, რაც იძლევა საშუალებას ვივარაუდოთ, რომ აღნიშნული პირობები ფსიქო-ემოციური სტრესის ჩამოყალიბების რეალური ინიციატორია.

III.2. გულის კუნთის ქსოვილსა და სისხლში აზოტის ოქსიდისა და ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის პროდუქტების რაოდენობრივი შემცველობის ცვლილება ხანგრძლივი ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში

როგორც აღინიშნა, ხანგრძლივი სოციალური იზოლაცია და ბუნებრივი ცირკადული რიტმის დარღვევა მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ორგანიზმის ჰორმონალურ სტატუსზე ანუ პირველად მესენჯერულ სისტემაზე. ცნობილია, რომ ორგანიზმში ჰორმონების რაოდენობრივი ცვლილება წარმოადგენს იმ ძირითად

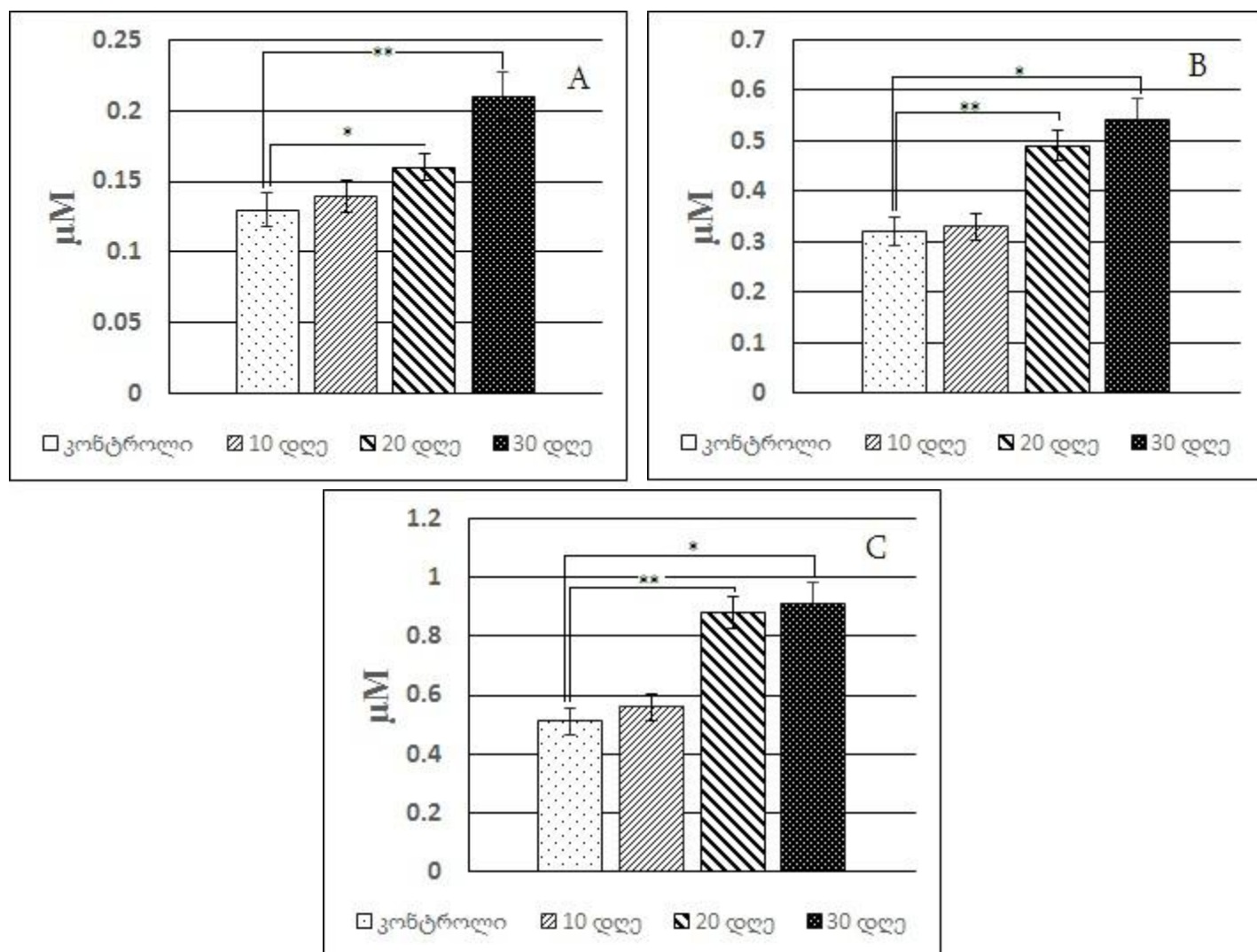
სასტარტო მდგომარეობას, რაც იწვევს უჯრედში მთელი რიგი სასიგნალო მოლეკულების სინთეზსა და მათი მეშვეობით განხორციელებულ სასიგნალო კასკადის ინტენსივობისა და მიმართულების შეცვლას. ერთ-ერთ ასეთ მოლეკულად განიხილება აზოტის ოქსიდი (NO).

როგორც ცნობილია, NO წარმოადგენს როგორც უჯრედშიდა, ასევე უჯრედგარე მესენჯერს და აქტიურ მონაწილეობას ღებულობს სხვადასხვა მეტაბოლური პროცესების რეგულირებაში, უზრუნველყოფს რა ორგანიზმის ნორმალურ ფუნქციონირებას. კერძოდ, NO პასუხისმგებელია მთელი რიგი ფერმენტების აქტივობის რეგულირებაზე, ამავე დროს იგი აქტიურადაა ჩართული გლიკოლიზისა და სუნთქვის ჯაჭვის ფერმენტების რეგულაციასა და სხვა მნიშვნელოვან პროცესებში [241].

NO-ს ბიოლოგიური როლი უჯრედში პირდაპირ კავშირშია მის რაოდენობრივ შემცველობაზე. მისი ჭარბი, ციტოტოქსიკური რაოდენობა უარყოფითად აისახება უჯრედის ფუნქციონირებაზე, განსაკუთრებით ეს ეხება სისხლძარღვის ენდოთელურ უჯრედებს. ჭარბი რაოდენობით სინთეზირებული აზოტის ოქსიდი თავისუფალ რადიკალებთან დაკავშირების შემდგომ წარმოქმნის პეროქსინიტრიტს, რომელიც ურთიერთქმედებს სისხლის პლაზმაში მოცირკულირე დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინებთან და ჟანგავს რა მათ, ხელს უწყობს ე.წ. „ქაფიანი უჯრედების“ წარმოქმნას, რაც თავის მხრივ, ხდება სისხლძარღვის ათეროსკლეროზული დაზიანების საფუძველი [242].

ზემოთქმულის გათვალისწინებით, შემდგომში განსაზღვრული იქნა აზოტის ჟანგის რაოდენობრივი ცვლილების დინამიკა როგორც საკონტოლო, ისე სტრესირებული ცხოველების გულის კუნთის ქსოვილსა და სისხლში ფსიო-ემოციური სტრესის მიმდინარეობის ფონზე. მიღებული მონაცემები წარმოდგენილია სურათზე 3. სურათიდან ჩანს, რომ ცხოველების სოციალური იზოლაციისა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევით გამოწვეული ფსიქო-ემოციური სტრესის მიმდინარეობის პარალელურად, NO-ს კონცენტრაცია ექსპერიმენტული ცხოველების გულის კუნთის ქსოვილსა და სისხლში მატულობს და მაქსიმალურ აქტივობას აღწევს სტრესის 30-ე დღეს. კერძოდ, მიტოქონდრიულ ფრაქციაში მისი შემცველობა საკონტროლო

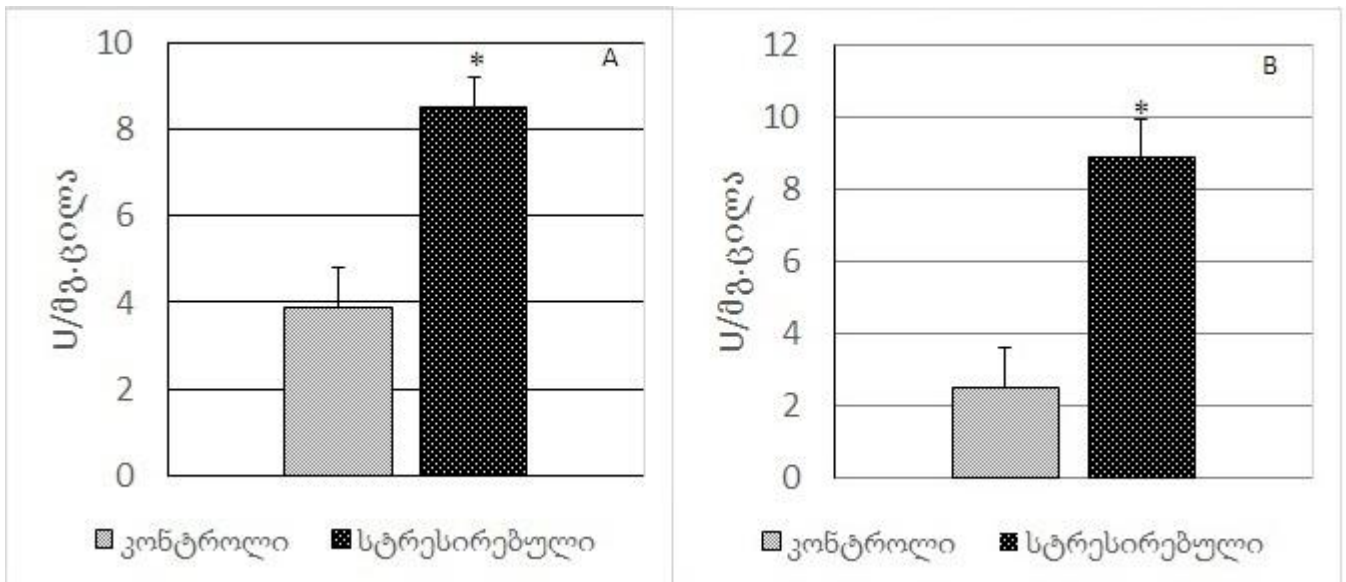
მაჩვენებელთან შედარებით დაახლოებით 61%-ითაა გაზრდილი, ციტოზოლურ ფრაქციაში 65%, ხოლო სისხლის პლაზმაში 78%. მიღებული მონაცემები მიუთითებენ, რომ NO-ს ამ ტიპის ცვლილებების მიზეზი შესაძლებელია იყოს მისი მასინთეზირებელი ფერმენტის აქტივობის ზრდა.



სურათი 3. გულის კუნთის ქსოვილის მიტოქონდრიულ (A), ციტოზოლურ (B) ფრაქციებსა და სისხლის პლაზმაში (C) აზოტის ოქსიდის (NO) რაოდენობრივი ცვლილებების დინამიკა 30- დღიანი სოციალური იზოლაციისა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში

ორდინატთა ღერძზე - NO-ს რაოდენობრივი შემცველობა (μM), * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

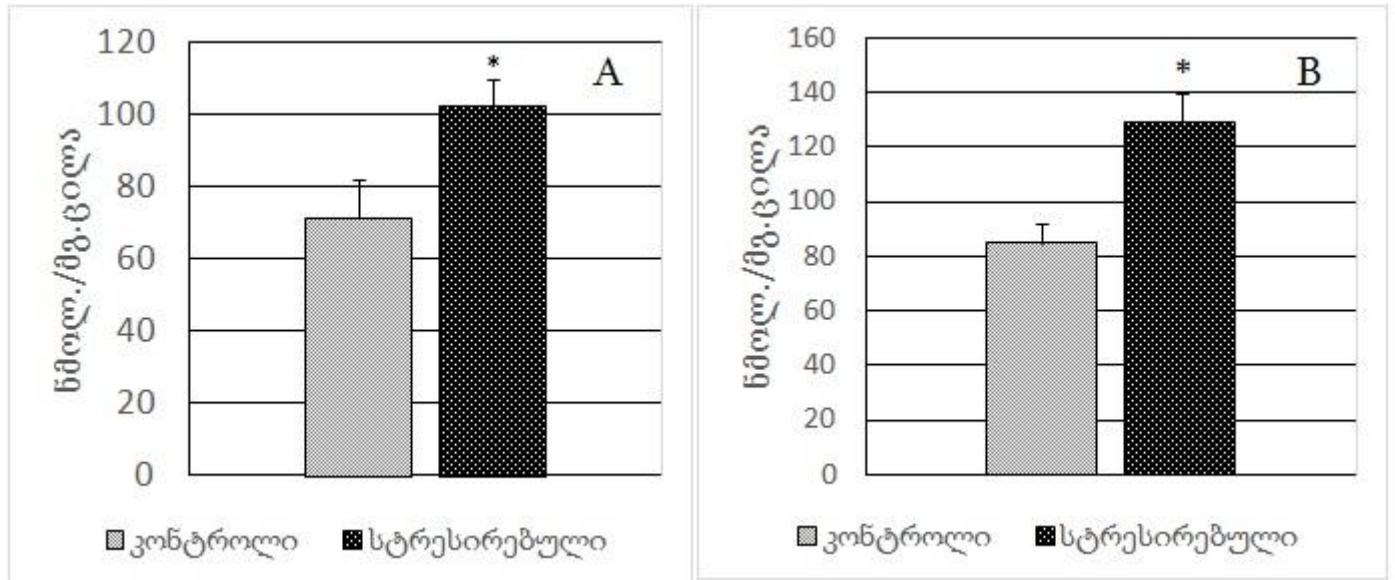
ცნობილია, რომ NO-ს სინთეზი ხორციელდება სპეციალური ფერმენტების, კერძოდ NO-სინთაზების (NOS) მონაწილეობით. ნანახია ამ ფერმენტის 3 იზოფორმა, კერძოდ ენდოთელიალური (eNOS), ინდუციბელური (iNOS) და ნეირონული (nNOS). იქიდან გამომდინარე, რომ სწორედ eNOS განსაზღვრავს NO-ს შემცველობას სისხლში და ნაწილობრივ გულის კუნთში, შემდგომ განსაზღვრული იქნა ამ ფერმენტის აქტივობა (სურ.4). მიღებულმა შედეგებმა ხანგრძლივი სოციალური იზოლაციისა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევით გამოწვეული ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში აჩვენა eNOS-ის აქტივობის მატება როგორც გულის კუნთის ქსოვილში (≈ 2 -ჯერ), ასევე სისხლში (≈ 3 -ჯერ).



სურათი 4. ენდოთელიური აზოტის ოქსიდის სინთაზას (eNOS) აქტივობის ცვლილება გულის კუნთის ქსოვილსა (A) და სისხლის პლაზმაში (B) 30- დღიანი სოციალური იზოლაციისა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში ორდინატა ლერძზე - eNOS-ის ფერმენტული აქტივობა (U/მგ ცილა), * $p < 0.05$

ცნობილია, რომ eNOS-ს აქტივატორს წარმოადგენს კალციუმის იონები (Ca^{2+}), რომლის რაოდენობრივი ცვლილებები, თავის მხრივ, დაკავშირებულია ზოგიერთი ჰორმონის, მათ შორის კორტიკოსტერონისა და სეროტონინის რაოდენობრივ შემცველობაზე სისხლში [243]. ამის გათვალისწინებით, შემდგომ განსაზღვრული იქნა Ca^{2+} -იონის რაოდენობრივი სიდიდე გულის კუნთის ქსოვილსა და სისხლის პლაზმაში. მიღებული მონაცემები წარმოდგენილია სურათზე 5, საიდანაც ჩანს, რომ სტრესის

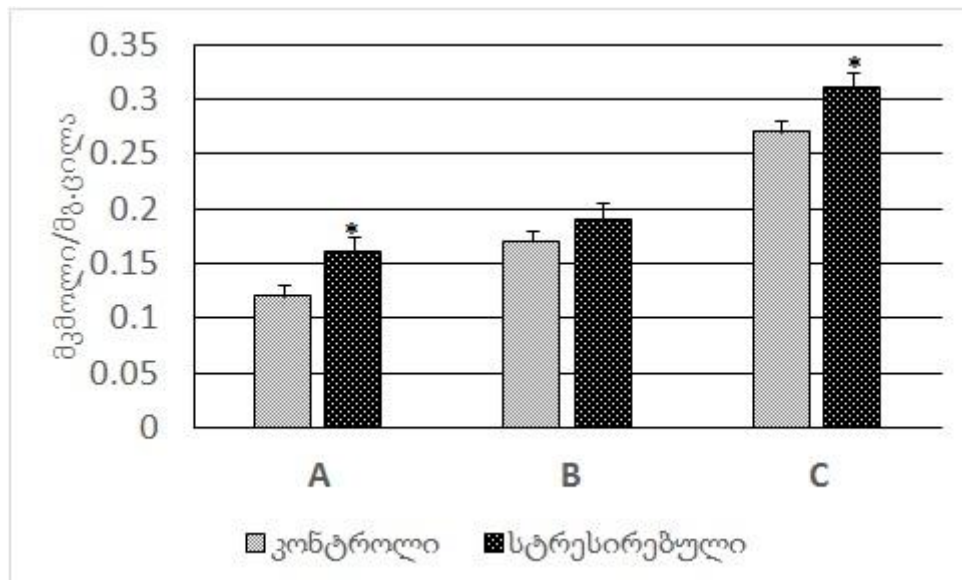
ფონზე ადგილი აქვს კალციუმის მატებას, რაც თავის მხრივ, როგორც eNOS-ს აქტივატორი, სავარაუდოდ, ხელს უწყობს როგორც სისხლში, ასევე გულის კუნთის ქსოვილში NO-ს რაოდენობის მატებას.



სურათი 5. Ca^{2+} -ის რაოდენობრივი შემცველობა გულის კუნთის ქსოვილისა (A) და სისხლის პლაზმაში (B) ცხოველების სოციალური იზოლაციისა და ცირკადული რიტმის დარღვევით გამოწვეული სტრესის პირობებში
*ორდინატთან ღერძზე - კალციუმის იონის რაოდენობა (ნმოლი/ მგ ცილა), * $p \leq 0.05$*

როგორც ცნობილია, NO როგორც სასიგნალო მოლეკულა, დაკავშირებულია მთელ რიგ უჯრედულ პროცესებთან. კერძოდ, იგი ჟანგვითი ფოსფორილირების პროცესის ინჰიბირების ხარჯზე ამცირებს ატფ-ის გენერაციას, რასაც მოსდევს მიტოქონდრიებში სუპეროქსიდ-რადიკალის წარმოქმნა, რომლის უშუალო სამიზნეს მემბრანული კომპონენტები (ლიპიდები) და ზოგიერთი ფერმენტის აქტიური ცენტრი წარმოადგენს. NO-ს ასევე გააჩნია უნარი წარმოქმნას პეროქსინიტრიტის რადიკალი, რომელიც თავის მხრივ, საკმაოდ რეაქტიულ ნაერთს წარმოადგენს და შეუძლია სხვადასხვა უჯრედული მაკრომოლეკულების დაჟანგვა. ცნობილია, რომ აქტიური რადიკალების ძირითად სამიზნეს, სხვადასხვა ცილოვანი მოლეკულების გარდა, წარმოადგენს უჯერი ცხიმოვანი მჟავების შემცველი მემბრანული ლიპიდებიც, რომლებთან ურთიერთქმედებით იწყება ე.წ. ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის (ლზჟ) -

პეროქსიდაციის პროცესი, რასაც საბოლოოდ მოსდევს სამიზნე უჯრედში ოქსიდაციური სტრესის განვითარება.

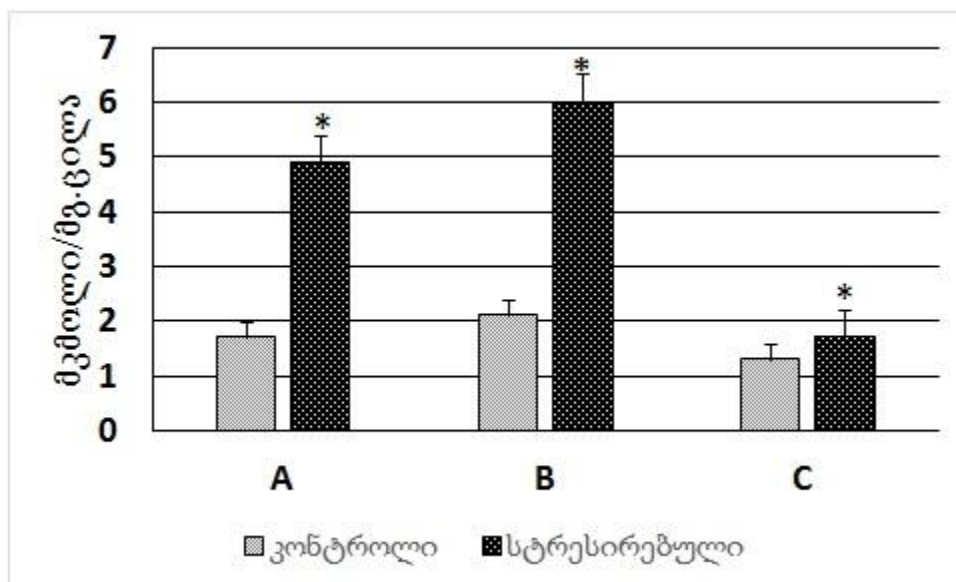


სურათი 6. გულის კუნთის ქსოვილის მიტოქონდრიულ (A), ციტოზოლურ (B) ფრაქციებსა და სისხლის პლაზმაში (C) მალონის დიალდეჰიდის რაოდენობრივი ცვლილებები 30- დღიანი სოციალური იზოლაციისა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში

*ორდინატთა ლერძზე -მალონის დიალდეჰიდის კონცენტრაცია (მკმოლი/მგ ცილა), * $p < 0.05$*

ამ პროცესისადმი განსაკუთრებულ მგრძობელობას ამჟღავნებენ მემბრანული სტრუქტურები, ვინაიდან ამ დროს ხდება უჯრედის მემბრანის გაფაშარება და მათი განვლადობის ზრდა, რაც არღვევს უჯრედის ნორმალურ ფუნქციონირებას. ამასთან, აღნიშნული პროცესის შედეგად ხდება ჭარბი თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნა, რომლებიც თავის მხრივ, სხვადასხვა ჟანგვითი რეაქციების აქტივატორს წარმოადგენენ.

ზემოთთქულიდან გამომდინარე, შემდგომ შესწავლილი იქნა ლზჟ-ის პროცესის ინტენსივობა გულის კუნთის ქსოვილის უჯრედებში ხანგრძლივი სოციალური იზოლაციისა და დღე-ღამური რიტმის დარღვევით გამოწვეული ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში. ამ პროცესის შესწავლა ხდებოდა ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის პროდუქტების მალონის დიალდეჰიდის და დიენური კონიუგატების რაოდენობრივი ცვლილების ფონზე. მიღებული მონაცემები წარმოდგენილია სურათზე 6 და 7.

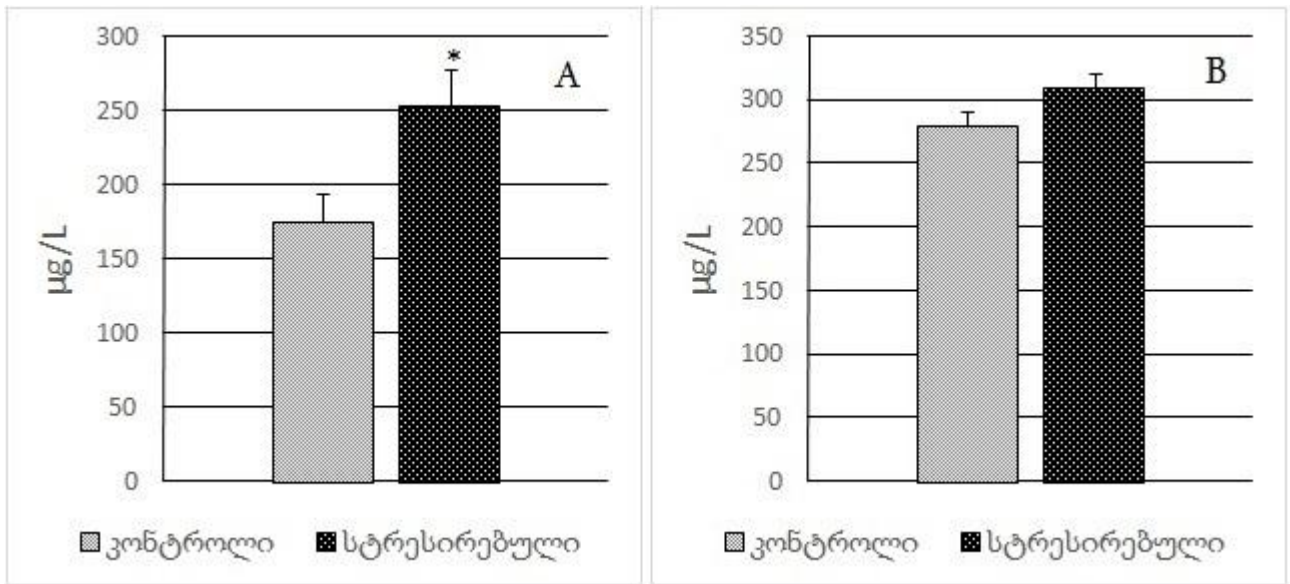


სურათი 7. გულის კუნთის ქსოვილის მიტოქონდრიულ (A), ციტოზოლურ (B) ფრაქციებსა და სისხლის პლაზმაში (C) დიენური კონუგატების რაოდენობრივი ცვლილებები 30- დღიანი სოციალური იზოლაციისა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში

ორდინატთა ღერძზე - დიენური კონუგატების კონცენტრაცია (მკმოლი/მგ ცილა), * $p \leq 0.05$

მიღებული შედეგებიდან ჩანს, რომ მალონის დიალდეჰიდის რაოდენობა სტრესირებული ინდივიდებში არათანაბრადაა შეცვლილი. კერძოდ, სტრესირებული ცხოველების გულის კუნთის ქსოვილის მიტოქონდრიულ ფრაქციაში მათი რაოდენობა დაახლოებით 23%-ით მატულობს, იმ დროს, როცა ციტოპლაზმაში რაოდენობრივი ცვლილებები არასარწმუნოა. რაც შეეხება სისხლის პლაზმას, აქ მალონის დიალდეჰიდის რაოდენობრივი მატება მხოლოდ 14%-ს შეადგენს. გაცილებით მკვეთრი მატება აღინიშნება დიენური კონიუგატების რაოდენობის მხრივ, კერძოდ მიტოქონდრიულ და ციტოზოლურ ფრაქციაში მათი რაოდენობა დაახლოებით 2,5-ჯერ მატულობს, თუმცა სისხლის პლაზმაში ეს მაჩვენებელი საკმაოდ მცირეა და დაახლოებით 30% შეადგენს.

ზემოთ მოყვანილი მონაცემების გათვალისწინებით, შემდგომ ცდებში განსაზღვრული იქნა უშუალოდ თავისუფალი რადიკალების რაოდენობრივი შემცველობა. ამისათვის გამოყენებული იქნა როგორც სპექტროფოტომეტრიული, ასევე გამდინარე ციტომეტრიული მეთოდი. სპექტროფოტომეტრიული მეთოდით დაფიქსირდა ROS-ის დაახლოებით 44%-იანი ზრდა გულის კუნთის უჯრედებში, რაც მიუთითებს ქსოვილში ოქსიდაციური სტრესის ინიცირებაზე. თუმცა ანალოგიურმა ცდებმა სისხლში არ გამოავლინა ამ პარამეტრის სარწმუნო ცვლილებები (სურ.8).

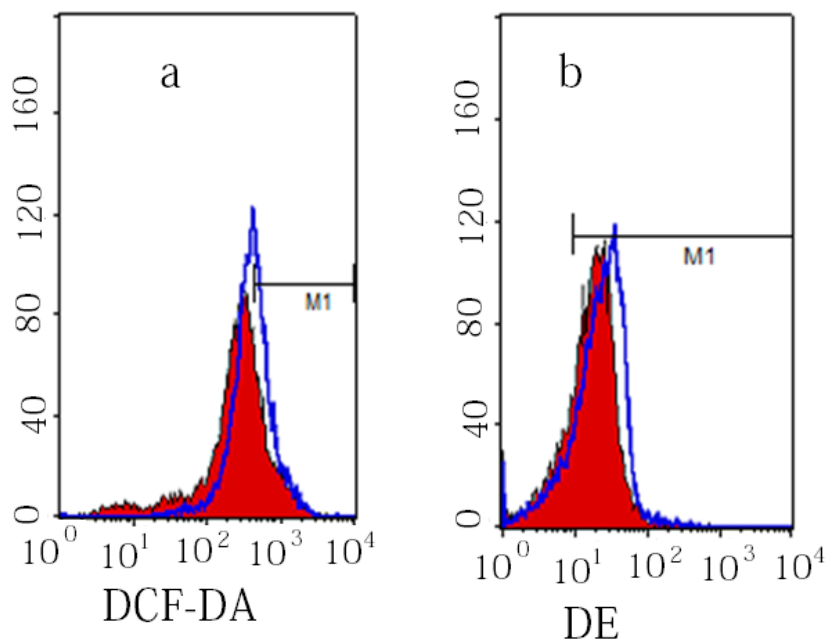


სურათი 8. ჟანგბადის აქტიური რადიკალების საერთო რაოდენობრივი მაჩვენებელი ვირთაგვას გულის კუნთის ქსოვილსა (A) და სისხლის პლაზმაში (B) 30-დღიანი სოციალური იზოლაციისა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში

*ორდინატა ღერძზე - აქტიური რადიკალების საერთო შემცველობა (მკგრ/ლ), * $p \leq 0.05$*

ცნობილია, რომ სისხლში ROS-ების ერთ-ერთ სავარაუდო წყაროს წარმოადგენს სხვადასხვა უჯრედები, მათ შორის სისხლის მონონუკლეარული უჯრედებიც (PBMC), რომელიც, წარმოადგენს ლიმფოციტების, მონოციტების და დენდრიტული უჯრედების პოპულაციას და აქტიურადაა ჩართული ორგანიზმის უჯრედული იმუნიტეტის ფუნქციონირების პროცესში [244]. ამის გათვალისწინებით, საინტერესო იყო სტრესული პირობების მაგალითზე შეგვესწავლა ჟანგბადის აქტიური რადიკალებისა (ROS)

რაოდენობრივი ცვლილებები PBMC -ში გამდინარე ციტომეტრიული მეთოდით. ექსპერიმენტში გამოყენებული იქნა ორი სპეციფიკური საღებავი - დიქლორო-ფლუორისცინ დიცეტატი (DCF-DA) და დიჰიდროეთიდიუმი (DE). როგორც ცნობილია, DCF-DA გამოიყენება ROS-ების საერთო შემცველობის დასადგენად უჯრედში, ხოლო DE მიუთითებს უშუალოდ სუპეროქსიდ-რადიკალების რაოდენობაზე (სურ.9).



სურათი 9 . ჰისტოგრამაზე წარმოდგენილია ექპერიმენტული ჯგუფის პერიფერიული სისხლის მონოკლონური უჯრედების (PBMC) განაწილება *a) უჯრედები შეღებილია 2'-7'-დიქლორო-ფლუორისცინ დიცეტატით (DCF-DA) b) უჯრედები შეღებილია დიჰიდროეთიდიუმით*; თითოეული ჰისტოგრამა შედარებულია საკონტროლო ჯგუფის ჰისტოგრამასთან, რომელიც ნაჩვენებია ლურჯი კონტურის სახით. *აბსცისათა ღერძზე-ფლუორესცენციის ინტენსივობა, ორდინატთა ღერძზე-უჯრედთა რაოდენობა*

როგორც სურათი 9a და 9b-დან ჩანს, სტრესირებული ცხოველების PBMC-ში, საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებთან შედარებით, არ შეინიშნება ROS-ების რაოდენობის სარწმუნო ცვლილებები (MFI_{DCF-DA}: 300.33±14.85- contr. vs 283.01±41.24 - exp; MFI_{DE}: 17.83±2.26- exp vs. 20.18±1.83- contr.). მიღებული შედეგები ანალოგიურია სპეტროფოტომეტრიული მეთოდით მიღებული მონაცემებისა, სადაც ექსპერიმენტული ცხოველების სისხლში არ შეინიშნება ROS-ების რაოდენობის სარწმუნო მატება.

აღნიშნული ეფექტის მიზეზად შესაძლებელია განვიხილოთ ხანგრძლივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის ფონზე ჭარბი რაოდენობის მელატონინის არსებობა. ეს უკანასკნელი, როგორც ლიტერატურული მონაცემები მიუთითებენ, გამოირჩევა საკმაოდ მძლავრი ანტიოქსიდანტური თვისებებით. ხშირ შემთხვევაში მისი ანტიოქსიდანტური სიმძლავრე ისეთი ნაერთის სიძლიერეზე მეტია, როგორცაა ვიტამინი E, რომელიც როგორც ცნობილია, წარმოადგენს ერთერთ მძლავრ ენდოგენურ ანტიოქსიდანტს [245,246]. სავარაუდოა, რომ ხანგრძლივი სტრესის ფონზე განვითარებული პროცესი გარკვეულწილად წარმოადგენს ორგანიზმისათვის ერთერთ დამცავ მექანიზმს, რომელიც აკომპენსირებს აღნიშნულ პირობებში მიმდინარე არასასურველ პროცესებს და საშუალებას აძლევს მას წინააღმდეგობა გაუწიოს სტრესულ ფაქტორებს და მინიმუმამდე შეამციროს ორგანიზმში დაწყებული პათოლოგიური პროცესები, რაც წარმოადგენს ორგანიზმის კონკრეტული სტრესისადმი ადაპტირების საშუალებას.

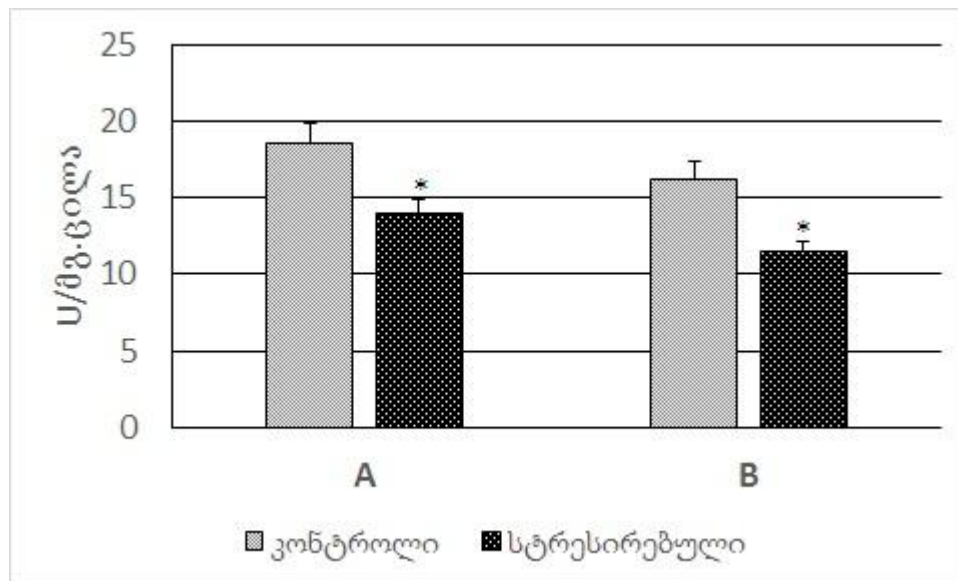
III.3. გულის კუნთის ქსოვილსა და სისხლში ანტიოქსიდანტური სისტემის ზოგიერთი ფერმენტის აქტივობის ცვლილებები ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში

როგორც ცნობილია, ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების ერთერთ წყაროს ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის აქტივაცია (ლზჟ) წარმოადგენს. ეს პროცესი უჯრედში იწყება სხვადასხვა სახის სტრეს-ფაქტორების (ემოციური, ფიზიკური, ფსიქოლოგიური და სხვ.) ზემოქმედების შედეგად [247]. ჩვეულებრივ პირობებში, ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების (ROS) წარმოქმნა გარკვეული დოზით ყოველთვის მიმდინარეობს, ვინაიდან მისი დახმარებით ხდება უჯრედის დეგრადირებული მოლეკულების, მათ შორის ცილების, მთელი რიგი ფერმენტების, ნუკლეინის მჟავების, პათოგენური აგენტებისა და სხვათა დაშლა და აცილება. ROS-ების წარმოქმნის დამაბალანსებლად უჯრედში გვევლინება ანტიოქსიდანტური სისტემა. წონასწორობის

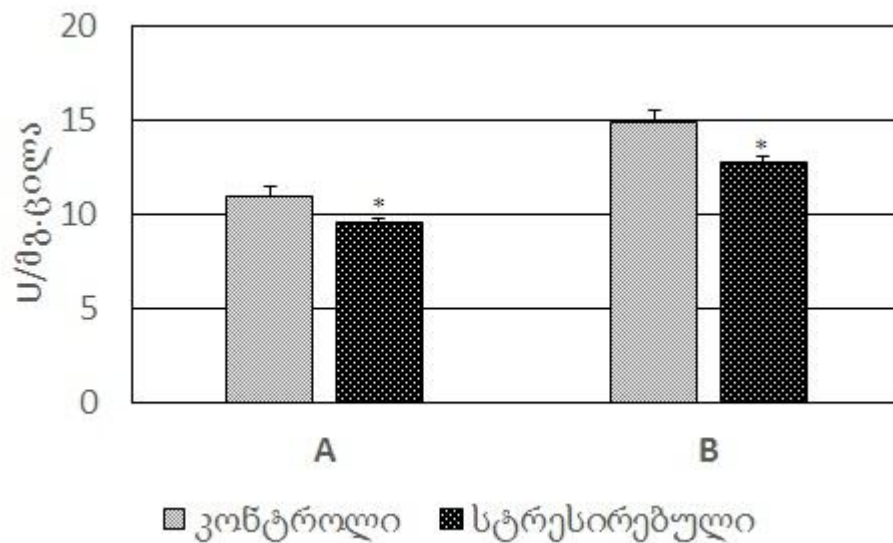
დარღვევა თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნასა და ანტიოქსიდანტურ სისტემის აქტივობას შორის ე.წ. ოქსიდაციური სტრესის მიზეზი ხდება. ცნობილია, რომ სწორედ ოქსიდაციური სტრესია გულისა და სისხლძარღვების დაზიანების ძირითადი მოლეკულური მექანიზმი, რომელსაც მოსდევს ისეთი დაავადებები, როგორცაა გულის ქრონიკული უკმარისობა, ათეროსკლეროზი, ჰიპერლიპიდემია, არტერიული ჰიპერტენზია, კარდიომიოპათია და სხვ. [248].

ცნობილია, რომ ლიპიდები ზეჟანგური ჟანგვის პროდუქტები, ურთიერთქმედებს რა ცილოვან მოლეკულებთან და ნუკლეინის მჟავებთან, იწვევს მოლეკულათა შორისი ბმების წარმოქმნას. ამ გზით ხდება სხვადასხვა რეცეპტორების, იონური არხების, ციტოქრომჩხის ცილების, ფერმენტებისა და ნუკლეინის მჟავების სტრუქტურულული ცვლილებები, რაც უჯრედის ანტიოქსიდანტური სისტემისა და მასში ჩართული ფერმენტების აქტივობასაც ცვლის. უჯრედის ანტიოქსიდანტური სისტემა ეფექტურად რეაგირებს ამ ტიპის ჰომეოსტაზის შენარჩუნებისათვის. ეს სისტემა მრავალ კომპონენტია და მოიცავს მთელ რიგ ნაერთებსა და ფერმენტულ სისტემებს. მათგან აღსანიშნავია ფერმენტი სუპეროქსიდდისმუტაზა (SOD), კატალაზა, გლუტათიონ პეროქსიდაზა და გლუტათიონ რედუქტაზა, რომლებიც აკატალიზებენ ჟანგბადის აქტიური რადიკალების ჩართვას წყლისა და გლუტათიონის მოლეკულებში, რითაც ახდენენ ძლიერი დამჟანგავის, ამ შემთხვევაში, სუპეროქსიდის რადიკალის გაუვნებელყოფას. ამის გათვალისწინებით, შემდგომ შესწავლილი იყო მათი აქტივობის ცვლილების დინამიკა შესაბამისი სტრესის ფონზე [249].

აღნიშნულიდან გამომდინარე, საინტერესო იყო შეგვესწავლა ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის ცვლილებები დღე-ღამური რიტმის დარღვევით და იზოლაციით განპირობებული სტრესის პირობებში, მიღებული მონაცემები წარმოდგენილია სურათზე 10, 11, 12 და 13.

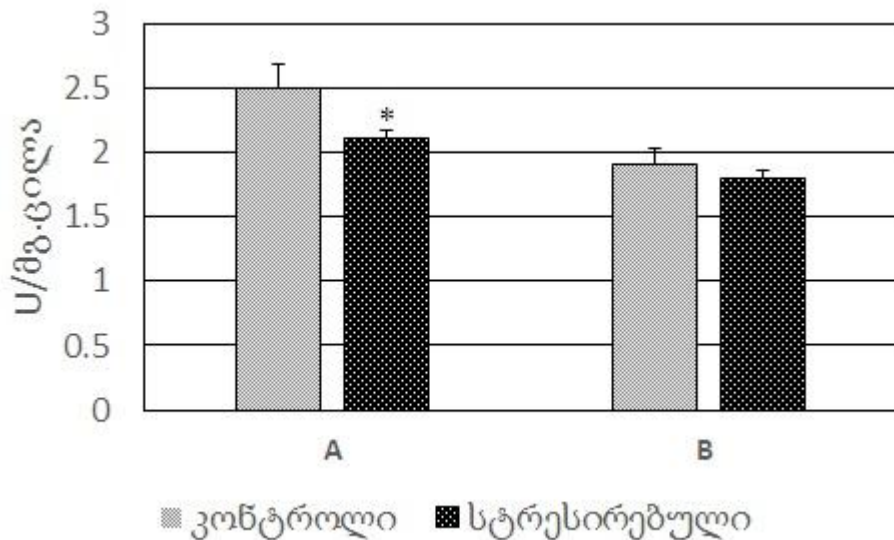


სურათი 10. სუპეროქსიდდისმუტაზასა ფერმენტული აქტივობის ცვლილებები ვირთაგვას გულის კუნთის ქსოვილსა (A) და სისხლის პლაზმაში (B) 30- დღიანი სოციალური იზოლაციისა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში ორდინატა ლერძზე - ფერმენტული აქტივობა (U/მგ ცილა), * $p \leq 0.05$

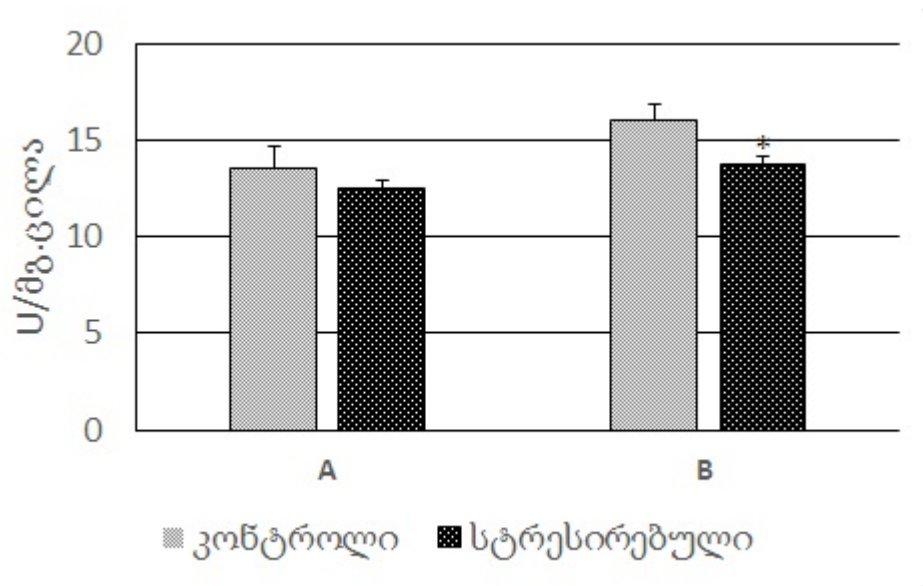


სურათი 11. კატალაზას ფერმენტული აქტივობის ცვლილებები ვირთაგვას გულის კუნთის ქსოვილსა (A) და სისხლის პლაზმაში (B) 30 დღიანი სოციალური იზოლაციისა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში ორდინატა ლერძზე - ფერმენტული აქტივობა (U/მგ ცილა), * $p \leq 0.05$

მიღებული შედეგებიდან ჩანს, რომ საკვლევი ფერმენტების აქტივობა სტრესულ პირობებში შემცირებულია, რასაც სავარაუდოდ უნდა იწვევდეს მათი ანტიოქსიდანტური ფუნქციის დაქვეითებასაც. კერძოდ, სოდ-ის აქტივობა გულის კუნთის ქსოვილსა და სისხლის პლაზმაში $\approx 23\%$ -ით კლებულობს (სურ.10). განსხვავებულად იცვლება კატალაზას აქტივობა. მაგალითად, ფერმენტის აქტივობა გულის კუნთის ქსოვილში 10% -ით არის შემცირებული, სისხლის პლაზმაში ეს მაჩვენებელი 18% -მდე აღწევს (სურ.11). რეც შეეხება გლუტათიონრედუქტაზასა და გლუტათიონპეროქსიდაზას, ამ შემთხვევაშიც შეინიშნება მათი აქტივობის ცვლილება, თუმცა სუპეროქსიდ დისმუტაზასა და კატალაზასგან განსხვავებით, ცვლილებები ნაკლებად არის მნიშვნელოვანი. მაგალითად, გულის კუნთის ქსოვილში გლუტათიონრედუქტაზას აქტივობა სტრესის ფონზე დაქვეითებულია $\approx 16\%$ -ით, იმ დროს, როცა სისხლის პლაზმაში ამ ფერმენტის ცვლილება არ დაფიქსირდა (სურ.12).



სურათი 12. გლუტათიონ რედუქტაზასა ფერმენტული აქტივობის ცვლილებები ვირთაგვას გულის კუნთის ქსოვილსა (A) და სისხლის პლაზმაში (B) 30- დღიანი სოციალური იზოლაციისა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში
*ორდინატთა ღერძზე - ფერმენტული აქტივობა (U/მგ ცილა), * $p \leq 0.05$*



სურათი 13. გლუტათიონ პეროქსიდაზას ფერმენტული აქტივობის ცვლილებები ვირთაგვას გულის კუნთის ქსოვილსა (A) და სისხლის პლაზმაში (B) 30- დღიანი სოციალური იზოლაციისა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში ორდინატა ლერძზე - ფერმენტული აქტივობა (U/მგ ცილა), * $p \leq 0.05$

ანალოგიური კანონზომიერებაა გლუტათიონპეროქსიდაზას შემთხვევაშიც. სტრესის ფონზე ნანახია ფერმენტის აქტივობის სარწმუნო შემცირება მხოლოდ სისხლის პლაზმაში ($\approx 15\%$), იმ დროს, როცა გულის კუნთის ქსოვილში ფერმენტული აქტივობის ცვლილება ვერ იქნა სარწმუნოდ დადასტურებული (სურ.13).

სავარაუდოა, რომ ანტიოქსიდანტური სისტემის ფუნქციონირებაში მონაწილე ფერმენტების აქტივობის შემცირების მიზეზი შესაძლებელია გამოწვეული იყოს ერთის მხრივ, უშუალოდ ანტიოქსიდანტური სისტემის ფერმენტების სტრუქტურული ცვლილებებით, რომლის მიზეზი შესაძლებელია გამხდარიყო როგორც ჭარბი რადიკალების აზოტის ოქსიდი, ისე კალციუმის იონები.

III.4. გულის კუნთის ქსოვილში ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმში მონაწილე ზოგიერთი ფერმენტის აქტივობის ცვლილება იზოლირებითა და დღე-ღამური რიტმის ცვლილებით გამოწვეული ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში

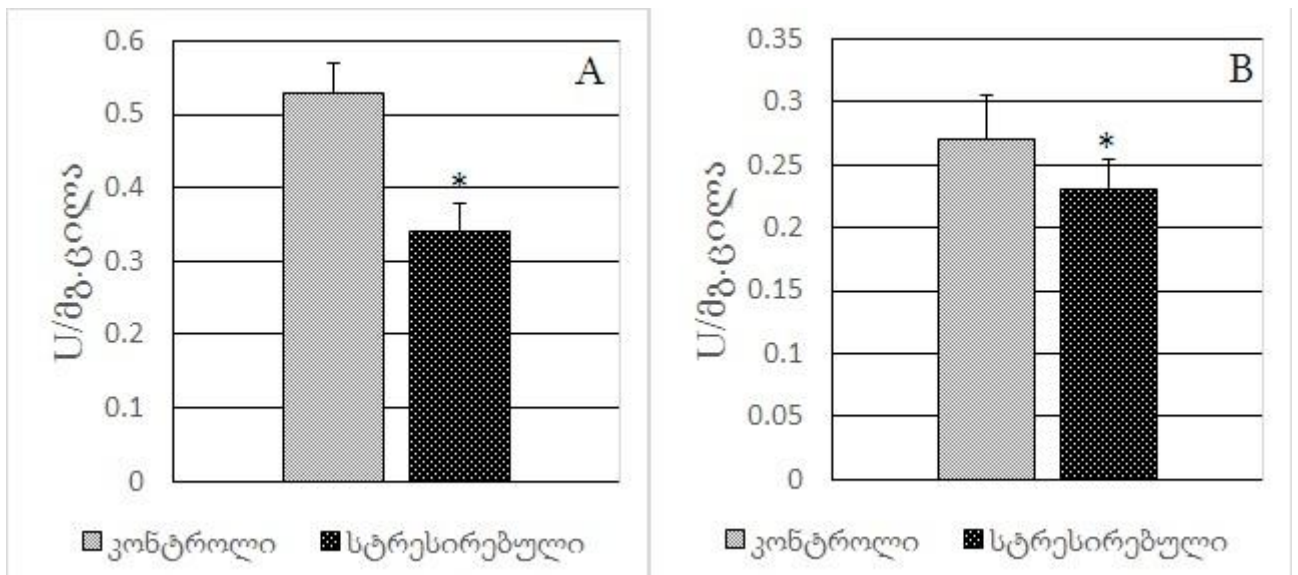
ყველა ცოცხალი უჯრედი, წარმოშობისა და ტიპის მიუხედავად, საჭიროებს ენერგიას სასიცოცხლო ფუნქციების განსახორციელებლად. ადენოზინტრიფოსფატი (ატფ) უჯრედული ენერჯის ძირითად წყაროს წარმოადგენს და მისი შიდაუჯრედული დონის შენარჩუნებას გადამწყვეტი მნიშვნელობა აქვს უამრავი უჯრედული პროცესის მიმდინარეობისთვის. ატფ-ის ჰომეოსტაზის შენარჩუნება განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია ისეთი უჯრედებისთვის, რომლებიც გამუდმებით მაღალ ენერჯიას საჭიროებენ, მაგალითად თავის ტვინისა და კუნთის უჯრედები. ხშირ შემთხვევაში აერობული, მიტოქონდრიალური მეტაბოლიზმის გზით მიღებული ატფ მაღალაქტიური უჯრედების ენერგეტიკულ მოთხოვნას აკმაყოფილებს, მაგრამ ენერჯიის განსაკუთრებულად გაზრდილი მოხმარებისას ან ენერჯიის დაქვეითებული წარმოებისას უჯრედი ვეღარ ასწრებს დახარჯული ატფ-ს ჩანაცვლებას. ასეთ შემთხვევებში ატფ-ს მარაგი იწურება და თუ მისი დროული აღდგენა არ მოხდა, უჯრედი ილუპება. ატფ-ის რაოდენობის მუდმივი შენარჩუნება უჯრედის მეტაბოლიზმის ერთ-ერთი ძალზე მნიშვნელოვანი საკითხია. ატფ-ს მარაგის გამოლევა და უჯრედის ენერგეტიკული დონის დაცემა ხშირად უჯრედის აპოპტოზით ან ნეკროზით მთავრდება [250,251].

ზემოთქმულის გათვალისწინებით, საინტერესო იყო შეგვესწავლა სოციალური იზოლაციისა და ხანგრძლივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევით გამოწვეული სტრესის ფონზე ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ცვლილების ხასიათი.

შესწავლილ ფერმენტებს შორის იყო ლიმონმჟავა ციკლის ფერმენტი აკონიტაზა (სურ.14 A). ცნობილია, რომ აკონიტაზას აქტიური ცენტრი წარმოდგენილია რკინა-გოგირდოვანი კლასტერით, რის გამოც იგი განსაკუთრებით მაღალ მგრძნობელობას ამჟღავნებს ჟანგბადის აქტიური ფორმების მიმართ და იგი შესაძლებელია გამოიყენებული იქნას, როგორც ოქსიდაციური სტრესის სპეციფიკური მარკერი.

როგორც სურათი 13-დან ჩანს, სტრესის 30-ე დღეს გულის კუნთის ქსოვილში მიტოქონდრიებში საკონტროლო ცხოველებთან შედარებით ფერმენტის აქტივობა მნიშვნელოვნადაა შემცირებული და ეს სიდიდე დაახლოებით $\approx 42\%$ -ითაა შემცირებული.

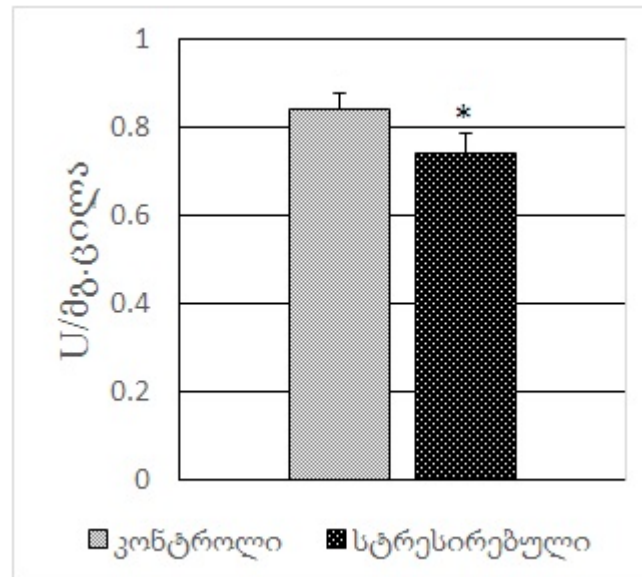
აკონიტაზასგან განსხვავებით, ამავე ციკლის ფერმენტი ფუმარაზა არ ამჟღავნებს მგრძობელობას დამჟანგავი ნივთიერებებისადმი და მისი აქტივობა სტრესის პერიოდში მცირედ კლებულობს (სურ. 14 B.). როგორც ცნობილია, ფუმარაზას მოლეკულისათვის არ არის დამახასიათებელი რკინა-გოგირდოვანი კლასტერების არსებობა და ამდენად, იგი არ ამჟღავნებს მგრძობელობას აქტიური დამჟანგავების მიმართ. თუმცა, გასათვალისწინებელია ის ფაქტიც, რომ ლიმონმჟავა ციკლის მხოლოდ ერთი ფერმენტის აქტივობის ცვლილებაც მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ამ პროცესის მიმდინარეობასა და შესაბამისად, ატფ-ის რაოდენობაზე.



სურათი 14. მიტოქონდრიული აკონიტაზასა (A) და ფუმარაზას (B) აქტივობის ცვლილება ვირთაგვას გულის კუნთის ქსოვილში ხანგრძლივი სოციალური სოციალური იზოლაციისა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში
*ორდინატთა ღერძზე - ფერმენტული აქტივობა (U/ მგ. ცილა), * $P \leq 0.05$*

შემდეგი ფერმენტი, რომელიც იქნა შესწავლილი, სუქცინატდეჰიდროგენაზაა. იგი მნიშვნელოვან როლს თამაშობს როგორც სუნთქვის ჯაჭვის ფუნქციონირების პროცესში, ასევე მიტოქონდრიაში მიმდინარე ლიმონმჟავა ციკლში და ნებისმიერი სახის დეფიციტი

ამ ფერმენტისა განიხილება, როგორც სიცოცხლესთან შეუთავსებელი (სურ. 15). აღმოჩნდა, რომ ცხოველების 30-დღიანი იზოლირება ფერმენტულ აქტივობას დაახლოებით 13%-ით ამცირებს, რაც მიუთითებს მიტოქონდრიაში მიმდინარე ჟანგვითი ფოსფორილირების და შესაბამისად ატფ-ის გენერაციის შემცირებასა და ოქსიდაციური სტრესის გაძლიერებაზე.

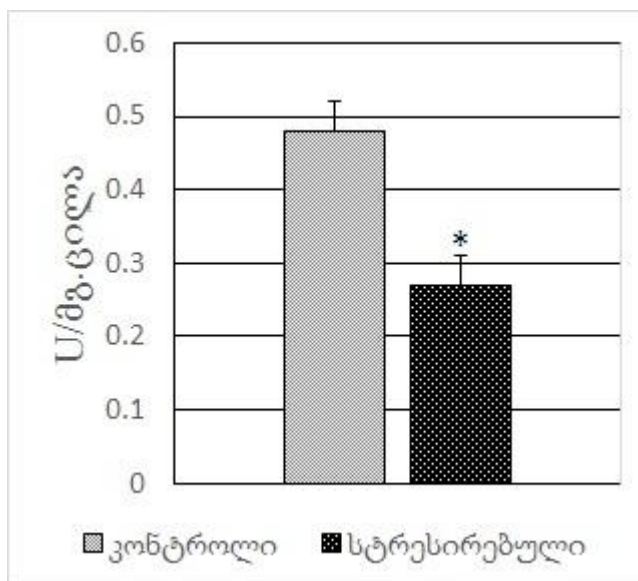


სურათი 15. სუქცინატდეჰიდროგენაზას ფერმენტული აქტივობის ცვლილება გულის კუნთის ქსოვილში სოციალური იზოლაციისა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში

*ორდინატთა ღერძზე - ფერმენტული აქტივობა (U/მგ. ცილა), * $p \leq 0.05$*

ცნობილია, რომ გულის კუნთში მაღალი აქტივობით გამოირჩევა გლიკოლიზის პროცესი, რომელიც ენერჯის ერთ-ერთ ძირითად წყაროს წარმოადგენს. იმის გასარკვევად, თუ როგორ ფუნქციონირებს ასეთ პირობებში გულის კუნთის ქსოვილში ნახშირწყლების ანაერობული გარდაქმნა, შესწავლილი იქნა გლიკოლიზის ფერმენტის - ალდოლაზას აქტივობა. მიღებული მონაცემი წარმოდგენილია სურათზე 16. როგორც ვხედავთ, შესწავლილი სტრესის პირობებში ალდოლაზას აქტივობა საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით სარწმუნოდაა შემცირებული 40%. ზოგადად ცნობილია, რომ ჟანგვითი ფოსფორილირების ინტენსივობის მაკომპენსირებელ მექანიზმად ითვლება ანაერობული პროცესის, კერძოდ გლიკოლიზის ინტენსივობის გაძლიერება.

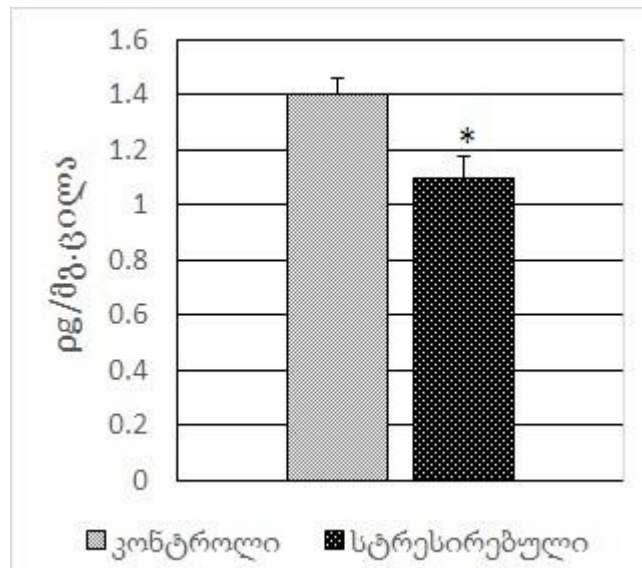
თუმცა ჩვენს შემთხვევაში ვერ იქნა ეს პროცესი ნანახი, რაც მიუთითებს ზოგადად, როგორც აერობული, ისე ანაერობული პროცესების დაქვეითების ფონზე ენერგეტიკული დისბალანსის განვითარებას და ატფ-ის რაოდენობრივ შემცირებას (სურ.17).



სურათი 16. ალდოლაზას აქტივობის ცვლილება გულის კუნთის ქსოვილში 30-დღიანი სოციალური იზოლაციისა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში

*ორდინატთა ღერძზე - ალდოლაზას ფერმენტული აქტივობა (U/მგცილა), * $p \leq 0.05$*

მართლაც, ატფ-ის რაოდენობრივი შემცველობის განსაზღვრამ გულის კუნთის ქსოვილში ნათლად აჩვენა, რომ ამ უკანასკნელის რაოდენობა სოციალური იზოლაციისა და დღე-ღამური რიტმის დარღვევით გამოწვეული სტრესის შედეგად სარწმუნოდაა შემცირებული დაახლოებით 22%-ით (სურ. 16) .



სურათი 17. ატფ-ის რაოდენობრივი ცვლილებები გულის კუნთის ქსოვილში სოციალური იზოლაციითა და დღე-ღამური რიტმის დარღვევით გამოწვეული სტრესის პირობებში
*ორდინატა ღერძზე - ატფ-ის შემცველობა გულის კუნთის ქსოვილში (pg/mg-ცილა),
 * $p < 0.05$*

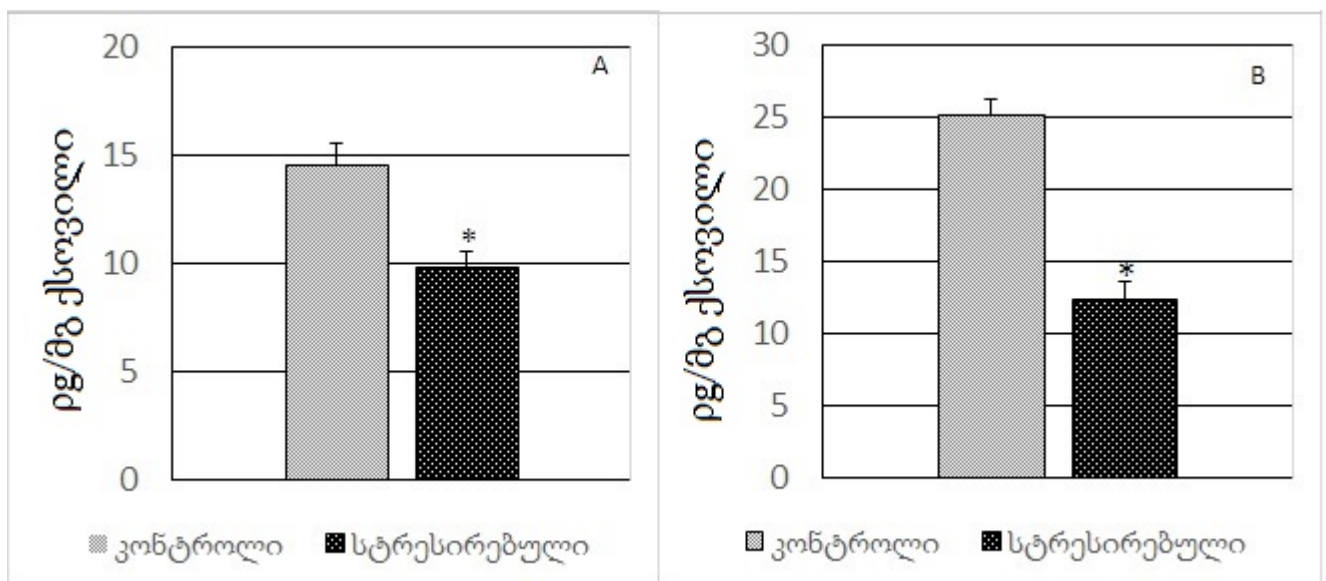
ამრიგად, მიღებული შედეგებიდან იკვეთება, რომ ცხოველების იზოლირება და დღე-ღამური რიტმის დარღვევა წარმოადგენს ფაქტორს, რომელიც იწვევს გულის კუნთში ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის დაქვეითებას. სტრესის გახანგრძლივებამ უჯრედულ დონეზე შესაძლებელია შეუქცევადი პროცესები გამოიწვიოს, რასაც თან მოჰყვება გულ-სისხლძარღვთა სისტემის რიგი პათოლოგიების ჩამოყალიბება.

III.5. კრეატინის რაოდენობრივი ცვლილებები ხანგრძლივი ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში

ცნობილია, რომ ზემოთ აღნიშნული ენერგეტიკული მეტაბოლური გზები და მათ მიერ სინთეზირებული ატფ-ის რაოდენობა არ არის საკმარისი ჭარბი და ცვალებადი ენერჯის მომხმარებელი ქსოვილების (ჩონჩხისა და გულის კუნთი, ნერვული სისტემა) ენერგოსტაბილურობისათვის. უჯრედის ფუნქციონირების მნიშვნელოვან მეტაბოლურ რეგულატორად კი დღესდღეობით კრეატინი/კრეატინკინაზა/ფოსფოკრეატინული (Cr/CK/PCr) სისტემაა მიჩნეულია, რომლის მოშლა მთელი რიგი პათოლოგიის

განვითარების მიზეზი შეიძლება გახდეს. ამ სისტემის ეფექტური მუშაობა ფერმენტ კრეატინფოსფოკინაზას მოქმედებაზეა დამოკიდებული და ხორციელდება კრეატინსა და ფოსფოკრეატინს შორის მიმდინარე ტრანსფოსფორირების საშუალებით. ასევე გასათვალისწინებელია ფერმენტის სუბსტრატების (Cr და PCr) შემცველობაც [252].

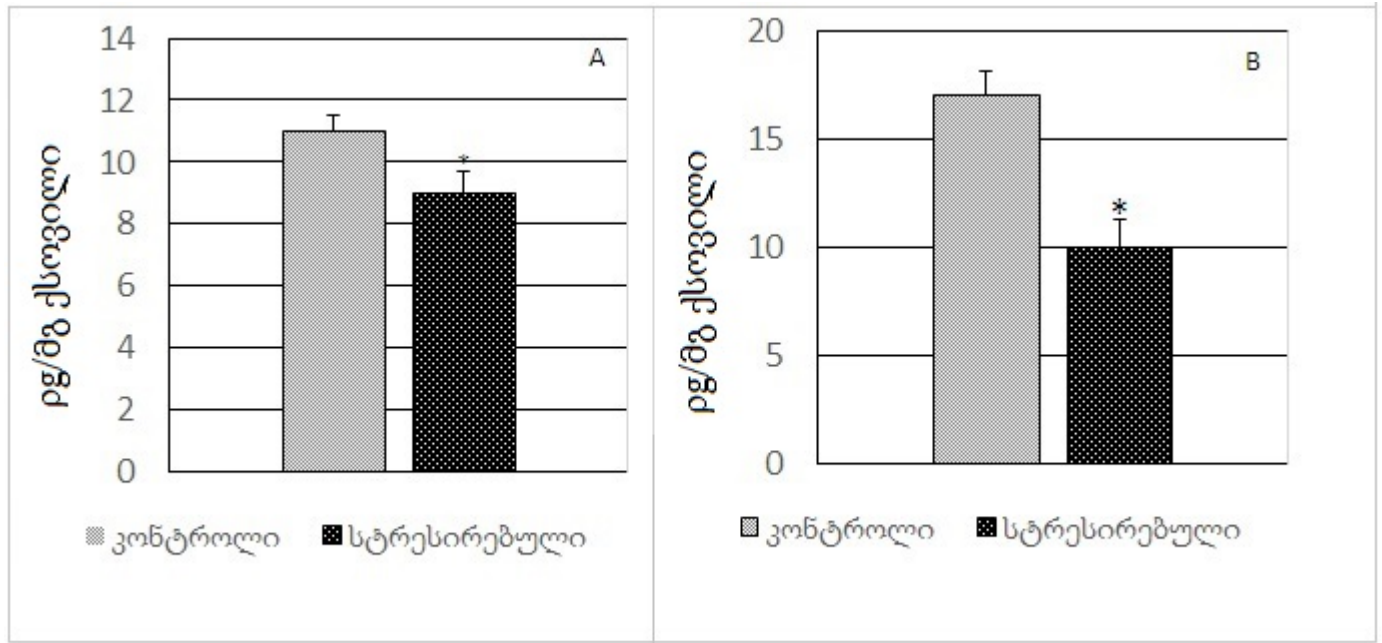
აღნიშნულიდან გამომდინარე, ექსპერიმენტების შემდეგ სერიაში შესწავლილი იქნა კრეატინისა და ფოსფოკრეატინის რაოდენობრივი შემცველობა გულის კუნთის ქსოვილსა და სისხლის პლაზმაში. მიღებული მონაცემები წარმოდგენილია სურათზე 18 და 19.



სურათი 18. კრეატინის რაოდენობრივი შემცველობა ვირთაგვას გულის კუნთის ქსოვილსა (A) და სისხლის პლაზმაში (B) სოციალური იზოლაციისა და ცირკადული რიტმის დარღვევის პირობებში

*ორდინატთა ღერძზე - კრეატინის შემცველობა (pg/mg ქსოვილი) * p<0.05*

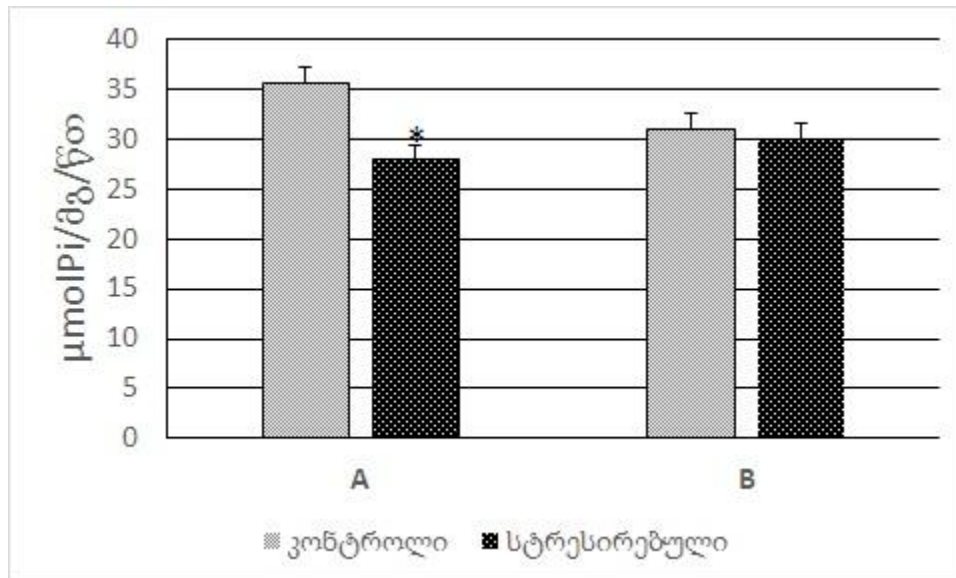
როგორც წარმოდგენილი მონაცემებიდან იკვეთება, სტრესის პირობებში სარწმუნოდაა დაქვეითებული როგორც კრეატინის, ასევე ფოსფოკრეატინის რაოდენობა. კერძოდ, კრეატინის კლება გულის კუნთის ქსოვილში შეადგენს დაახლოებით 33%-ს, ხოლო სისხლის პლაზმაში ეს მაჩვენებელი 56%-მდე მცირდება. ანალოგიურადაა დაქვეითებული ფოსფოკრეატინის შემცველობაც - გულის კუნთის ქსოვილში ფოსფოკრეატინი შემცირებულია დაახლოებით 12%-ით, იმ დროს, როცა ეს მაჩვენებელი სისხლში 52%-ს აღწევს.



სურათი 19. ფოსფოკრეატინის რაოდენობრივი შემცველობა ვირთაგვას გულის კუნთის ქსოვილსა (A) და სისხლში (B) სოციალური იზოლაციისა და ცირკადული რიტმის დარღვევის პირობებში

*ორდინატთა ლერძზე - კრეატინის შემცველობა (pg/mg ქსოვილი) * $p \leq 0.05$*

როგორც აღინიშნა, Cr/CK/PCr სისტემის ნორმალურ ფუნქციონირებაზე ფერმენტი კრეატინკინაზა განსაკუთრებულ გავლენას ახდენს. აქედან გამომდინარე, საინტერესო იყო შეგვესწავლა CK-MB-ს (კრეატინკინაზას იზოფორმა, რომელიც გულის კუნთშია წარმოდგენილი) აქტივობის ცვლილება სოციალური იზოლაციითა და ბუნებრივი ცირკადული რიტმის დარღვევით გამოწვეული სტრესის ფონზე გულის კუნთის ქსოვილსა და სისხლის პლაზმაში. მიღებული მონაცემებიდან იკვეთება ფერმენტის აქტივობის დაქვეითება გულის კუნთის ქსოვილში (24%). თუმცა უნდა აღინიშნოს, რომ სისხლის პლაზმაში არსებული საერთო კრეატინკინაზას აქტივობის სარწმუნო ცვლილება არ დაფიქსირდა (სურ.20).

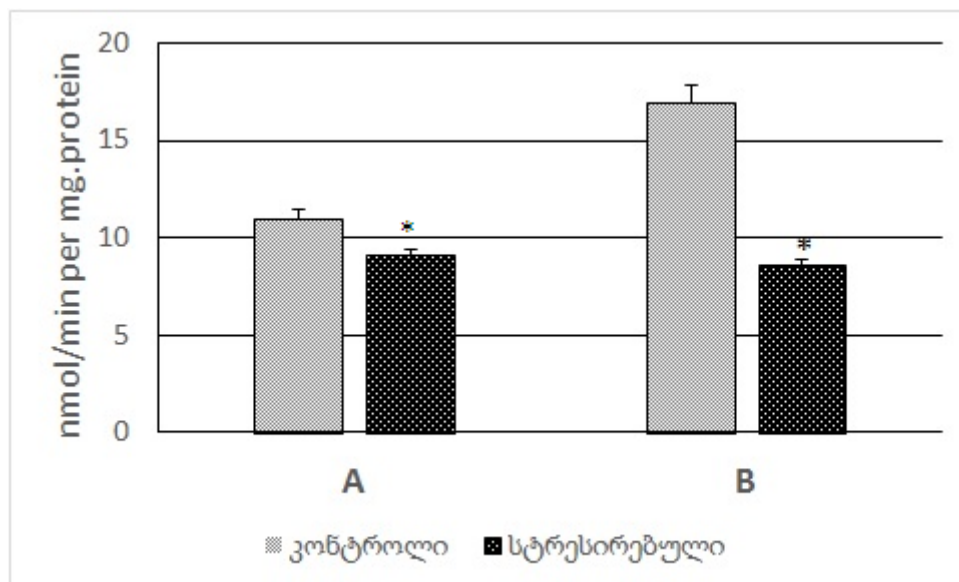


სურათი 20. კრეატინკინაზას აქტივობის ცვლილება ვირთაგვას გულის კუნთის ქსოვილსა (A) და სისხლის პლაზმაში (B) სოციალური იზოლაციისა და ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში
*ორდინატთა ღერძზე - ფერმენტული აქტივობა ($\mu\text{molPi/mg/წთ}$); * $p \leq 0.05$*

ამრიგად, ექსპერიმენტული მონაცემებიდან იკვეთება, რომ სოციალური იზოლაცია ბუნებრივი ცირკადული რიტმის დარღვევის ფონზე, ამცირებს გულის კუნთის ქსოვილსა და სისხლში როგორც კრეატინის, ასევე ფოსფოკრეატინის რაოდენობრივ მაჩვენებელს, გარდა ამისა დაქვეითებულია მათი გარდამქმნელი ფერმენტის კრეატინკინაზას აქტივობაც. მიღებული მონაცემებიდან გამომდინარე, საინტერესო იყო დაგვედგინა კრეატინის რაოდენობრივი კლების მიზეზი. ამისათვის საჭირო გახდა კრეატინის მასინთეზირებელი ფერმენტების აქტივობის ცვლილების შესწავლა.

ცნობილია, რომ კრეატინი სინთეზირდება ამინომჟავა არგინინიდან და ეს პროცესი წარმოადგენს ორსაფეხურიან რეაქციას, რომელიც კატალიზირდება ორი ფერმენტით. ესენია *არგინინ-გლიცინ ამილინოტრანსფერაზას* (AGAT) და *გუანიდინო-აცეტატ მეთილტრანსფერაზა* (GAMT). ამ ფერმენტების მონაწილეობით კრეატინის სინთეზი იწყება თირკმელში, გრძელდება ღვიძლში, რის შემდგომაც სპეციალური მემბრანული ტრანსპორტერით (CRTR) გადაიტანება სისხლში და ნაწილდება მთლიან ორგანიზმში (თავის ტვინის გარდა). ამის გათვალისწინებით, განსაზღვრული იყო

ვითარდება თირკმელსა და ღვიძლში ამ ფერმენტების აქტივობა. მიღებული მონაცემები წარმოდგენილია სურათზე 21.

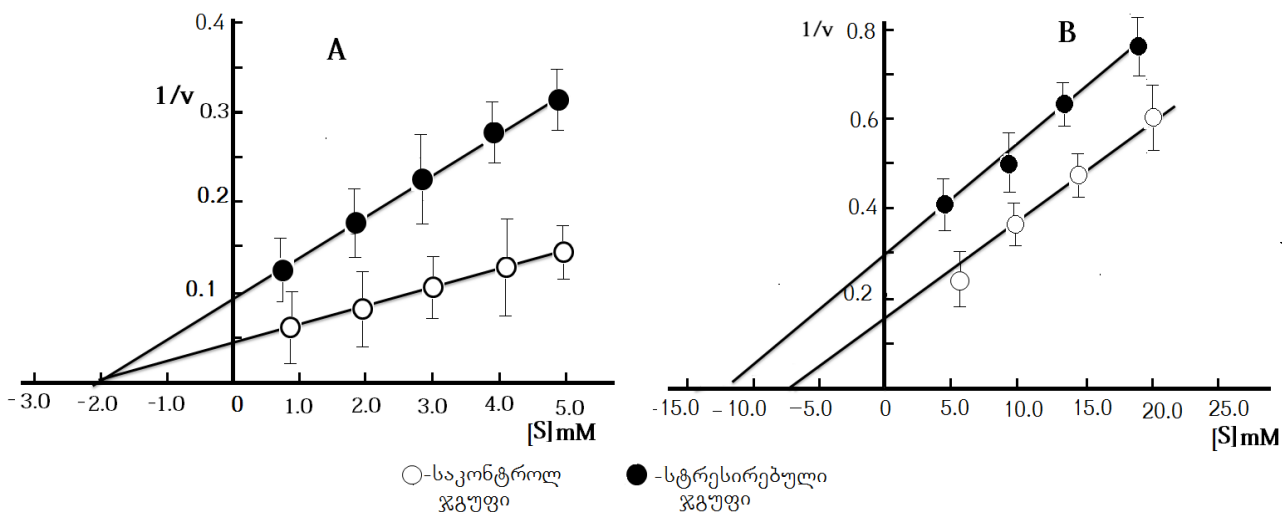


სურათი 21. AGAT-ისა (A) და GAMT (B)-ის აქტივობის ცვლილება ვითარდება ვითარდება ღვიძლისა და თირკმლის უჯრედებში სოციალური იზოლაციისა და ცირკადული რიტმის დარღვევის ფონზე
ორდინატა ღერძზე -ფერმენტული აქტივობის სიდიდე (nmol/min per mg protein); $p < 0.05$;*

როგორც სურათიდან ჩანს, ფსიქო-ემოციური სტრესის ფონზე ადგილი აქვს ექსპერიმენტული ცხოველის თირკმლისა და ღვიძლის ქსოვილში კრეატინის მასინთეზირებელი ფერმენტების AGAT- ისა და GAMT -ის აქტივობის სარწმუნო შემცირებას (სურ. 21 A, B). AGAT-ის აქტივობა სტრესირებული ცხოველების თირკმლის ქსოვილში დაახლოებით 32%-ით კლებულობს, ხოლო ღვიძლის ქსოვილში GAMT-ის აქტივობა 2-ჯერაა შემცირებული. ამ ფერმენტების აქტივობის შემცირების მიზეზად ლიტერატურულ წყაროებში სხვადასხვა პროცესი სახელდება, თუმცა ყველა მათგანში აღნიშნულია, რომ აქტივობის დაქვეითების ერთერთ მიზეზს აზოტის ოქსიდის (NO) რაოდენობრივი მატება წარმოადგენს, რაც უარყოფითად აისახება ამ პროცესზე [253,254].

მიღებული შედეგის გათვალისწინებით, საინტერესოს წარმოადგენდა შეგვესწავლა აღნიშნული ფერმენტების კინეტიკური პარამეტრების სიდიდეების, კერძოდ რეაქციის მაქსიმალური სიჩქარისა და მიხაელის-მენტენის კოეფიციენტის (V_{max} ,

Km) ცვლილების ხასიათი ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში. მიღებული შედეგები წარმოდგენილია სურათზე 22.



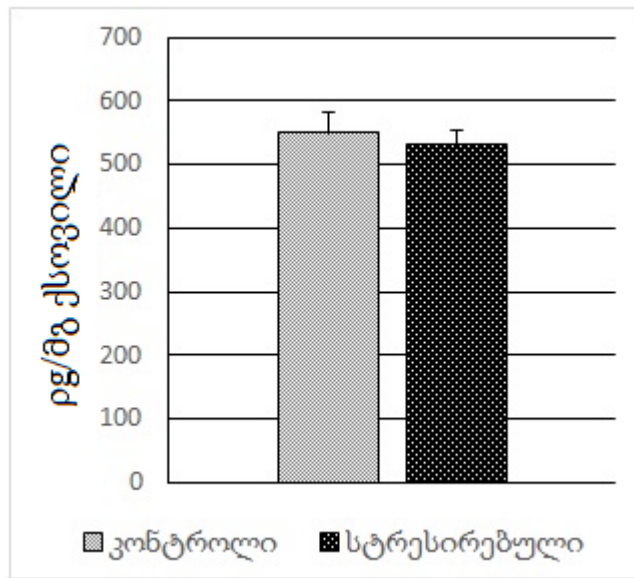
სურათი 22. კრეტინის მასინთეზირებელი ფერმენტების AGAT-ის (A) და GAMT-ის (B) კინეტიკური პარამეტრების ცვლილება სოციალური იზოლაციით გამოწვეული ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში

სურათიდან ჩანს, რომ სინთეზური რეაქციის პირველი ფერმენტის AGAT-ის აქტივობის დაქვეითების სავარაუდო მიზეზი იყოს ფერმენტის მოლეკულის სტრუქტურული ცვლილება, რომელიც განპირობებულია ფსიქო-ემოციური სტრესის ფონზე განვითარებული სხვადასხვა პროცესებით, მათ შორის სახელდება როგორც NO- ს რაოდენობრივი მატება, ასევე გლუკოკორტიკოიდული ჰორმონების რაოდენობრივი ცვლილებები, კერძოდ ამ ჰორმონების შემცირება [255]. როგორც სურათი A-დან ჩანს, ფერმენტული აქტივობის შემცირება მიმდინარეობს ფერმენტის სუბსტრატისადმი (არგინინის) თვისობის შეუცვლელად, რის შედეგადაც ადგილი აქვს ფერმენტული რეაქციის პროდუქტის გუანიდინოაცეტატის (GAA) შემცირებას.

რაც შეეხება GAMT-ს, ცნობილია, რომ იგი აკატალიზირებს მეთილის ჯგუფის ტრანსფერულ რეაქციას GAA-სა და S-ადენოზილმეთიონინს (SAM) შორის. ამდენად, სუბსტრატებიდან ერთერთის, ამ შემთხვევაში GAA-ის შემცირება აუცილებლად აისახება ფერმენტის კინეტიკური პარამეტრების სიდიდეებზე. მართლაც, როგორც სურათი B-ზე წარმოდგენილი მონაცემები აჩვენებს, GAMT-ის აქტივობის დაქვეითება მიმდინარეობს როგორც V_{max} -ის, ასევე K_m -სიდიდის ცვლილების პირობებში, კერძოდ

Km-მაჩვენებლის შემცირება, რაც მიუთითებს ფერმენტის მოლეკულის თვისობის გაზრდას სუბსტრატისადმი (GAA), რაც ნიშნავს რეაქციის მიმდინარეობას ფერმენტის სუბსტრატის შემცირებული რაოდენობის პირობებში.

ფერმენტების აქტივობის შესწავლის პარალელურად, ექსპერიმენტული ცხოველები გულის კუნთის ქსოვილში განსაზღვრული იქნა ასევე კრეატინის ტრანსპორტერის რაოდენობაც (CrT). თუმცა სარწმუნო განსხვავება ტრანსპორტერის რაოდენობებს შორის არ დაფიქსირდა (სურ. 23).



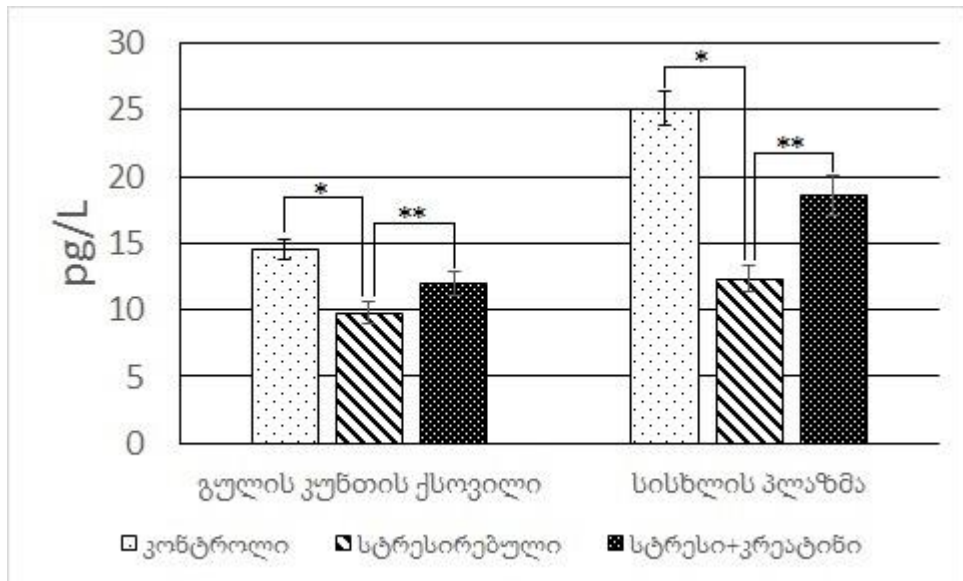
სურათი 23. კრეატინის ტრანსპორტერის (CrT) რაოდენობრივი ცვლილება ვირთაგვას გულის კუნთის ქსოვილში სოციალური იზოლაციისა და ცირკადული რიტმის დარღვევის ფონზე
ორდინატთა ღერძზე - კრეატინის ტრანსპორტერის რაოდენობა (pg/mg ქსოვილი)

ამდენად, თუ გავითვალისწინებთ ჩვენს წინა მონაცემებს ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში აზოტის ჟანგის რაოდენობრივი მატების შესახებ და ასევე მის გავლენას კრეატინის მასინთეზირებელი ფერმენტების აქტივობაზე, სავარაუდოა, რომ ორგანიზმში კრეატინის რაოდენობრივი შემცირების მიზეზი იზოლირებითა და დღე-ღამური რიტმის დარღვევით გამოწვეული ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში, სწორედ ეს ფაქტორი გამხდარიყო.

III.6. ეგზოგენურად შეყვანილი კრეატინის გავლენა გულის კუნთის ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმსა და სისხლის ლიპიდურ სპექტრზე

იქიდან გამომდინარე, რომ ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში აღინიშნა გულის კუნთის ქსოვილში ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის დაქვეითება, რომელიც მიმდინარეობს კრეატინის რაოდენობრივი შემცირების ფონზე, ჩვენს მიერ ჩატარებული იქნა ექსპერიმენტები, სადაც შეისწავლებოდა კრეატინის პრევენციული ეფექტი ამ პროცესზე. ამისათვის ექსპერიმენტულ ცხოველების ორგანიზმში ხანგრძლივი დროის მანძილზე (30 დღე) ინტრაპერიტონიალურად შეგვყავდ კრეატინი, რის შემდეგაც ვსწავლობდით გულის კუნთის ქსოვილში როგორც მის შემცველობას, ასევე მეტაბოლიზმში მონაწილე ფერმენტების აქტივობას.

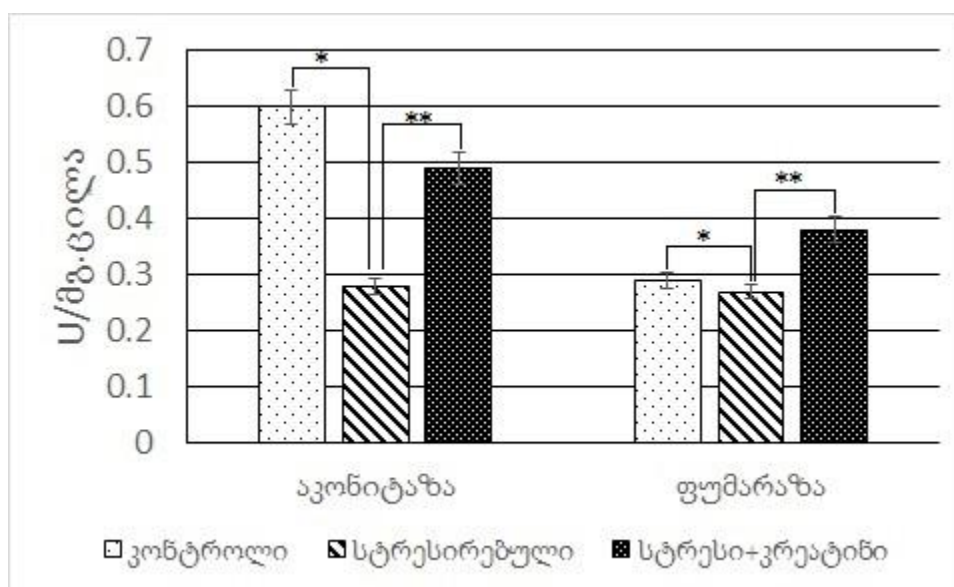
როგორც ექსპერიმენტებმა აჩვენა, კრეატინის 30-დღიანი ინტრაპერიტონეალური შეყვანა ექსპერიმენტულ ცხოველებში იწვევდა მისი საერთო რაოდენობის მნიშვნელოვან მატებას როგორც გულის კუნთში, ასევე სისხლში (სურათი 24).



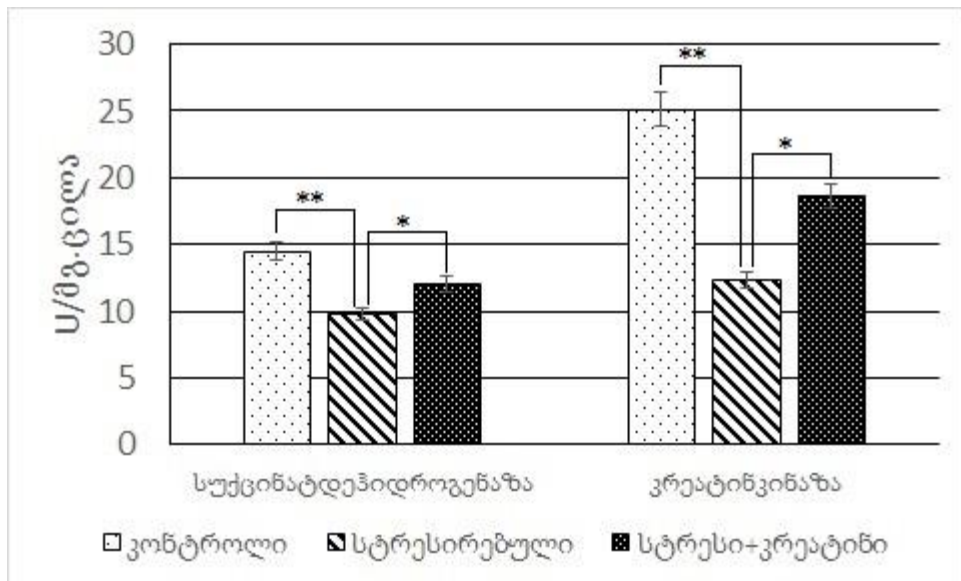
სურათი 24. კრეატინის რაოდენობრივი მაჩვენებელი გულის კუნთის ქსოვილსა და სისხლის პლაზმაში მისი ხანგრძლივი დროით ეგზოგენურად შეყვანის ფონზე ორდინატთა ღერძზე - კრეატინის რაოდენობრივი მაჩვენებელი (pg/L); * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$

ანალოგიურად იქნა განსაზღვრული გულის კუნთის ქსოვილში ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ის ფერმენტები, რომელთა აქტივობის დაქვეითება ნანახი იქნა ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში. თუმცა უნდა აღინიშნოს, რომ კრეატინის ინტრაპერიტონეალურმა მიწოდებამ დადებითი გავლენა იქონია აღნიშნული ფერმენტების აქტივობაზე (სურათი 25 და 26).

ამრიგად, როგორც წარმოდგენილი მონაცემები აჩვენებენ, კრეატინის ხანგრძლივი დროით ინტრაპერიტონეალური შეყვანა მაღლა სწევს მის შემცველობას როგორც გულის კუნთის ქსოვილში, ასევე ზრდის ამ უჯრედების ენერგეტიკულ შესაძლებლობებს.



სურათი 25. გულის კუნთის ქსოვილში მიმდინარე ენერგეტიკული მეტაბოლიზმში მონაწილე ფერმენტების (აკონიტაზა და ფუმარაზა) აქტივობის მაჩვენებელი კრეატინის ხანგრძლივი დროით ეგზოგენურად შეყვანის ფონზე ორდინატთა ღერძზე - კრეატინის რაოდენობრივი მაჩვენებელი (U/მგ.ცილა); * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$



სურათი 26. თეთრი ვირთაგვას გულის კუნთის ქსოვილში მიმდინარე ენერგეტიკული მეტაბოლიზმში მონაწილე ფერმენტების (სუქცინატდეჰიდროგენაზასა და აკონიტაზას) აქტივობის მაჩვენებელი კრეატინის ხანგრძლივი დროით ეგზოგენურად შეყვანის ფონზე

*ორდინატთა ლერძზე - კრეატინის რაოდენობრივი მაჩვენებელი (U/მგ-ცილა); * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$*

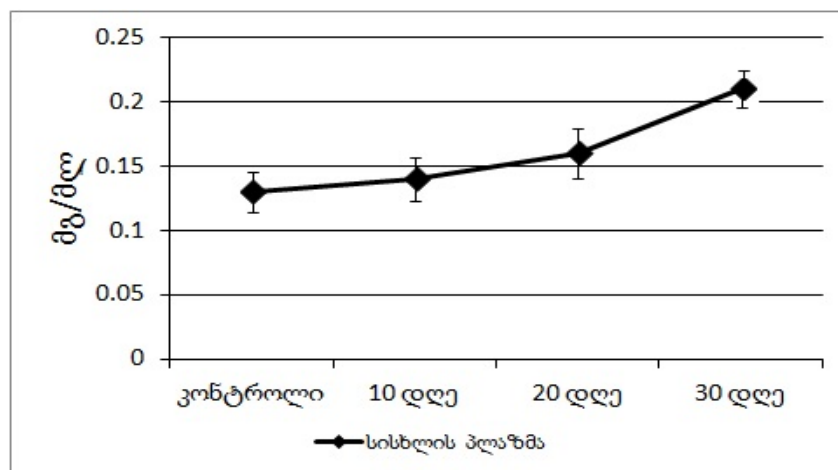
ცნობილია, რომ კრეატინი ხშირად გამოიყენება როგორც საკვები დანამატი განსაკუთრებით იმ პირების მიერ, რომლებსაც დიდი ფიზიკური დატვირთვა აქვთ და საჭიროებენ ენერჯის დიდი რაოდენობით მოხმარებას, გასაკუთრებით სპორტსმენების მიერ. მიუხედავად იმისა, რომ კრეატინი წარმოადგენს ბუნებრივ საკვებ დანამატს, მის მიღებას გარკვეული სპეციფიკა გააჩნია. მხედველობაშია მისაღები ის ფაქტი, რომ კრეატინი წარმოადგენს ამინომჟავას, რომელსაც ყველა ის თვისება გააჩნია, რაც დამახასიათებელია მჟავებისათვის, კერძოდ, მისი ხანგრძლივი მიღება იწვევს კუჭის ლორწოვანი გარსის გაღიზიანებას და იმ პირებისათვის, ვინც დაავადებულები არიან ასევე ქრონიკული გასტრიტით და წყლულოვანი დაავადებებით, კრეატინის მიღება აკრძალულია. იგი ასევე მიუღებელია იმ პაციენტებისათვის, რომლებიც უჩივიან თირკმლის დაავადებებს, დიაბეტს და სხვა ქრონიკულ პათოლოგიებს [256].

კრეატინის ხანგრძლივი მიღება ხდება ჰიპერტენზიის მიზეზიც (ვინაიდან იწყება ორგანიზმის გაჯერება წყლით, რაც დამატებითი დატვირთვაა გულისათვის), ასევე ხშირ შემთხვევაში აღინიშნება კუნთების კრუნჩხვები, რისი მიზეზიც ხდება ორგანიზმში არსებული ჭარბი წყლით კალიუმის იონის ორგანიზმიდან გამოდევნა/

ლიტარატურიდან ასევე ცნობილია, რომ კრეატინის ხანგრძლივი დროით მიღება მაღალა სწევს ორგანიზმის აგრესიულობის ხარისხსაც [257].

მიუხედავად ეგზოგენური კრეატინის ეფექტების საკმაოდ ფართო შესწავლისა უჯრედში მიმდინარე მეტაბოლურ პროცესებზე და მისი პრევენციული როლის დადგენისა, ნაკლებადაა გამორკვეული კრეატინის ხანგრძლივი დროით მიღების მნიშვნელობა სისხლის ლიპიდურ შემცველობაზე, თითქმის არ არის ცნობილი, თუ რამდენად და როგორი მიმართულებით ცვლის ეს დანამატი სისხლის ლიპიდურ სპექტრს და რა სახის პათოლოგია შეიძლება განვითარდეს ორგანიზმში.

ზემოთთქმულიდან გამომდინარე, ცდების შემდგომ ეტაპზე შესწავლილი იქნა იზოლირებისა და ცირკადული რიტმის დარღვევის პირობებში სისხლში საერთო ლიპიდების რაოდენობრივი შემცველობის დინამიკა სტრესის განვითარების სხვადასხვა ეტაპზე. მიღებული შედეგები წარმოდგენილია სურათი 27.



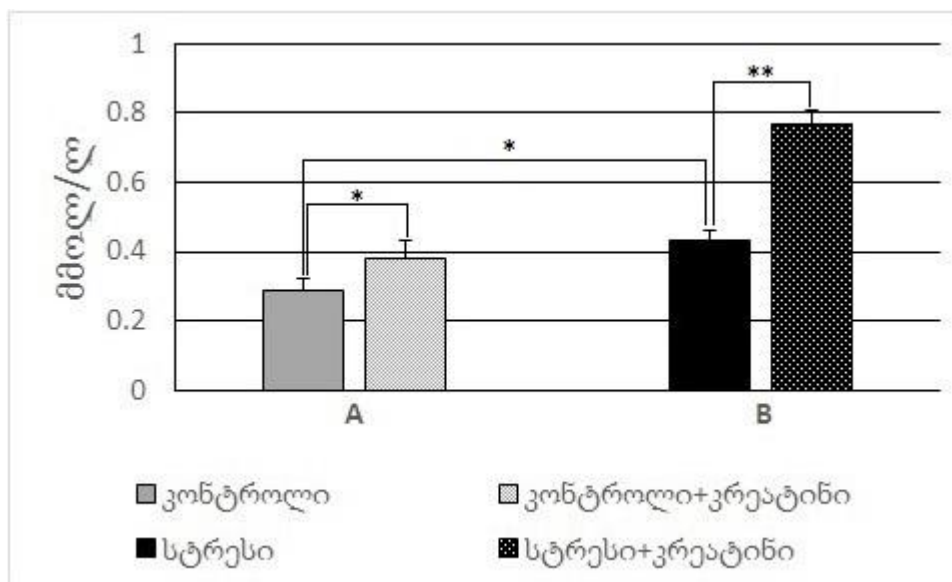
სურათი 27. სისხლის პლაზმაში საერთო ლიპიდების რაოდენობრივი ცვლილებების (მგ/მლ) დინამიკა იზოლირებითა და ცირკადული რიტმის დარღვევით გამოწვეული ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში

როგორც მონაცემები მიუთითებენ, სტრესის განვითარების პარალელურად, სისხლში ადგილი აქვს საერთო ლიპიდების რაოდენობის მატებას. მაგალითად, სტრესის 30-ე დღეს ლიპიდების შემცველობა საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით 2-ჯერაა მომატებული.

როგორც ცნობილია, დიაგნოსტიკური მნიშვნელობა ძირითადად ლიპიდების ორ წარმომადგენელს გააჩნია. ესენია ქოლესტერინი და ტრიგლიცერიდები. ამის გათვალისწინებით, შემდგომში შესწავლილი იქნა სწორედ ლიპიდური სპექტრის ამ ორი წარმომადგენლის რაოდენობრივი ცვლილებები კრეატინის ხანგრძლივი მიწოდების ფონზე.

ცნობილია, რომ ქოლესტერინი გარკვეული რაოდენობით აუცილებელია ორგანიზმისათვის იქიდან გამომდინარე, რომ იგი ლიპიდური ცვლის ერთერთი ძირითადი კომპონენტია. ამავე დროს, მისგან სინთეზირდება ნაღვლის მჟავები, სტეროიდული ჰორმონები, ვიტამინები და ა.შ. იგი ასევე გამაოიყენება უჯრედების მიერ როგორც მემბრანის საშენი მასალა და სხვ. ზოგადად, საერთო ქოლესტერინის მომატებული დონე მიუთითებს ცხიმოვანი ცვლის მოშლაზე. ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები წარმოდგენილია სურათზე 28.

როგორც სურათი 28A-დან ჩანს, საკონტროლო ცხოველებში ლიპიდების საერთო რაოდენობის პარალელურად, გაზრდილია ასევე ქოლესტერინის შემცველობაც. თავის მხრივ, კრეატინის ხანგრძლივი დროით მიღება დაახლოებით 35%-ით ზრდის სისხლში საერთო ქოლესტერინის შემცველობას საკონტროლო ცხოველებში. ანალოგიური სურათია სტრესირებული ვირთაგვების შემთხვევაშიც (სურ. 28B). თუმცა აღმოჩნდა, რომ ქოლესტერინის მატება პროცენტულად უფრო მაღალია სტრესირებული ცხოველების შემთხვევაში და შეადგენს დაახლოებით 73%-ს. ზოგადად, ამგვარი ცვლილება სისხლში მიგვანიშნებს ორგანიზმში დისლიპიდემიის განვითარებაზე.

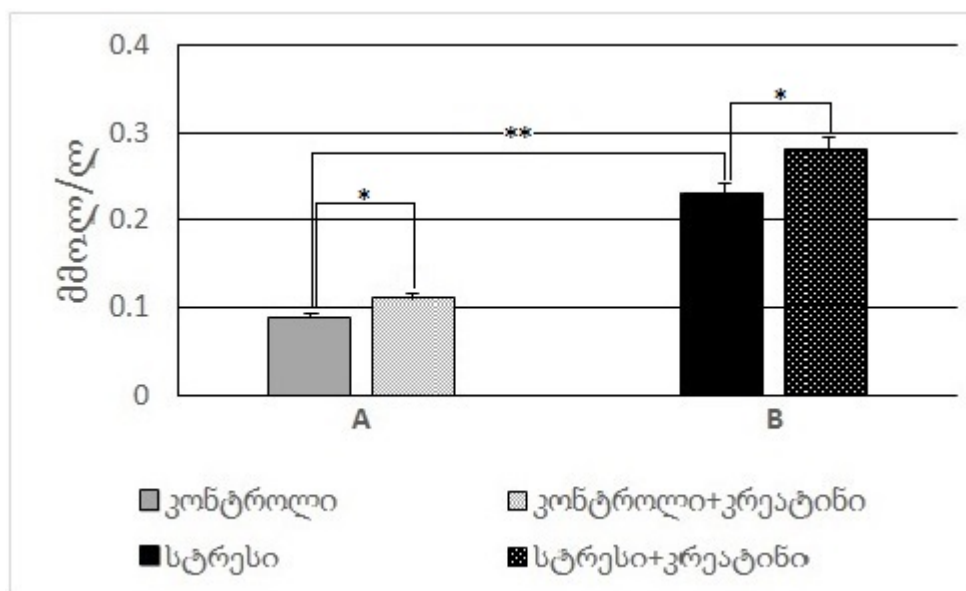


სურათი 28. ქოლესტერინის რაოდენობრივი შემცველობა საკონტროლო (A) და სტრესირებული (B) ვირთაგვების სისხლის პლაზმაში კრეატინის ხანგრძლივი მიწოდების პირობებში

*ორდინატა ღერძზე - ქოლესტერინის შემცველობა (მმოლი/ლ); * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$*

ტრიგლიცერიდები, იგივე ტრიაცილგლიცეროლები, ქოლესტერინთან ერთად მიეკუთვნება ლიპიდების კლასს. მისი ძირითადი დანიშნულებაა უჯრედის მომარაგება ენერგიითა და თავისუფალი ცხიმოვანი მჟავებით, რომლებიც ლიპოლიზის ხარჯზე გამოთავისუფლდება. ქოლესტერინის ანალოგიურად, ტრიგლიცერიდების დონის მატება ასევე ხელს უწყობს ათეროსკლეროზული პროცესების განვითარებას და ზრდის გულ – სისხლძარღვთა სისტემის დაავადებების განვითარების რისკს [258].

მიღებულმა შედეგებმა აჩვენა, რომ ქოლესტერინისაგან განსხვავებით, ტრიგლიცერიდების შემცველობა კრეატინის ხანგრძლივი დროით შეყვანის პირობებში საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში არ იცვლება. თუმცა განსხვავებული სურათია სტრესირებული ცხოველების შემთხვევაში (სურ. 29). როგორც სურათიდან ჩანს, სტრესირებული ცხოველების სისხლში კრეატინის მიღების პირობებში ტრიგლიცერიდების კონცენტრაცია დაახლოებით 20%-ითაა მომატებული .



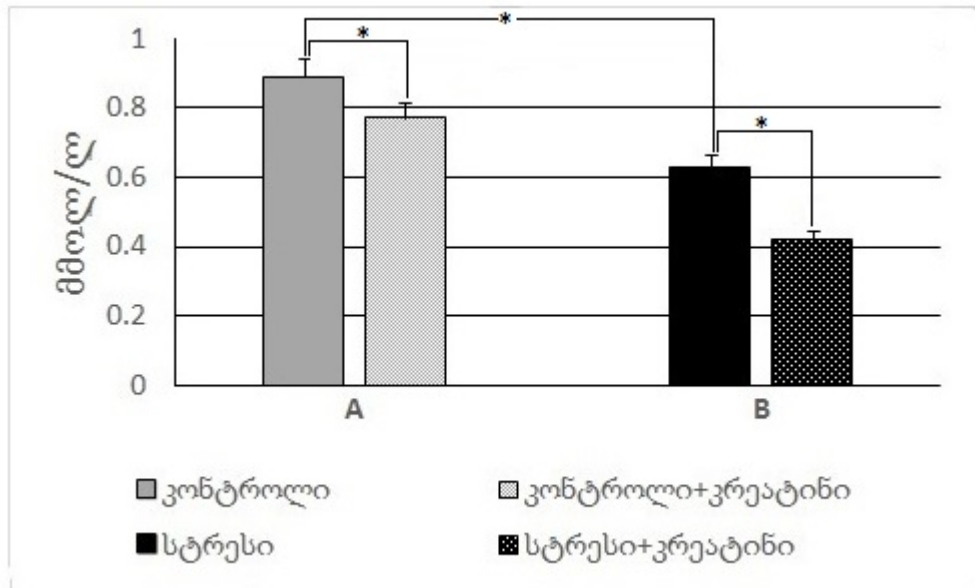
სურათი 29. ტრიგლიცერიდების რაოდენობრივი შემცველობა საკონტროლო (A) და სტრესირებული (B) ვირთაგვების სისხლის პლაზმაში კრეატინის ხანგრძლივი მიწოდების პირობებში

*ორდინატა ღერძზე - ტრიგლიცერიდების შემცველობა (მმოლი/ლ); * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$*

როგორც ცნობილია, ძუძუმწოვრების ორგანიზმში ლიპიდების ტრანსპორტირებასა და მათ შემდგომ მეტაბოლიზმში განსაკუთრებული მნიშვნელობა ენიჭებათ ლიპოპროტეინებს, რომელთა რაოდენობრივი მაჩვენებლის ცვლილება ხშირ შემთხვევებში გარკვეული პათოლოგიური პროცესის მიზეზი ხდება. მხოლოდ ქოლესტერინისა და ტრიგლიცერიდების განსაზღვრით ვერ ვისაუბრებთ დისლიპიდემიაზე, ამისათვის აუცილებელია ისეთი ლიპოპროტეინული კომპლექსების რაოდენობრივი განსაზღვრა, როგორცაა მაღალი და დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინები. ცნობილია, რომ ორგანიზმისათვის განსაკუთრებით დიდ საშიშროებას წარმოადგენს დსლპ-ის რაოდენობრივი მატება, რომელიც წარმოადგენს ე.წ. „ცუდი“ ქოლესტერინის მატრანსპორტირებელ საშუალებას ორგანიზმში, რომელიც აწარმოებს ღვიძლიდან ქოლესტერინის ტრანსპორტირებას პერიფერიულ ქსოვილში, ხოლო მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინებით (მსლპ) ხდება საკვებით მიღებული ლიპიდების და მათ შორის ე.წ. „კარგი“ ქოლესტერინის გადატანა ღვიძლში, სადაც მიმდინარეობს მათი შემდგომი გარდაქმნა. ამდენად, მისი რაოდენობრივი მაჩვენებლის

კლება ისეთი დაავადებების რისკის შემცველია, როგორცაა ათეროსკლეროზი, გულის იშემიური დაავადებები და სხვა [259].

აღნიშნულიდან გამომდინარე, ცდების შემდგომ ეტაპზე შესწავლილი იქნა კრეატინის შეყვანის ფონზე ვირთაგვას სისხლში ლიპოპროტეინების, კერძოდ დაბალი სიმკვრივისა (დსლპ) და მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების (მსლპ) რაოდენობრივი შემცველობა.



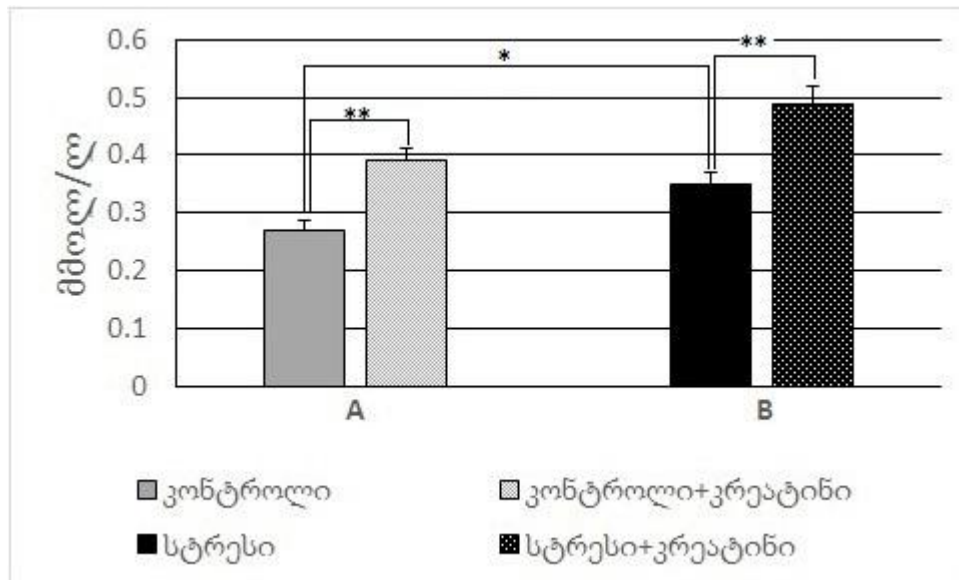
სურათი 30. მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების რაოდენობრივი შემცველობა საკონტროლო (A) და სტრესირებული (B) ვირთაგვების სისხლის პლაზმაში კრეატინის ხანგრძლივი მიწოდების პირობებში

*ორდინატა ღერძზე - მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების შემცველობა (მმოლი/ლ); * $p \leq 0.05$*

როგორც სურათი 30-დან ჩანს, რომ ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებში, საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით სტრესირებული ცხოველების სისხლში ადგილი აქვს მსლპ-ის რაოდენობის სარწმუნო შემცირებას (25%). ამავე დროს, ეგზოგენური კრეატინის ორგანიზმში შეყვანა, თავის მხრივ, სარწმუნოდ ამცირებს მათ რაოდენობრივ შემცველობას ორივე ჯგუფის ცხოველებში და შემცირების ხარისხი პროცენტულად უფრო მაღალია სტრესირებულ ცხოველებში (14% და 33% შესაბამისად).

ცნობილია, რომ მსლპ-ის რაოდენობრივი შემცირების მიზეზს რამდენიმე ფაქტორი წარმოადგენს და მათ შორის ერთერთი ძირითადია ორგანიზმზე სტრესული

ფაქტორების ზემოქმედება. როგორც ჩატარებული ექსპერიმენტებიდან იკვეთება, ისევე, როგორც წინა შემთხვევაში, მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების შესწავლისას აღმოჩნდა, რომ მათი რაოდენობრივი ცვლილებები განსაკუთრებით საგრძნობია სტრესულ სიტუაციაში მოხვედრილ ცხოველებში.



სურათი 31. დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების რაოდენობრივი შემცველობა საკონტროლო (A) და სტრესირებული (B) ვირთაგვების სისხლის პლაზმაში კრეატინით ხანგრძლივი კვების პირობებში
ორდინატთა ლერძზე - დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების შემცველობა (მმოლი/ლ);
** $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$*

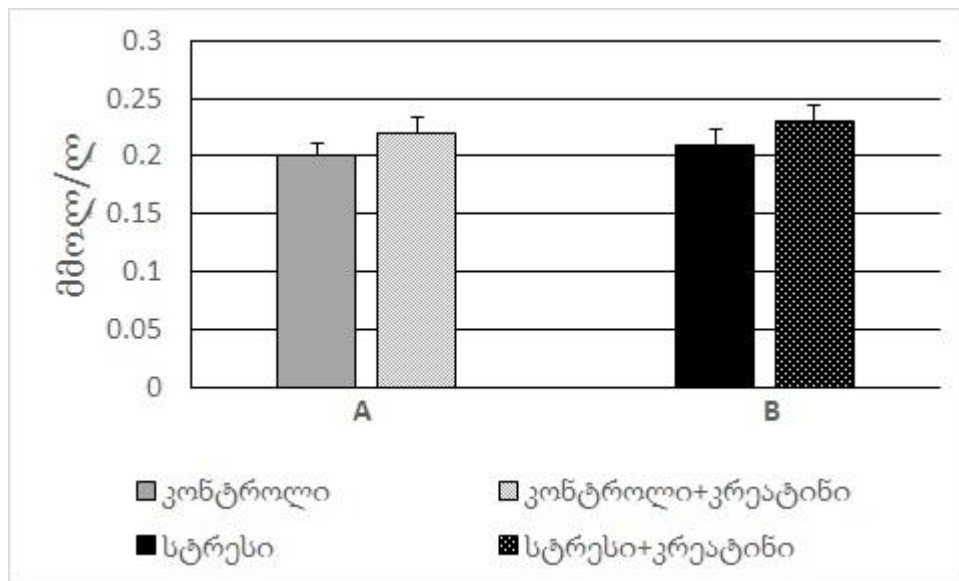
მსლპ-ის შესწავლის პარალელურად, დადგენილი იქნა ასევე დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების რაოდენობრივი ცვლილებებიც. მიღებულმა მონაცემებმა დაადასტურეს კრეატინის ხანგრძლივი მიღების უარყოფითი შედეგი სისხლში ლიპიდური სპექტრის ცვლილებაზე. აღმოჩნდა, რომ კრეატინის ხანგრძლივი შეყვანა განსაკუთრებით უარყოფითად მოქმედებს მსლპ-ის რაოდენობაზე და იწვევს მათი რაოდენობის მატებას, რაც თავის მხრივ, პირდაპირ აისახება გულ-სისხლძარღვთა სისტემის საშიში პათოლოგიები ჩამოყალიბებასა და ფორმირებაზე. მიღებული შედეგები წარმოდგენილია სურათზე 31. საიდანაც ჩანს, რომ დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების მატება აღინიშნება ორ შემთხვევაში, კერძოდ მათი რაოდენობა სარწმუნოდაა გაზრდილი სტრესულ სიტუაციაში მოხვედრილი ექსპერიმენტული

ცხოველების სისხლში საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით და ასევე კრეატინის შეყვანის ფონზეც, როგორც საკონტროლო, ასევე სტრესირებული ვირთაგვების სისხლში.

იზოლირებითა და ცირკადული რიტმის დარღვევით გამოწვეული სტრესი, თავის მხრივ, იწვევს დსლპ-ის შემცველობის სარწმუნო მატებას დაახლოებით 30%-ით. ეს მაჩვენებელი საგრძნობლადაა გაზრდილი ცხოველებში, სადაც ხანგრძლივად ხდებოდა ეგზოგენური კრეატინის შეყვანა. სურათიდან ჩანს, რომ ჩვენს მიერ შესწავლილ სტრესულ პირობებში კრეატინის დამატებითი ეგზოგენური მიწოდება დაახლოებით 44%-ით ზრდის დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების რაოდენობას და ეს მაჩვენებელი ასევე გაზრდილია ჩვეულებრივ, ბუნებრივ პირობებში მოხვედრილი ვირთაგვებშიც (35%).

როდესაც ვსაუბრობთ ლიპიდური სპექტრის დარღვევებით გამოწვეულ დაავადებების განვითარების რისკზე, მნიშვნელოვანია მხედველობაში მივიღოთ კიდევ ერთი პარამეტრის არსებობა, საუბარია დაჟანგული დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინებზე. როგორც ცნობილია, უჯრედში მიმდინარე ოქსიდაციური სტრესის შედეგად წარმოიქმნება დიდი რაოდენობით თავისუფალი რადიკალები, რომლების ადვილად ურთიერთქმედებენ დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინებთან და წარმოქმნიან მის დაჟანგულ ფორმას, ე.წ. დაჟანგული დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინებს (oxLDL), რომელიც ადვილად გაივლის არტერიის (უფრო ხშირად კორონარული ან საძილე არტერიები) ენდოთელიუმში და იწვევს ანთებით პროცესების პროვოცირებას, რასაც მოსდევს მაკროფაგების მობილიზება, თრომბოციტების, ქოლესტეროლის და სხვა ლიპიდების ადჰეზია დაზიანების არეში. დროთა განმავლობაში მთლიანად ან ნაწილობრივ იზღუდება სისხლის მიმოქცევა სისხლძარღვში, რასაც საბოლოოდ მიყვავართ ათეროსკლეროზის ჩამოყალიბებამდე, რაც ზრდის გულის შეტევის და ინსულტის რისკს [260].

აღნიშნულიდან გამომდინარე, ჩვენს მიერ შესწავლილი იქნა დაჟანგული დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების რაოდენობრივი შემცველობა ვირთაგვების სისხლის პლაზმაში კრეატინის ხანგრძლივი მიწოდების პირობებში. მიღებული შედეგები წარმოდგენილია სურათზე 32.



სურათი 32. დაჟანგული დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინებს (oxLDL) რაოდენობრივი ცვლილებები საკონტროლო (A) და სტრესირებული (B) ვირთაგვების სისხლის პლაზმაში კრეატინის ხანგრძლივი მიწოდების პირობებში
ორდინატთა ლერძზე - დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების შემცველობა (მმოლი/ლ);

როგორც მიღებული მონაცემები მიუთითებენ, არ დაფიქსირდა სარწმუნო განსხვავება საკონტროლო და სტრესირებული ცხოველების სისხლში oxLDL-ის რაოდენობრივ შემცველობას შორის.

ამ ტიპის ცვლილებების მიზეზად შესაძლებელია განვიხილოთ ხანგრძლივი სოციალური იზოლირებისა და დღე-ღამური დარღვევის პირობებში სისხლში საერთო ROS-ის არასარწმუნო მატება, რომლის მიზეზს, როგორც ზემოთ იყო აღნიშნული, წარმოადგენს სისხლში ისეთი მძლავრი ანტიოქსიდანტის ჭარბი რაოდენობა, როგორიცაა მელატონინი [261,262].

იმ რისკების დასადგენად, რომელიც შესაძლებელია მოყვეს როგორც ქოლესტერინის, ასევე სხვადასხვა სიმკვრივის ლიპოპროტეინების არაპროგნოზირებად ცვლილებებს ცხოველების სისხლში სტრესის ფონზე კრეატინის შეყვანის პირობებში, ჩვენს მიერ დათვლილი იქნა ე.წ. *ათეროგენულობის კოეფიციენტი*, რომელიც ფართოდ გამოიყენება კლინიკურ დიაგნოსტიკაში და ადგენს იმ რისკების ალბათობას, რაც ამ ცვლილებებმა შეიძლება გამოიწვიოს.

ათეროგენულობის კოეფიციენტი = (საერთო ქოლესტერინი - მსლპ)/მსლპ

ათეროგენულობის კოეფიციენტების დათვლამ მოგვცა ნათელი სურათი იმისა, თუ რა რისკების მატარებელია ეგზოგენური კრეატინის ხანგრძლივი შეყვანა ორგანიზმში. მიღებული მონაცემები წარმოდგენილია ცხრილში 2.

ცხრილი 2.

სისხლის ათეროგენულობის კოეფიციენტი კრეატინის ხანგრძლივი კვების პირობებში

ფიზიოლოგიური მდგომარეობა	კრეატინის შეყვანამდე	კრეატინის შეყვანის პირობებში
საკონტროლო ცხოველები	0.430	0.790
სტრესირებული ცხოველები	0.970	1.990

როგორც წარმოდგენილი ცხრილიდან ჩანს, სტრესულ პირობებში შეინიშნება ათეროგენულობის კოეფიციენტის მნიშვნელოვანი ზრდა, რაც ასევე დამახასიათებელია კრეატინის ეგზოგენურად შეყვანის პირობებში.

ამრიგად, ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევებიდან ნათლად იკვეთება შემდეგი შედეგები. კერძოდ, კრეატინის ეგზოგენური შეყვანა ორგანიზმში, მიუხედავად მისი აქტიური ჩართულობისა ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმში, გარკვეული რისკების მატარებელია, რაც გამოიხატება ორგანიზმის სისხლში ლიპიდური სპექტრის უარყოფითი ცვლილებებით. ეს უკანასკნელი გულისხმობს ქოლესტერინისა და დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების რაოდენობრივ ზრდას და ამის პარალელურად, მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების რაოდენობის შემცირებას. ამის ფონზე აშკარად იკვეთება ათეროგენულობის კოეფიციენტების მატებაც, რაც ზრდის ისეთი დაავადებების რისკების ალბათობას, როგორცაა ათეროსკლეროზი, გულის იშემიური დაავადება და სხვა კარდიოვასკულარული პათოლოგიები. ანალოგიური სურათია მიღებული იზოლაციითა და დღე-ღამური რიტმის დარღვევით გამოწვეული ფსიქო-ემოციური სტრესის პირობებშიც, თუმცა კრეატინის დამატების გარეშე ეს მახასიათებლები მნიშვნელოვნად მცირეა.

მიღებული შედეგების მოკლე მიმოხილვა

მიღებული მონაცემების შეჯერების შედეგად შესაძლოა გამოიკვეთოს რამდენიმე ძირითადი შედეგი. კერძოდ:

1. თეთრი ვირთაგვას 30-დღიანი სოციალური იზოლაცია, რომელიც მიმდინარეობს ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის ფონზე, ხასიათდება გულის კუნთის ქსოვილსა და სისხლში ლოჟ-ს პროდუქტთა რაოდენობრივი მატებითა და ანტიოქსიდანტური სისტემის ფერმენტების აქტივობის შემცირებით. ამ პროცესს თან ერთვის NO-სა და Ca^{2+} -ის იონის, როგორც სასიგნალო მოლეკულების რაოდენობრივი ცვლილებები, რაც იძლევა საფუძველს ვივარაუდოთ, რომ ამ პირობებში გულის კუნთის ქსოვილში იწყება თავისუფალ-რადიკალური ჟანგვითი პროცესების გააქტივება, რაც ოქსიდაციური სტრესის განვითარების მაჩვენებელია. ამ ტიპის ცვლილებები არ აღინიშნება სტრესირებული ცხოველების სისხლში, რაც სავარაუდოდ, ჭარბი მელატონინის, როგორც ძლიერი ანტიოქსიდანტის მოქმედების შედეგია.
2. გულის კუნთის ქსოვილში ოქსიდაციური სტრესის განვითარების ფონზე აღინიშნება ცვლილებები ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმშიც. კერძოდ, დაქვეითებულია როგორც აერობული გლიკოლიზის, ასევე კრებსის ციკლის ფერმენტების აქტივობა, რაც ატფ-ის გენერაციისა და ზოგადად, უჯრედში ენერგოდეფიციტის ნიშანია.
3. გულის კუნთის ქსოვილში მიმდინარე ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის ცვლილებაზე მიუთითებს ფერმენტ კრეატინკინაზას აქტივობის დაქვეითება, რომელიც, როგორც ცნობილია, აქტიურადაა ჩართული უჯრედში მიმდინარე ენერგეტიკულ პროცესებში. ფერმენტის აქტივობის ცვლილების მიზეზად განიხილება კრეატინისა და ფოსფოკრეატინის რაოდენობრივი კლება. ექსპერიმენტულად ნანახია, რომ ხანგრძლივი სოციალური იზოლაცია, რომელიც მიმდინარეობს დღე-ღამური რიტმის დარღვევის პირობებში, ხასიათდება ენდოგენური კრეატინის მასინთეზირებელი ფერმენტების AGAT-სა და GAMT-ის აქტივობის დაქვეითებით. აღნიშნული ფერმენტების კინეტიკური პარამეტრების (V_{max} , K_m) შესწავლამ აჩვენა, რომ აქტივობის დაქვეითების მიზეზს წარმოადგენს ფერმენტის მოლეკულის სტრუქტურული ცვლილებები.

4. ეგზოგენურად შეყვანილი კრეატინი დადებითად მოქმედებს უჯრედში მიმდინარე მეტაბოლურ პროცესებზე, კერძოდ კრეატინის ფონზე საგრძნობლადაა მომატებული სტრესის პირობებში დაქვეითებული ისეთი ფერმენტების აქტივობა, როგორცაა კრეატინკინაზა, სუქცინატდეჰიდროგენაზა, აკონიტაზა და ნაწილობრივ ფუმარაზა, რაც კრეატინის პრევენციულ ეფექტზე მიუთითებს .

5. მიუხედავად კრეატინის დადებითი ეფექტისა ენერგეტიკული მეტაბოლიზმის მიმდინარეობაზე, იგი მნიშვნელოვნად ცვლის სისხლის ლიპიდური სპექტრის შემადგენლობას. კერძოდ, მისი ხანგრძლივი ინტრაპერიტონეალური შეყვანა ზრდის როგორც თავისუფალი ლიპიდების (ქოლესტერინი, ტრიგლიცერიდები), ასევე დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების რაოდენობრივ შემცველობას, რაც თავის მხრივ, გულ-სისხლძარღვთა სისტემის დაავადებების რისკ-ფაქტორს წარმოადგენს.

დასკვნები

1. ხანგრძლივი სოციალური იზოლაცია, რომელიც მიმდინარეობს ბუნებრივი დღე-ღამური რიტმის დარღვევის ფონზე, გულის კუნთის ქსოვილში იწვევს ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის პროცესის გააქტიურებასა და ანტიოქსიდანტური სისტემის ზოგიერთი ფერმენტის (სოდ, კატალაზა, გლუტათიონპეროქსიდაზა, გლუტათიონრედუქტაზა) აქტივობის დაქვეითებას, რაც განაპირობებს ოქსიდაციური სტრესის განვითარებას;
2. შესწავლილ პირობებში, გულის კუნთის ქსოვილში აღინიშნება ძირითადი ენერგეტიკული გზების (კრემბსის ციკლი, გლიკოლიზი, კრეატინული ციკლი) ინტენსივობის შემცირება, რაც გამოიხატება ამ პროცესებში მონაწილე ზოგიერთი ფერმენტის (სუქცინატდეჰიდროგენაზა, აკონიტაზა, ფუმარაზა, ალდოლაზა, კრეატინკინაზა) აქტივობის დაქვეითებით;
3. ეგზოგენურად მიწოდებული კრეატინი დადებითად მოქმედებს გულის კუნთში ხანგრძლივი სტრესით განპირობებულ დაქვეითებულ ენერგეტიკულ მეტაბოლიზმზე;
4. კრეატინის ხანგრძლივი დროით ეგზოგენური მიწოდება, მიუხედავად მისი დადებითი ეფექტისა გულის კუნთის ენერგეტიკულ მდგომარეობაზე, უარყოფითად აისახება სისხლში ლიპიდების შემცველობაზე, რაც გამოიხატება ქოლესტერინისა და დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების რაოდენობრივ მატებასა და მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების შემცირებაში. რაც თავის მხრივ, გულ-სისხლძარღვთა სისტემის დაავადებების რისკ-ფაქტორს წარმოადგენს.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Cernak I, Savic V, Kotur J, Prokic V, Kuljic B, Grbovic D, Velijovic M , Alterations in magnesium and oxidative status during chronic emotional stress. *Dev. of Research on Magnesium*. 2000; 13: 29-26
2. Dhalla NS, Temsah RM, Netticadan T, Role of oxidative stress in cardiovascular diseases, *J Hypertens*. 2000 Jun; 18(6):655-73.
3. Yao R, Rioux N, Castionguay A and You M. Inhibition of COX-2 and induction of apoptosis: two determinants of no steroidal anti-inflammatory drug's chemopreventive efficacies in mouse lung tumorigenesis. *Exp Lung Res* 2000, 26, 731-742
4. Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J. Biol. Chem*. Mar 5, 1991, 266(7):4244-50.
5. Erickson GR, Alexopoulos LG, Guilak F, Hyper-osmotic stress induces volume change and calcium transients in chondrocytes by transmembrane, phospholipid, and G-protein pathways. *J Biomech*. 2001 Dec; 34(12):1527-35.
6. Landmesser U, Spiekermann S, Dikalov S, Tatge H, Wilke R, Kohler C and Harrison DG, et al. Vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure: role of xanthine-oxidase and extracellular superoxide dismutase. *Circulation* 2002, 106: 3073–30
7. Sevanian A, Shen L and Ursini F. Inhibition of LDL oxidation and oxidized LDL induced cytotoxicity by dihydropyridine calcium antagonists. *Pharm Res* 2000, 17: 999–1006.
8. Ranabir S, Reetu K. Stress and hormones. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2011;15(1):18-22.
9. Black PH. Central nervous system-immune system interactions: Psychoneuroendocrinology of stress and its immune consequences. *Antimicrob Agents Chemother*. 1994; 38:1–6
10. Goldstein D. Stress-induced activation of the sympathetic nervous system. *Balliere's Clin Endocr Metab*. 1987;1:253–78
11. Buchczyk D.P. Grune T., Sies H., Klotz L.O. Modifications of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase induced by increasing concentrations of peroxynitrite: early recognition by 20S proteasome. *Biol. Chem*. 2003, 384, 2, pp. 237-241.
12. Konorev E.A., Hogg N., Kalyanaraman B. Rapid and irreversible inhibition of creatine kinase by peroxynitrite. *FEBS Lett*. 1998, 427, 2, pp. 171-174.

13. Puglia CD, Powell SR . Inhibition of cellular antioxidants: a possible mechanism of toxic cell injury". *Environ. Health Perspect.*1984, 57: 307–11.
14. Anu Rahal, Amit Kumar, Vivek Singh, et al., *Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay*, BioMed Research International, vol. 2014, 19 pages
15. Ramond A, Godin-Ribuot D, Ribuot C, Totoston P, Koritchneva I, Cachot S, Levy P, Joyeux-Faure M. Oxidative stress mediates cardiac infarction aggravation induced by intermittent hypoxia. *Fundam Clin Pharmacol.* 2011, 27 (3): 252–261.
16. Cooper GM. *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2000. Metabolic Energy. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9903/>
17. Alves NL, Derks IA, Berk E, Spijker R, van Lier RA, Eldering E. 2006. The Noxa/Mcl-1 axis regulates susceptibility to apoptosis under glucose limitation in dividing T cells. *Immunity* 24: 703–716.
18. Altman BJ, Rathmell JC. Metabolic stress in autophagy and cell death pathways. *Cold Spring Harbor perspectives in biology.* 2012 Sep 1;4(9):a008763.
19. Toescu V, Nuttall SL, Martin U, Nightingale P, Kendall MJ, Brydon P, Dunne F. Changes in plasma lipids and markers of oxidative stress in normal pregnancy and pregnancies complicated by diabetes. *Clinical Science.* 2004 Jan 1;106(1):93-8.
20. Peluso I, Morabito G, Urban L, Ioannone F, Serafi M. Oxidative stress in atherosclerosis development: the central role of LDL and oxidative burst. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders).* 2012 Dec 1;12(4):351-60.
21. Al-Benna S, Hamilton CA, McClure JD, Rogers PN, Berg GA, Ford I, Delles C, Dominiczak AF. Low-density lipoprotein cholesterol determines oxidative stress and endothelial dysfunction in saphenous veins from patients with coronary artery disease. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* 2006 Jan 1;26(1):218-23.
22. Viner R (1999). "Putting Stress in Life: Hans Selye and the Making of Stress Theory". *Social Studies of Science* 29 (3): 391–410.
23. Schneiderman, N.; Ironson, G.; Siegel, S. D. (2005). "Stress and health: psychological, behavioral, and biological determinants". *Annual Review of Clinical Psychology* 1: 607–628.

24. Smith, C. A.; Tong, E. M. W.; Ellsworth, P. C. (2014), "The Differentiation of Positive Emotional Experience as Viewed through the Lens of Appraisal Theory", in Tugade, M.; Shiota, M.; Kirby, L. D., *The Handbook of Positive Emotions*, New York, NY: Guilford, pp. 11–27
25. Hansen C. H., Walker J., Thekkumpurath P., Kleiboer A., Beale C., Sawhney A., Murray G., Sharpe M. (2013). "Screening medical patients for distress and depression: does measurement in the clinic prior to the consultation overestimate distress measured at home?". *Psychological Medicine* **43**: 2121–2128
26. Selye H. The Evolution of the Stress Concept: The originator of the concept traces its development from the discovery in 1936 of the alarm reaction to modern therapeutic applications of syntoxic and catatoxic hormones. *American scientist*. 1973 Nov 1;61(6):692-9.
27. Kemeny M. E. (2007). "Understanding the interaction between psychosocial stress and immune-related diseases: A stepwise progression". *Brain, Behavior, and Immunity* 21 (8): 1009–1018.
28. Glavas, M.M.; Weinberg, J. (2006). "Stress, Alcohol Consumption, and the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis". In Yehuda, S.; Mostofsky, D.I. *Nutrients, Stress, and Medical Disorders*. Totowa, NJ: Humana Press. pp.165-183
29. Davis et al. Prenatal Exposure to Maternal Depression and Cortisol Influences Infant Temperament. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 2007, v46 n6 p737
30. Neurotransmitters and psychiatric disorders. In: *Psychiatric disorders with a biochemical basis*. Donaldson D. Carnthorn, UK: The Parthenon Publishing Group Inc, 1998: 45–55.
31. Satpathy M. The Role of Neuro-Endocrine System in Stress Mediation and Health Maintenance. *Psychoneuroimmunology: A Behavioural Approach*. 2009:265
32. Varghese FP, Brown ES. The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis in Major Depressive Disorder: A Brief Primer for Primary Care Physicians. *Primary Care Companion to The Journal of Clinical Psychiatry*. 2001;3(4):151-155.
33. Hardeland, Rüdiger; Pandi-Perumal, S.R.; Cardinali, Daniel P. (2006). "Melatonin". *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 38 (3): 313–316.
34. Altun A, Ugur-Altun B (May 2007). "Melatonin: therapeutic and clinical utilization". *Int. J. Clin. Pract.* 61 (5): 835–45.

35. Boutin JA, Audinot V, Ferry G, Delagrangé P (August 2005). "Molecular tools to study melatonin pathways and actions". *Trends Pharmacol. Sci.* 26 (8): 412–9.
36. Hardeland R (July 2005). "Antioxidative protection by melatonin: multiplicity of mechanisms from radical detoxification to radical avoidance". *Endocrine* 27 (2): 119–30.
37. Srinivasan V, Pandi-Perumal SR, Traht I, Spence DW, Poeggeler B, Hardeland R, Cardinali DP (2009). "Melatonin and melatonergic drugs on sleep: possible mechanisms of action". *Int. J. Neurosci.* 119 (6): 821–46.
38. Fornaro M, Prestia D, Colicchio S, Perugi G (September 2010). "A systematic, updated review on the antidepressant agomelatine focusing on its melatonergic modulation". *Curr Neuropharmacol* 8 (3): 287–304.
39. Turek FW, Gillette MU (November 2004). "Melatonin, sleep, and circadian rhythms: rationale for development of specific melatonin agonists". *Sleep Med.* 5 (6): 523–32.
40. Buscemi N, Vandermeer B, Pandya R, Hooton N, Tjosvold L, Hartling L, Baker G, Vohra S, Klassen T (November 2004). "*Melatonin for treatment of sleep disorders*". Evidence Report/Technology Assessment (Summary) (108): 1–7.
41. Shamir E, Laudon M, Barak Y, Anis Y, Rotenberg V, Elizur A, Zisapel N (2000). "Melatonin improves sleep quality of patients with chronic schizophrenia". *J Clin Psychiatry* 61 (5): 373–7.
42. Dolberg OT, Hirschmann S, Grunhaus L (August 1998). "*Melatonin for the treatment of sleep disturbances in major depressive disorder*". *Am J Psychiatry* 155 (8): 1119–21.
43. Dalton EJ, Rotondi D, Levitan RD, Kennedy SH, Brown GM (2000). "*Use of slow-release melatonin in treatment-resistant depression*". *J Psychiatry Neurosci* 25 (1): 48–52.
44. Tan, Dun-Xian; Zheng, Xiaodong; Kong, Jin; Manchester, Lucien; Hardeland, Ruediger; Kim, Seok; Xu, Xiaoying; Reiter, Russel (9 September 2014). "Fundamental Issues Related to the Origin of Melatonin and Melatonin Isomers during Evolution: Relation to Their Biological Functions". *International Journal of Molecular Sciences* 15 (9): 15858–15890.
45. Ardura J, Gutierrez R, Andres J, Agapito T (2003). "Emergence and evolution of the circadian rhythm of melatonin in children". *Horm. Res.* 59 (2): 66–72.
46. Sack RL, Lewy AJ, Erb DL, Vollmer WM, Singer CM (1986). "Human melatonin production decreases with age". *J. Pineal Res.* 3 (4): 379–88.

47. Gavin ML, Scaivina MT (2009). "Why Aren't Teens Getting Enough Sleep?". How Much Sleep Do I Need?.
48. Tan DX, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC, Reiter RJ (1993). "Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger". *Endocrine J.* 1: 57–60.
49. Poeggeler B, Saarela S, Reiter RJ, Tan DX, Chen LD, Manchester LC, Barlow-Walden LR (1994). "Melatonin – a highly potent endogenous radical scavenger and electron donor: new aspects of the oxidation chemistry of this indole accessed in vitro". *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 738: 419–20.
50. Tan DX, Manchester LC, Terron MP, Flores LJ, Reiter RJ (2007). "One molecule, many derivatives: a never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species?". *J. Pineal Res.* 42 (1): 28–42.
51. Pieri C, Marra M, Moroni F, Recchioni R, Marcheselli F (1994). "Melatonin: a peroxy radical scavenger more effective than vitamin E". *Life Sci.* 55 (15): PL271–6.
52. Lowes DA, Webster NR, Murphy MP, Galley HF (2013). "Antioxidants that protect mitochondria reduce interleukin-6 and oxidative stress, improve mitochondrial function, and reduce biochemical markers of organ dysfunction in a rat model of acute sepsis". *Br J Anaesth* 110 (3): 472–80.
53. Carrillo-Vico A, Reiter RJ, Lardone PJ, Herrera JL, Fernández-Montesinos R, Guerrero JM, Pozo D (2006). "The modulatory role of melatonin on immune responsiveness". *Curr Opin Investig Drugs* 7 (5): 423–31.
54. Maestroni GJ (2001). "The immunotherapeutic potential of melatonin". *Expert Opin Investig Drugs* 10 (3): 467–76. 55.
55. Davson d. et.al. intergrating the actions of melatonin on human physiology. *Am. Med.*1998.v.30.N1.p. 95-102.
56. Reiter R.J., Dun-xain, Mayo J.C. et.all. Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans . *Acta Biochemica Polonica.* 2003. v. 50. N4. p,1129-1146
57. Edward Millo, Ping Wu., Duglas Seely, Gordon Guyatt. Melatonin in the treatment of cancer, a systematic review of randomized controlled trials and meta analysis. *J. Pineal Res.* 2005. v.39. p. 360-366.

58. Anisman H, Zacharko RM. (1982): Depression: The predisposing influence of stress. *Behav Brain Sci* 5: 89–137
59. Berton O, Aguerre S, Sarrieau A, Mormède P, Chaouloff F. (1998): Differential effects of social stress on central serotonergic activity and emotional reactivity in Lewis and SHR rats. *Neuroscience* 82: 147–159
60. Morin LP. Serotonin and the regulation of mammalian circadian rhythmicity. *Annals of medicine*. 1999 Jan 1;31(1):12-33.
61. King, M.W., 2009. Serotonin. *The Medical Biochemistry Page*.
62. Côté F, Thévenot E, Fligny C, Fromes Y, Darmon M, Ripoche MA, Bayard E, Hanoun N, Saurini F, Lechat P, Dandolo L. Disruption of the nonneuronal tph1 gene demonstrates the importance of peripheral serotonin in cardiac function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003 Nov 11;100(23):13525-30.
63. Hannon J, Hoyer D. Molecular biology of 5-HT receptors. *Behavioural brain research*. 2008 Dec 16;195(1):198-213.
64. Banerjee P, Mehta M, Kanjilal B. The 5-HT_{1A} Receptor: A Signaling Hub Linked to Emotional Balance. In: Chattopadhyay A, editor. *Serotonin Receptors in Neurobiology*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2007. Chapter 7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5212/>
65. Flügge G. (1995): Dynamics of central nervous 5-HT_{1A} receptors under psychosocial stress. *J Neurosci* 15: 7132–7140
66. Laaris N, Haj-Dahmane S, Hamon M, Lanfumey L. (1995): Glucocorticoid receptor-mediated inhibition by corticosterone of 5-HT_{1A} autoreceptor functioning in the rat dorsal raphe nucleus. *Neuropharmacology* 34: 1201–1210
67. D'yakonova TL. Interaction between serotonin and nitric oxide (NO) in the activation of the serotonergic system in the common snail. *Neuroscience and behavioral physiology*. 2002 May 1;32(3):275-82.
68. Tsuji T, Chiba S. Vasoconstrictor mechanism of 5-hydroxytryptamine in isolated and perfused canine basilar arteries. *Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie*. 1987 Mar;286(1):111-22.

69. Reul JM, Collins A, Saliba RS, Mifsud KR, Carter SD, Gutierrez-Mecinas M, Qian X, Linthorst AC. Glucocorticoids, epigenetic control and stress resilience. *Neurobiology of Stress*. 2015 Jan 31;1:44-59.
70. McEwen BS. Stress and hippocampal plasticity. *Annual review of neuroscience*. 1999 Mar;22(1):105-22
71. McEwen BS. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiological reviews*. 2007 Jul 1;87(3):873-904.
72. De Kloet ER, Joëls M, Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nature Reviews Neuroscience*. 2005 Jun 1;6(6):463-75.
73. Joëls M, Krugers HJ, Lucassen PJ, Karst H. Corticosteroid effects on cellular physiology of limbic cells. *Brain research*. 2009 Oct 1;1293:91-100.
74. Karst H, Joëls M. Corticosterone slowly enhances miniature excitatory postsynaptic current amplitude in mice CA1 hippocampal cells. *Journal of neurophysiology*. 2005 Nov 1;94(5):8479-86.
75. Martin S, Henley JM, Holman D, Zhou M, Wiegert O, Van Spronsen M, Joëls M, Hoogenraad CC, Krugers HJ. Corticosterone alters AMPAR mobility and facilitates bidirectional synaptic plasticity. *PLoS One*. 2009 Mar 5;4(3):e4714.
76. Groc L, Choquet D, Chaouloff F. The stress hormone corticosterone conditions AMPAR surface trafficking and synaptic potentiation. *Nature neuroscience*. 2008 Aug 1;11(8):868-70.
77. Chameau P, Qin Y, Spijker S, Smit G, Joëls M. Glucocorticoids specifically enhance L-type calcium current amplitude and affect calcium channel subunit expression in the mouse hippocampus. *Journal of neurophysiology*. 2007 Jan 1;97(1):5-14.
78. Funder, MD JW. Glucocorticoid and mineralocorticoid receptors: biology and clinical relevance. *Annual review of medicine*. 1997 Feb;48(1):231-40.
79. Lu NZ, Wardell SE, Burnstein KL, Defranco D, Fuller PJ, Giguere V, Hochberg RB, McKay L, Renoir JM, Weigel NL, Wilson EM. International Union of Pharmacology. LXV. The pharmacology and classification of the nuclear receptor superfamily: glucocorticoid, mineralocorticoid, progesterone, and androgen receptors. *Pharmacological reviews*. 2006 Dec 1;58(4):782-97
80. Gourley SL, Taylor JR. Recapitulation and Reversal of a Persistent Depression-like Syndrome in Rodents. *Current Protocols in Neuroscience*. 2009 Oct:9-32.

81. Stuehr DJ. Structure-function aspects in the nitric oxide synthases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997; 37:339–59.
82. Ferreiro CR, Chagas AC, Carvalho MH, Dantas AP, Scavone C, Souza LC, et al. Expression of inducible nitric oxide synthase is increased in patients with heart failure due to ischemic disease. *Braz J Med Biol Res* 2004; 37:1313–20.
83. Andrew PJ, Mayer B. Enzymatic function of nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res* 1999; 43: 521–31.
84. Barouch LA, Harrison RW, Skaf MW, Rosas GO, Cappola TP, Kobeissi ZA, Hobai IA, Lemmon CA, Burnett AL, O'Rourke B, Rodriguez ER, Huang PL, Lima JA, Berkowitz DE, Hare JM. Nitric oxide regulates the heart by spatial confinement of nitric oxide synthase isoforms. *Nature* 2002; 416(6878): 337–9.
85. Balligand JL, Kobzik L, Han X, Kaye DM, Belhassen L, O'Hara DS, Kelly RA, Smith TW, Michel T. Nitric oxide-dependent parasympathetic signaling is due to activation of constitutive endothelial (type III) nitric oxide synthase in cardiac myocytes. *J Biol Chem* 1995; 270(24): 14582–6.
86. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001; 357: 593–615.
87. Andrew PJ, Mayer B. Enzymatic function of nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res* 1999; 43: 521–31.
88. Karantzoulis-Fegaras F, Antoniou H, Lai SL, Kulkarni G, D'Abreo C, Wong GK, et al. Characterization of the human endothelial nitric-oxide synthase promoter. *J Biol Chem* 1999; 274: 3076–93.
89. Shoji M, Tsutaya S, Saito R, Takamatu H, Yasujima M. Positive association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism with hypertension in northern Japan. *Life Sci* 2000; 66: 2557–62.
90. Rabelink TJ, Luscher TF. Endothelial nitric oxide synthase: host defense enzyme of the endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 267–1.
91. Korth HG, Sustmann R, Thater C, Butler AR, Ingold KU. On the mechanism of the nitric oxide synthase-catalyzed conversion of N^ω-hydroxyl-L-arginine to citrulline and nitric oxide. *J Biol Chem* 1994; 269(27): 17776–9

92. Tousoulis D, Kampoli AM, Tentolouris Nikolaos Papageorgiou C, Stefanadis C. The role of nitric oxide on endothelial function. *Current vascular pharmacology*. 2012 Jan 1;10(1):4-18.
93. Stamler JS. Redox signaling: nitrosylation and related target interactions of nitric oxide. *Cell* 1994; 78. 931–6.
94. Stamler JS, Jia L, Eu JP, McMahon TJ, Demchenko IT, Bonaventura J, et al. Blood flow regulation by S-nitrosohemoglobin in the physiological oxygen gradient. *Science* 1997; 276: 2034–37.
95. Xu L, Eu JP, Meissner G, Stamler JS. Activation of the cardiac calcium release channel (ryanodine receptor) by poly-S-nitrosylation. *Science* 1998; 279: 234–7.
96. Liu VWT, Huang PL. Cardiovascular roles of nitric oxide: a review of insights from nitric oxide synthase gene disrupted mice. *Cardiovas Res* 2008; 77: 19–29.
97. Cifone MG, Cironi L, Meccia MA, Roncaioli P, Festuccia C, De Nuntiis G, D'Aló S, Santoni A. Role of nitric oxide in cell-mediated tumor cytotoxicity. *Advances in neuroimmunology*. 1995 Dec 31;5(4):443-61.
98. Channon KM, Qian H, George SE. Nitric Oxide Synthase in Atherosclerosis and Vascular Injury Insights From Experimental Gene Therapy. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2000 Aug 1;20(8):1873-81.
99. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Advanced oxidation protein products as novel markers of oxidative stress in ischemia. *J. Neurochem* 2000; 22: 342-350.
100. Pinton P. Oxidative stress in cardiovascular diseases and obesity: role of p66Shc and protein kinase C. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2013 Mar 27;2013.
101. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Advanced oxidation protein products as novel markers of oxidative stress in ischemia. *J. Neurochem* 2000; 22: 342-350.
102. Lewis DF. Oxidative stress: the role of cytochromes P450 in oxygen activation. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 2002 Oct 1;77(10):1095-100.
103. Apel, Klaus, and Heribert Hirt. "Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction." *Annu. Rev. Plant Biol.* 55 (2004): 373-399.
104. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The Journal of physiology*. 2003 Oct 1;552(2):335-44.

105. Sauer H, Wartenberg M, Hescheler J. Reactive oxygen species as intracellular messengers during cell growth and differentiation. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2001;11(4):173-86.
106. Linley JE, Ooi L, Pettinger L, Kirton H, Boyle JP, Peers C, Gamper N. Reactive oxygen species are second messengers of neurokinin signaling in peripheral sensory neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012 Jun 12;109(24):E1578-86.
107. Kelts JL, Cali JJ, Duellman SJ, Shultz J. Altered cytotoxicity of ROS-inducing compounds by sodium pyruvate in cell culture medium depends on the location of ROS generation. *SpringerPlus*. 2015 Dec 1;4(1):1-8.
108. Waris G, Ahsan H. Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. *Journal of carcinogenesis*. 2006 May 11;5(1):14.
109. Circu ML, Aw TY. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radical Biology and Medicine*. 2010 Mar 15;48(6):749-62.
110. Simon HU, Haj-Yehia A, Levi-Schaffer F. Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction. *Apoptosis*. 2000 Nov 1;5(5):415-8.
111. Arai M, Shibata Y, Pugdee K, Abiko Y, Ogata Y. Effects of reactive oxygen species (ROS) on antioxidant system and osteoblastic differentiation in MC3T3-E1 cells. *IUBMB life*. 2007 Jan 1;59(1):27-33.
112. Sahiner, U.M. and Cansin Sackesen, M.D., 2012. Oxidative stress and antioxidant defense.
113. Carocho M, Ferreira IC. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*. 2013 Jan 31;51:15-25.
114. Irshad M, Chaudhuri PS. Oxidant-antioxidant system: role and significance in human body. *Indian journal of experimental biology*. 2002 Nov;40(11):1233-9.
115. Vaziri ND, Lin CY, Farmand F, Sindhu RK. Superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and NADPH oxidase in lead-induced hypertension. *Kidney international*. 2003 Jan 1;63(1):186-94.
116. Zhan CD, Sindhu RK, Pang J, Ehdaie A, Vaziri ND. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in the spontaneously hypertensive rat kidney: effect of antioxidant-rich diet. *Journal of hypertension*. 2004 Oct 1;22(10):2025-33.

117. Ruiz-Ramos M, Vargas LA, Van der Goes TF, Cervantes-Sandoval A, Mendoza-Nunez VM. Supplementation of ascorbic acid and alpha-tocopherol is useful to preventing bone loss linked to oxidative stress in elderly. *The journal of nutrition, health & aging*. 2010 Jun 1;14(6):467-72.
118. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *Journal of Biological chemistry*. 1969 Nov 25;244(22):6049-55.
119. Scandalios JG. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant physiology*. 1993 Jan;101(1):7.
120. Guanghua L, Aiguo W, Aigen F. The Location Staining Method for Distinguishing Different Types of SOD.[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*. 1996;4.
121. Elchuri S, Oberley TD, Qi W, Eisenstein RS, Roberts LJ, Van Remmen H, Epstein CJ, Huang TT. CuZnSOD deficiency leads to persistent and widespread oxidative damage and hepatocarcinogenesis later in life. *Oncogene*. 2005 Jan 13;24(3):367-80.
122. Li Y, Huang TT, Carlson EJ, Melov S, Ursell PC, Olson JL, Noble LJ, Yoshimura MP, Berger C, Chan PH, Wallace DC. Dilated cardiomyopathy and neonatal lethality in mutant mice lacking manganese superoxide dismutase. *Nature genetics*. 1995 Dec 1;11(4):376-81.
123. Yasui K, Kobayashi N, Yamazaki T, Agematsu K, Matsuzaki S, Ito S, Nakata S, Baba A, Koike K. Superoxide dismutase (SOD) as a potential inhibitory mediator of inflammation via neutrophil apoptosis. *Free radical research*. 2005 Jul 1;39(7):755-62.
124. Shim IS, Momose Y, Yamamoto A, Kim DW, Usui K. Inhibition of catalase activity by oxidative stress and its relationship to salicylic acid accumulation in plants. *Plant Growth Regulation*. 2003 Mar 1;39(3):285-92.
125. Amo T, Atomi H, Imanaka T. Unique presence of a manganese catalase in a hyperthermophilic archaeon, *Pyrobaculum calidifontis* VA1. *Journal of bacteriology*. 2002 Jun 15;184(12):3305-12.
126. Ogata M, Mizugaki J. Residual catalase in Japanese type acatalasemia. *Cell Structure and Function*. 1978;3(4):279-92.
127. Bhabak KP, Mugesh G. Functional mimics of glutathione peroxidase: bioinspired synthetic antioxidants. *Accounts of chemical research*. 2010 Aug 6;43(11):1408-19
128. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Torzewski M, Hafner G, Tiret L, Smieja M, Cambien F, Meyer J, Lackner KJ. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in

patients with coronary artery disease. *New England Journal of Medicine*. 2003 Oct 23;349(17):1605-13.

129. Waggiallah, H., & Alzohairy, M. (2011). The effect of oxidative stress on human red cells glutathione peroxidase, glutathione reductase level, and prevalence of anemia among diabetics. *North American Journal of Medical Sciences*, 3(7), 344–347.

130. Ingwall JS. *ATP and the Heart*. Springer Science & Business Media; 2002 Jun 30.

131. Opie LH, editor. *Heart physiology: from cell to circulation*. Lippincott Williams & Wilkins; 2004.

132. Gibbs CL. Cardiac energetics. In *Mechanics of the Circulation 1987* (pp. 69-86). Springer Netherlands.

133. Fulda S. Alternative cell death pathways and cell metabolism. *International journal of cell biology*. 2013 Jan 21;2013.

134. Wallimann T, Wyss M, Brdiczka D, Nicolay K, Eppenberger HM. Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. *Biochemical Journal*. 1992 Jan 1;281(Pt 1):21.

135. Wyss M, Smeitink J, Wevers RA, Wallimann T. Mitochondrial creatine kinase: a key enzyme of aerobic energy metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. 1992 Sep 25;1102(2):119-66.

136. Wu AH. Creatine kinase isoforms in ischemic heart disease. *Clinical chemistry*. 1989 Jan 1;35(1):7-13.

137. Hamm CW, Katus HA. New biochemical markers for myocardial cell injury. *Current opinion in cardiology*. 1995 Jul 1;10(4):355-60.

138. Kapoor R, Prasad K. Role of oxyradicals in cardiovascular depression and cellular injury in hemorrhagic shock and reinfusion: effect of SOD and catalase. *Circulatory shock*. 1994 Jun;43(2):79-94.

139. Metzler H, Gries M, Rehak P, Lang TH, Fruhwald S, Toller W. Perioperative myocardial cell injury: the role of troponins. *British journal of anaesthesia*. 1997 Apr 1;78(4):386-90.

140. Johannsen S, Berberich C, Metterlein T, Roth C, Reiners K, Roewer N, Schuster F. Screening test for malignant hyperthermia in patients with persistent hyperCKemia: a pilot study. *Muscle & nerve*. 2013 May 1;47(5):677-81.
141. O'Dwyer AM, Sheppard NP. The role of creatine kinase in the diagnosis of neuroleptic malignant syndrome. *Psychological medicine*. 1993 May 1;23(02):323-6.
142. Mamczur, P; Gamian, A; Kolodziej, J; Dziegiel, P; Rakus, D (December 2013). "Nuclear localization of aldolase A correlates with cell proliferation.". *Biochimica et Biophysica Acta* 1833 (12): 2812–22.
143. Merkulova, M; Hurtado-Lorenzo, A; Hosokawa, H; Zhuang, Z; Brown, D; Ausiello, DA; Marshansky, V (June 2011). "Aldolase directly interacts with ARNO and modulates cell morphology and acidic vesicle distribution.". *American Journal of Physiology. Cell Physiology* 300 (6): C1442–55.
144. Sekar, Y; Moon, TC; Slupsky, CM; Befus, AD (1 July 2010). "Protein tyrosine nitration of aldolase in mast cells: a plausible pathway in nitric oxide-mediated regulation of mast cell function.". *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 185 (1): 578–87.
145. Du, S; Guan, Z; Hao, L; Song, Y; Wang, L; Gong, L; Liu, L; Qi, X; Hou, Z; Shao, S (2014). "Fructose-bisphosphate aldolase a is a potential metastasis-associated marker of lung squamous cell carcinoma and promotes lung cell tumorigenesis and migration.". *PLOS ONE* 9 (1): e85804.
146. Yao, DC; Tolan, DR; Murray, MF; Harris, DJ; Darras, BT; Geva, A; Neufeld, EJ (15 March 2004). "Hemolytic anemia and severe rhabdomyolysis caused by compound heterozygous mutations of the gene for erythrocyte/muscle isozyme of aldolase, ALDOA(Arg303X/Cys338Tyr)". *Blood* 103 (6): 2401–3.
147. Tolan DR. Molecular basis of hereditary fructose intolerance: mutations and polymorphisms in the human aldolase B gene. *Human mutation*. 1995 Jan 1;6(3):210-8.
148. Sultana R, Perluigi M, Newman SF, Pierce WM, Cini C, Coccia R, Butterfield DA. Redox proteomic analysis of carbonylated brain proteins in mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Antioxidants & redox signaling*. 2010 Feb 1;12(3):327-36.
149. Pote MS, Altekar W. Muscle aldolase: the stress-dependent modification of catalytic and structural properties by rat muscle lysosomal cathepsin B. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Enzymology*. 1981 Oct 13;661(2):303-14.
150. Robbins AH, Stout CD. The structure of aconitase. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 1989 Jan 1;5(4):289-312.

151. Minotti G, Recalcatti S, Mordente A, Liberi G, Calafiore AM, Mancuso C, Preziosi P, Cairo G. The secondary alcohol metabolite of doxorubicin irreversibly inactivates aconitase/iron regulatory protein-1 in cytosolic fractions from human myocardium. *The FASEB journal*. 1998 May 1;12(7):541-52.
152. Yankovskaya V, Horsefield R, Törnroth S, Luna-Chavez C, Miyoshi H, Léger C, Byrne B, Cecchini G, Iwata S. Architecture of succinate dehydrogenase and reactive oxygen species generation. *Science*. 2003 Jan 31;299(5607):700-4.
153. Huang S, Millar AH. Succinate dehydrogenase: the complex roles of a simple enzyme. *Current opinion in plant biology*. 2013 Jun 30;16(3):344-9.
154. De Vivo, D. C., Hirano, M., and DiMauro, S. Mitochondrial disorders. In H. W. Moser (ed.), *Handbook of Clinical Neurology*, vol. 22. Amsterdam: Elsevier, 1996, pp. 389–446.
155. DiMauro, S., Hirano, M., Bonilla, E., and De Vivo, D. C. The mitochondrial disorders. In B. O. Berg (ed.), *Principles of Child Neurology*. New York: McGraw-Hill, 1996, pp. 1201–1232.
156. Lewis BA. Classification of lipoproteins and lipoprotein disorders. *Journal of Clinical Pathology. Supplement (Ass. Clin. Path.)*. 1973;5:26.
157. Ravnskov U. Is atherosclerosis caused by high cholesterol?. *QJM*. 2002 Jun 1;95(6):397-403.
158. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *Circulation* 2002; 106:3143
159. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986;232:34-47
160. 182. Strong, JP, Malcom, GT, McMahan, CA, et al. Prevalence and extent of atherosclerosis in adolescents and young adults. Implications for prevention from the pathobiological determinants of atherosclerosis in youth study. *JAMA* 1999; 281:727
161. Stary, HC, Chandler, AB, Dinsmore, RE, et al. Definition of advanced types of atherosclerotic lesions in a histological classification of atherosclerosis: A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1995; 92:1355
162. Tuzcu, EM, Kapadia, SR, Tutar, E, et al. High prevalence of coronary atherosclerosis in asymptomatic teenagers and young adults: evidence from intravascular ultrasound. *Circulation* 2001; 103:2705

163. McGill, HC, McMahan, A, Zieske, AW, et al. Association of coronary heart disease risk factors with microscopic qualities of atherosclerosis in youth. *Circulation* 2000; 102:374
164. McGill HC Jr, McMahan CA, Malcom GT, Oalmann MC, Strong JP, for the PDAY Research Group. Effects of serum lipoproteins and smoking on atherosclerosis in young men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:95-106
165. Wilson PWF, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998;97:1837-47
166. Stamler J, Wentworth D, Neaton JD, for the MRFIT Research Group. Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded? Findings in 356 222 primary screenees of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *JAMA* 1986;256:2823-8
167. Lipid Research Clinics Program. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial results. I: Reduction in the incidence of coronary heart disease. *JAMA* 1984;251:351-64
168. Lipid Research Clinics Program. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial results. II: The relationship of reduction in incidence of coronary heart disease to cholesterol lowering. *JAMA* 1984;251:365-74
169. 197. Law MR, Wald NJ, Thompson SG. By how much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischaemic heart disease? *BMJ* 1994;308:367-72
170. Law MR. Lowering heart disease risk with cholesterol reduction: evidence from observational studies and clinical trials. *Eur Heart J Suppl* 1999;(suppl S):S3-S8
171. 199. Gotto, AM Jr, Brinton, EA. Assessing low levels of high-density lipoprotein cholesterol as a risk factor in coronary heart disease: a working group report and update. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43:717
172. Tall, AR. Plasma high density lipoproteins: Metabolism and relationship to atherogenesis. *J Clin Invest* 1990; 86:379
174. Tall AR. An overview of reverse cholesterol transport. *Eur Heart J* 1998;19(suppl A):A31-A35
175. van Lenten BJ, Hama SY, de Beer FC, Stafforini DM, McIntyre TM, Prescott SM, La Du BN, Fogelman AM, Navab M. Anti-inflammatory HDL becomes pro-inflammatory during the acute phase response: loss of protective effect of HDL against LDL oxidation in aortic wall cell cocultures. *J Clin Invest* 1995;96:2758-67

176. Navab M, Hama SY, Anantharamaiah GM, Hassan K, Hough GP, Watson AD, Reddy ST, Sevanian A, Fonarow GC, Fogelman AM. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: steps 2 and 3. *J Lipid Res* 2000;41:1495-508
177. Navab M, Hama SY, Cooke CJ, Anantharamaiah GM, Chaddha M, Jin L, Subbanagounder G, Faull KF, Reddy ST, Miller NE, Fogelman AM. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: step 1. *J Lipid Res* 2000;41:1481-94
178. 205. Austin MA, Hokanson JE, Edwards KL. Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol* 1998;81:7B-12B
179. Assmann G, Schulte H, Funke H, von Eckardstein A. The emergence of triglycerides as a significant independent risk factor in coronary artery disease. *Eur Heart J* 1998;19(suppl M):M8-M14
180. 207. Hulley SB, Rosenman RH, Bawol RD, Brand RJ. Epidemiology as a guide to clinical decisions: the association between triglyceride and coronary heart disease. *N Engl J Med* 1980;302:1383-9
181. 208. Grundy SM. Hypertriglyceridemia, atherogenic dyslipidemia, and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 1998;81:18B-25B
182. 209. Austin MA, Hokanson JE, Edwards KL. Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol* 1998;81:7B-12B
183. Assmann G, Schulte H, Funke H, von Eckardstein A. The emergence of triglycerides as a significant independent risk factor in coronary artery disease. *Eur Heart J* 1998;19(suppl M):M8-M14
184. 211. Brown MS, Goldstein J. Lipoprotein metabolism in the macrophage. *Ann Rev Biochem* 1983;52:223-61.
185. 212. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol: modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989;320:915-24.
186. Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *Clin Invest* 1991;88:1785-92.

187. Steinbrecher UP, Zhang H, Loughed M. Role of oxidatively modified LDL in atherosclerosis. *Free Radic Biol Med* 1990;9: 155-68.
188. Hazfil U, Stocker R. Oxidation of low density lipoprotein with hypochlorite causes transformation of the lipoprotein into a high uptake form for macrophages. *Biochem J* 1993;90:165-72
189. Hogg N, Darley-Usmar DM, Graham A, Moncada S. Peroxynitrite and atherosclerosis. *Biochem Soc Trans* 1993;21:358-62.
190. Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Frank iS, Demer LL, Edwards PA, et al. Atherosclerosis: basic mechanisms, oxidation, inflammation and genetics. *Circulation* 1995;91:2488-96
191. Latron Y, Chautan M, Anfosso F, Alessi MC, Nalbone G, Lafont H, et al. Stimulating effect of oxidized LDL on plasminogen activator inhibitor-i synthesis by endothelial cells. *Arterioscler Thromb i*991;11:1821-9.
192. Hamilton TA, Ma GP, Chisolm GM. Oxidized LDL suppresses the expression of tumor necrosis factor-alpha mRNA in stimulated murine peritoneal macrophages. *J Immunol* 1990;144:2343-50.
193. T. Wallimann, M. Tokarska-Schlattner, D. Neumann u. a.: The Phosphocreatine Circuit: Molecular and Cellular Physiology of Creatine Kinases, Sensitivity to Free Radicals, and Enhancement by Creatine Supplementation. In: *Molecular System Bioenergetics: Energy for Life*. 22. (2007)
194. Braissant, O; Henry, H; Béard, E; Uldry, J (May 2011). "Creatine deficiency syndromes and the importance of creatine synthesis in the brain.". *Amino Acids* 40 (5): 1315–24.
195. Dalbo VJ, Roberts MD, Stout JR, Kerksick CM; Roberts; Stout; Kerksick (July 2008). "Putting to rest the myth of creatine supplementation leading to muscle cramps and dehydration". *British Journal of Sports Medicine* 42 (7): 567–73.
196. Poortmans JR, Francaux M; Francaux (September 2000). "Adverse effects of creatine supplementation: fact or fiction?". *Sports Medicine* 30 (3): 155–70
197. Neubauer S (2007) The failing heart—an engine out of fuel. *New Eng J Med* 356: 1140–1151.
198. Berneburg M, Gremmel T, Kurten V, Schroeder P, Hertel I, et al. (2005) Creatine supplementation normalizes mutagenesis of mitochondrial DNA as well as functional consequences. *J Invest Dermatol* 125: 213–220.

199. Fimognari C, Sestili P, Lenzi M, Cantelli-Forti G, Hrelia P (2009) Protective effect of creatine against RNA damage. *Mutat Res* 670: 59–67.
200. Guidi C, Potenza L, Sestili P, Martinelli C, Guescini M, et al. (2008) Differential effect of creatine on oxidatively-injured mitochondrial and nuclear DNA. *Biochim Biophys Acta* 1780: 16–26.
201. Lawler JM, Barnes WS, Wu G, Song W, Demaree S (2002) Direct antioxidant properties of creatine. *Biochem Biophys Res Commun* 290: 47–52.
202. Sestili P, Martinelli C, Bravi G, Piccoli G, Curci R, et al. (2006) Creatine supplementation affords cytoprotection in oxidatively injured cultured mammalian cells via direct antioxidant activity. *Free Radic Biol Med* 40: 837–849.
203. Young JF, Larsen LB, Malmendal A, Nielsen NC, Straadt IK, et al. (2010) Creatine-induced activation of antioxidative defence in myotube cultures revealed by explorative NMR-based metabonomics and proteomics. *J Int Soc Sports Nutr* 7: 9
204. Alcaide P, Merinero B, Ruiz-Sala P, Richard E, Navarrete R, et al. (2011) Defining the pathogenicity of creatine deficiency syndrome. *Hum Mutat* 32: 282–291.
205. Bender A, Beckers J, Schneider I, Holter SM, Haack T, et al. (2008) Creatine improves health and survival of mice. *Neurobiol Aging* 29: 1404–1411.
206. Lygate CA, Bohl S, ten Hove M, Faller KM, Ostrowski PJ, et al. (2012) Moderate elevation of intracellular creatine by targeting the creatine transporter protects mice from acute myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 96: 466–475.
207. Persky, AM; Rawson, ES (2007). "Safety of creatine supplementation.". *Sub-cellular biochemistry* 46: 275–89.
208. Delves, Peter, et al. *Roitt's Essential Immunology*, 11th Ed. ISBN 978-1-4051-3603-7
209. Söderberg, C., et al. "Definition of a subset of human peripheral blood mononuclear cells that are permissive to human cytomegalovirus infection." *Journal of virology* 67.6 (1993): 3166-3175.
210. Perasso L, Cupello A, Lunardi GL, Principato C, Gandolfo C, Balestrino M. Kinetics of creatine in blood and brain after intraperitoneal injection in the rat. *Brain Res.* 2003 Jun 6;974(1-2):37-42
211. Xing, L and Remick, D.G. Mechanisms of Dimethyl Sulfoxide Augmentation of IL-1 β Production. *The Journal of Immunology*, 2005, 174:6195-6202

212. De Robertis E. Structural components of the synaptic region.// Handbook of Neurochemistry, 1969-2- pp.365-372
213. Boyum, A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 21, Suppl 97 (Paper IV), 77-89, 1968.
214. 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-kB in primary astrocytes. J.Neurochem. 2000.-v.74 -p. 2288-2295
215. Uchiyama M, Michara M (1978) Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. Biochem 86; 271-384
216. Skernyakov VI, Kozhemyakin LA, Smirnov VV (1988) Lipid Peroxidation Products in cerebrospinal fluid in patients with craniocerebral traumas. Lab. Delo 8; 14-16
217. Sukhia L.A. Sami Al'Saidi (2009) the importance of Research Enzymes Neutralize Free Radical Oxygen Specie in the Lens in Patient with age cataract. Lab delo 13; 144-149
218. Koroliuk MA, Ivanova LI, Mayorova IG, Tokarev VE (1988) Method for detection of catalase activity. Lab Delo 1; 16-9
219. 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.
220. Patel M1, Day BJ, Crapo JD, Fridovich I, McNamara JO. Requirement for superoxide in excitotoxic cell death. Neuron. 1996 Feb; 16(2):345-55
221. 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
222. Chappel A. Hoogenraad N.J. Holmets R. Purification and properties of the native form of rabbit liver aldolase. Biochem. J. 1975,175, 337-384
223. Bartels, H. et.al. Clin.Chim. Acta 32, 81 (1971)
224. Popper, H. et.al. Biochem.Zeitschr. 291, 354 (1937)
225. Schumann, G. et.al. Clin Chem Acta, 327, 69-79 (2003)

226. Szasz, G. Gruber, W. and Bernt, E. 1976 *Clinical Chemistry* 22, 650-656
227. Ogawa H, Ishiguro Y, Fujioka M. Guanidoacetate methyltransferase from rat liver: purification, properties, and evidence for the involvement of sulfhydryl groups for activity. *Arch Biochem Biophys* 226: 265-275, 1983
228. Van Pilsum JF, Taylor D, Zakis B, McCormick P. Simplified assay for transaminase activities of rat kidney homogenates. *Anal Biochem* 35: 277-286, 1970
229. Curtin, J. F., Donovan, M. & Cotter, T. G. Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *Journal of immunological methods* **265**, 49-72 (2002).
230. Degli Esposti, M. Measuring mitochondrial reactive oxygen species. *Methods* (San Diego, Calif.) **26**, 335-40 (2002).
231. Tietz, N. W. (ed.), *Clinical Guide to Laboratory test*; 3rd edition, WB Saunders Co, (1995)
232. Griendling KK, Alexander RW. Oxidative stress and cardiovascular disease. *Circulation*. 1997 Nov;96(10):3264-5.
233. Steptoe A, Kivimäki M. Stress and cardiovascular disease. *Nature Reviews Cardiology*. 2012 Jun 1;9(6):360-70.
234. Kristensen TS. Job stress and cardiovascular disease: a theoretic critical review. *Journal of occupational health psychology*. 1996 Jul;1(3):246.
235. McEwen BS. Central effects of stress hormones in health and disease: Understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators. *European journal of pharmacology*. 2008 Apr 7;583(2):174-85.
236. Liu D, Diorio J, Tannenbaum B, Caldji C, Francis D, Freedman A, Sharma S, Pearson D, Plotsky PM, Meaney MJ. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science*. 1997 Sep 12;277(5332):1659-62.
237. Gerner, Robert H., and Jeffery N. Wilkins. "CSF cortisol in patients with depression, mania, or anorexia nervosa and in normal subjects." *The American journal of psychiatry* (1983).
238. Chaouloff F. Serotonin, stress and corticoids. *Journal of Psychopharmacology*. 2000 Mar 1;14(2):139-51.

239. Abuja PM, Liebmann P, Hayn M, Schauenstein K, Esterbauer H. Antioxidant role of melatonin in lipid peroxidation of human LDL. *FEBS letters*. 1997 Aug 18;413(2):289-93.
240. Cai WX, Yang DS. [Stress and hippocampus]. *Fa yi xue za zhi*. 2002 Feb;18(1):48-51
241. Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Annual review of biochemistry*. 1994 Jul;63(1):175-95.
242. Matthys KE, Bult H. Nitric oxide function in atherosclerosis. *Mediators of Inflammation*. 1997;6(1):3-21
243. Fleming I, Bauersachs J, Busse R. Calcium-dependent and calcium-independent activation of the endothelial NO synthase. *J Vasc Res*. 1997 May-Jun;34(3):165-74.
244. Lu, Yao-Sheng, Bao-Tian Huang, and Yao-Xiong Huang. "Reactive oxygen species formation and apoptosis in human peripheral blood mononuclear cell induced by 900 MHz mobile phone radiation." *Oxidative medicine and cellular longevity* 2012 (2012).
245. Reiter RJ, Tan DX, Mayo JC, Sainz RM, Leon J, Czarnocki Z. Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans. *Acta Biochim Pol*. 2003;50(4):1129-46.
246. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *Journal of biomedical science*. 2000 Nov 1;7(6):444-58.
247. Kovacs P, Juranek I, Stankovicova T, Svec P. Lipid peroxidation during acute stress. *Die Pharmazie*. 1996 Jan;51(1):51-3.
248. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Münzel T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2001 Nov 27;104(22):2673-8.
249. Wei YH, Lee HC. Oxidative stress, mitochondrial DNA mutation, and impairment of antioxidant enzymes in aging. *Experimental biology and medicine*. 2002 Oct 1;227(9):671-82.
250. Balaban RS. Cardiac energy metabolism homeostasis: role of cytosolic calcium. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2002 Oct 31;34(10):1259-71.
251. Lagunas R. Energy metabolism of *Saccharomyces cerevisiae* discrepancy between ATP balance and known metabolic functions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. 1976 Sep 13;440(3):661-74.

252. Wallimann T, Tokarska-Schlattner M, Schlattner U. The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine. *Amino acids*. 2011 May 1;40(5):1271-96.
253. Karamat FA, van Montfrans GA, Brewster LM. Creatine synthesis demands the majority of the bioavailable L-arginine. *Journal of hypertension*. 2015 Nov 1;33(11):2368.
254. Ulrich K.M. Decking , John P. Williams , Rudiger Dahmann , Thomas Stumpe , Malte Kelm, Jurgen Schrade “The nitric oxide-induced reduction in cardiac energy supply is not due to inhibition of creatine kinase” *Cardiovascular Research* 51 (2001) 313–321.
255. Robin P. da Silva, Kathy Clow, John T. Brosnan and Margaret E. Brosnan. Synthesis of guanidinoacetate and creatine from amino acids by rat pancreas. *British Journal of Nutrition* (2014), 111, 571–577
256. Kreider, Richard B.; Melton, Charles; Rasmussen, Christopher J.; Greenwood, Michael; Lancaster, Stacy; Cantler, Edward C.; Milnor, Pervis; Almada, Anthony L. (2003). "Long-term creatine supplementation does not significantly affect clinical markers of health in athletes". *Molecular and Cellular Biochemistry* 244 (1–2): 95–104.
257. Francaux M, Poortmans JR.” Side effects of creatine supplementation in athletes” *Int J Sports Physiol Perform*. 2006 Dec;1(4):311-23
258. Kratz M¹. Dietary cholesterol, atherosclerosis and coronary heart disease. *Handb Exp Pharmacol*. 2005;(170):195-213.
259. Sharrett A. R., C. M. Ballantyne, S. A. Coady, G. Heiss, P. D. Sorlie, D. Catellier, and W. Patsch, and the Atherosclerosis Risk in Communities Study Group. 2001. Coronary heart disease prediction from lipoprotein cholesterol levels, triglycerides, lipoprotein(a), apolipoproteins A-I and B, and HDL density subfractions: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation*. 104 1108–1113.
260. Sambrano GR, Steinberg D. Recognition of oxidatively damaged and apoptotic cells by an oxidized low density lipoprotein receptor on mouse peritoneal macrophages: role of membrane phosphatidylserine. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995; 92: 1396–1400.
261. Griendling KK, FitzGerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. *Circulation*. 2003 Oct 21;108(16):1912-6
262. Bonnefont-ousselot D, Cheve G, Gozzo A, et al. Melatonin related compounds inhibit lipid peroxidation during copper or free radical-induced LDL oxidation. *J Pineal Res*. 2002;33:109-117

გამოქვეყნებული პუბლიკაციები:

1. „Circadian rhythm disorders and dynamic changes of energy metabolism in rat heart muscle cells“ **N Dachanidze**, Z Kuchukashvili, K Menabde, N Koshoridze. Journal Biological Rhythm Research, Volume 46, Issue 1, Pages 39-51, (2015). Impact factor 0.919
2. „Functional state of rat heart muscle cells and blood antioxidant system under psycho-emotional stress“ **N Dachanidze**, G Burjanadze, K Menabde, Z Kuchukashvili, M Chachua, N Koshiridze. FEBS JOURNAL vol. 282, pp. 113-113 (2015).
3. “Alterations of creatine levels in rat brain under stress conditions long-term social isolation” G Burdjanadze, **N Dachanidze**, N Koshoridze, K Menabde, M Chachua, Z Kuchukashvili. FEBS JOURNAL vol. 282, pp.309-310 (2015).
2. “Changes in activity of hippocampus creatine kinase under circadian rhythm disorders”; GM Burjanadze, ZT Kuchukashvili, MV Chachua, KO Menabde, **NT Dachanidze**, NI Koshoridze Biological Rhythm Research 45 (5), 685-697; (2014). Impact factor 0.919
3. “Functioning of the Antioxidant System under Psycho-Emotional Stress” **Natalia Dachanidze**, George Burjanadze, Zurab Kuchukashvili, Ketevan Menabde, Nana Koshoridze; Journal of Stress Physiology & Biochemistry, Vol. 9 No. 4, pp. 122-131, (2013)
4. „Lipid Peroxidation and Antioxidant System Activity Changes of Rat Blood and Cardiac Muscle Cells Under Chronic Stress” **Natalia Dachanidze**, George Burjanadze, Zurab Kuchukashvili, Ketevan Menabde, Nana Koshoridze; International Journal of Biochemistry and Biophysics 1(1): 16-21, (2013)

5. "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).; 72(1):40-50,(2012) impact factor 2.919

6. "Changes in white rat brain energetic cells under stress induced by violated diurnal cycle", G Burjanadze, **N Dachanidze**, M Karapetian, K Menabde, N Koshoridze, Georgian Med News, V.167,p.84-89,(2009)

7. "Energetic changes in heart cells of white rats in stress conditions induced by violated diurnal cycle" Karapetian M,Samkharadze T, Dachanidze N,Menabde K,Koshoridze N. Georgian Med News (169):71-4 (2009)

სამეცნიერო კონფერენციები:

1. “Nature Changes of creatine kinase and Ca²⁺-ATPase activity under stress caused isolation and violation of natural diurnal cycle” The neurobiology of sleep and circadian rhythm, Copenhagen, Denmark,2015
2. “Functional state of rat heart muscle cells and blood antioxidant system under psycho-emotional stress” 17th EMBL PhD symposium, Heidelberg,Germany,2015
3. “Functional state of rat heart muscle cells and blood antioxidant system under psycho-emotional stress” Young Scientist Forum, Berlin, Germany,2015
4. “Functional state of rat heart muscle cells and blood antioxidant system under psycho-emotional stress” 40th FEBS CONGRESS ,The Biochemical Basis of Life, Berlin, Germany,2015
5. “Changes in Activity of Creatine Kinase and Functional State of Mitochondria under stress Conditions”Tbilisi International Conference.Merging neuroscience and medicine.Implications for brain disorders,Tbilisi,Georgia, 2013
6. “Pro- and Antioxidant System functioning in Cardiac muscle cells and Blood under Stress Caused by Isolation and Violation of Diurnal Cycle”, International Medical Student Congress, OMU, Samsun, Turkey, 2011
7. “The changes of some metabolic enzymes activity in animal brain” 14th Annual Symposium for Biology Students in Europe – SymBioSE’10, Eskisehir, Turkey; 2010